ผลของการใช้ใบและก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมัก ในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต

นางสาวสุปรีณา ศรีใสคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2552

EFFECTS OF NEEM (*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS. VAR. SIAMENSIS VALETON) FOLIAGE UTILIZATION IN MEAT GOAT DIETS ON RUMEN FERMENTATION AND PRODUCTIVE PERFORMANCES

Supreena Srisaikham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2009

ผลของการใช้ใบและก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมัก ในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.ปราโมทย์ แพงคำ)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ)
กรรมการ

(อ. ดร.อมรรัตน์ โมฬี)
กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สุปรีณา ศรีใสคำ : ผลของการใช้ใบและก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต (EFFECTS OF NEEM (*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS. VAR. SIAMENSIS VALETON) FOLIAGE UTILIZATION IN MEAT GOAT DIETS ON RUMEN FERMENTATION AND PRODUCTIVE PERFORMANCES) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ แพงคำ, 139 หน้า.

วิทยานิพนธ์นี้ได้ศึกษาถึง ผลของการใช้ใบและก้านสะเดา (ใบรวมก้านสะเดา) ในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต โดยแบ่งออกเป็น 1 การศึกษา และ 1 การทดลอง ดังนี้

การศึกษาที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบรวมก้านสะเดา และศึกษาความสามารถในการย่อยได้ของ อาหารข้นทดลองที่มี ใบรวมก้านสะเดา เป็นองค์ประกอบ ในแพะเจาะกระเพาะ โดยวิธีการใช้ถุงไนล่อ นบ่มในกระเพาะหมัก โดยอาหารข้นทดลองที่ใช้ คือ อาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม (ไม่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา) และอาหารข้นทดลอง สูตรที่ 2, 3 และ 4 คือ มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร พบว่า อาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมี อัตราการย่อยสลาย ได้วัตถุแห้ง (dgDM = 60.40) และอัตราการย่อยสลาย ได้โปรตีนสูงที่สุด ส่วนอาหารข้นทดลองสูตรที่ 3 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้ง (dgDM = 46.60) และอัตราการย่อยสลายได้โปรตีน (dgCP = 43.50) ต่ำที่สุด จากการศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กของใบรวมก้านสะเดาของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และการวิเคราะห์แยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา พบว่า มีค่าคอนเดนซ์แทนนินอยู่ในช่วง 7.81-7.98 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษา พบว่า ใบรวมก้านสะเดาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารมีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีน และแทนนินในสูตรอาหารแพะเนื้อได้

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารต่อ กระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน (Native x Anglo Nubian) โดยจัดกลุ่มแพะเนื้อเพศผู้ 4 ตัว อายุประมาณ 7-8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 19 $\pm$ 2.1 กิโลกรัม ออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 แพะเนื้อกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 แพะเนื้อที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (1.5 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน) กลุ่มที่ 3 แพะเนื้อที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (3.0 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน) และกลุ่มที่ 4 แพะเนื้อที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (4.5 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน) แพะทุกกลุ่มได้รับข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบแบบไม่จำกัด โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x4 Latin square แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ช่วงการทดลอง ๆ ละ 21 วัน โดย 14 วัน แรก

สำหรับปรับสัตว์เก็บตัวอย่างในช่วง 7 วันสุดท้ายในแต่ละช่วงการทดลองผลการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ ความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของของเหลวในกระเพาะหมัก ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ปริมาณกรดไขมันระเหยได้และสมดุลไนโตรเจนของแพะ เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหาร ข้นทดลองทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ (P>0.05) อย่างไรก็ตามพบว่า ประชากรแบคทีเรียกลุ่มที่ ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีจำนวนสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 2 และชั่วโมงที่ 6 หลังการให้อาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับแพะเนื้อกลุ่ม ที่ได้รับอาหารควบคุมและกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีจำนวนประชากรโปรโตซัวลดลง (P<0.05) ในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับแพะเนื้อ กลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม ขณะที่กลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดลองทั้งหมดนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการผลิตสัตว์ โดยสามารถใช้ร่วมกับอาหารข้นในการเลี้ยงแพะเนื้อได้ และการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารเป็นระดับที่มีความเหมาะสมที่สุดที่จะนำมาประกอบสูตรอาหารเลี้ยงแพะ มีผลเพิ่มประชากรแบคทีเรีย ลดประชากรโปรโตซัวลงและจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูล และให้ผลตอบแทนทางการเงินสูงสุด ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีน เพื่อทดแทนโปรตีนแหล่งอื่นที่มีราคาแพงกว่าโดยไม่ส่งผลเชิงลบต่อแพะเนื้อ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์	ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ปีการศึกษา 2552	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	_____

SUPREENA SRISAIKHAM : EFFECTS OF NEEM (*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS. VAR. SIAMENSIS VALETON) FOLIAGE UTILIZATION IN MEAT GOAT DIETS ON RUMEN FERMENTATION AND PRODUCTIVE PERFORMANCES. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PRAMOTE PAENGKOUM, Ph.D., 139 PP.

NEEM/*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS VAR. SIAMENSIS VALETON/RUMEN ECOLOGY/PRODUCTIVE PERFORMANCES/GOAT

The objectives of this study were to determine the effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss. var. Siamensis Valeton) foliage utilization in meat goat diets on rumen fermentation and productive performances. The present research was divided into two parts: one study and one experiment.

For the study, the first section was conducted to determine the chemical composition of neem foliage. Four dietary treatments with 0%, 10%, 20% and 30% of the neem foliage, respectively, were offered to fistulated goats for digestibility study using nylon bag and intestinal digestibility three-step (*in vitro*) procedure. The result showed that effective degradability of dry matter (DM) and crude protein (CP) of the control group was the highest, while that of the third group, supplemented with 20% of the neem foliage, was the lowest. Digestibility of CP in the intestinal of four dietary treatments showed no statistically significant differences. Condensed tannins extract from neem foliage was in the range of 7.81-7.98%. Based on this result, the neem foliage can be used as the source protein to replace other main sources of protein which are more expensive.

For the experiment, four crossbred meat goats (Native x Anglo Nubian) with an average of 7-8 months old, 19±2.1 kg body weight (BW) were used to evaluate the effects of neem foliage levels in concentrate on rumen fermentation and productive performances. Goats were assigned into 4 dietary treatments. Goats in the first group were non-supplemented fed (control), second, third, and fourth groups were supplemented with 10%, 20% and 30% of the neem foliage (1.5, 3.0 and 4.5% condensed tannins, respectively). All goats were fed *ad libitum* of corn silage and 1.0% BW of concentrates (14% CP). The experiment was arranged in a 4x4 Latin square design and divided into 4 periods of 21 d in each period, 14 d for adaptation period, followed by 7 d for measurement period. The result revealed that DM intake, BW change, digestibility, blood urea nitrogen, rumen pH, ammonia nitrogen, volatile fatty acids and N-retention were unaffected (P>0.05) by dietary treatments. However, bacteria populations in goats fed supplemented with 20% neem foliage were increased (P<0.05) at 2 and 6 h after feeding compared with the control group and 10% neem foliage. Protozoa populations of goats fed with 20% neem foliage were decreased (P<0.05) at 2, 4 and 6 h after feeding compared with the control group while goats fed 10 and 30% neem foliage were not significantly noticed among treatments. The present study clearly indicates that the neem foliage could be effectively replaced (20%) the high cost protein sources, such as soybean meal, which benefited meat goats in terms of efficiency in increasing bacteria and decreasing protozoa populations in rumen and reduced faecal nematode eggs excretion.

School of Animal Production Technology Student's Signature_____

Academic Year 2009 Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จด้วยดีข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ แพงคำ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษาในทุกด้านตลอดจนคำแนะนำในการเขียนการตรวจแก้วิทยานิพนธ์และสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ ไขวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ อาจารย์ ดร.บดี คำสีเขียว อาจารย์ ดร.อมรรัตน์ โมฬี Professor Dr. Anton Beynen ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เฉลิมพล เยื้องกลาง และ Professor Dr. Liang Juan Boo ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ยิ่งในการเขียนวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณวลัยลักษณ์ แก้ววงษาดร.คณิน บรรณกิจDr. Han Yong คุณปฐมพล พูลทวี คุณรุ่งนภา ญาณี คุณกีรณา อยู่หัตถ์ คุณเทพประสิทธิ์ สิงหศิริ คุณศิรินทรทิพย์ ไตรยะขันธ์ คุณวันวิสา หาระโคตร คุณนิชนันท์ ชูเกิด เพื่อน ๆ ญาติ และครอบครัวอิทธิอาวัชกุล ที่ให้ความช่วยเหลืออย่างเต็มที่ในงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา (คุณพ่อดุสิต ศรีใสคำ) มารดา (คุณแม่สุปราณี ศรีใสคำ) สำหรับผู้ให้ชีวิตและเปรียบเสมือนเข็มทิศชีวิตให้กับลูก ส่งเสริมการศึกษา คอยเป็นสติ ปัญญาและกำลังใจที่ดีตลอดเวลา ซึ่งเป็นแรงผลักดันอันสำคัญยิ่งตลอดมา

สุปรีณา ศรีใสคำ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่

1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 สะเดา (Neem tree) 6

2.2 สารประกอบแทนนิน (Tannin compounds) 8

2.2.1 ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (Hydrolysable tannins) 12

2.2.2 คอนเดนซ์แทนนิน (Condensed tannins) 13

2.3 บทบาทแทนนินต่อสรีรวิทยาของพืช 14

2.3.1 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 15

2.3.2 ผลของแทนนินต่อเมแทบอลิซึมของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 15

2.3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างแทนนินและโปรตีน 17

2.4 การศึกษาผลของคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่อ
การผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง 21

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.1 ผลของ คอนเดนซ์แทนนิน ใน *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* ต่อการย่อยและการดูดซึมกรดอะมิโนที่จำเป็นในแกะ 21
2.4.2 ผลการเลี้ยงแกะโดยใช้ *Lotus corniculatus* หรือ perennial ryegrass/white clover (pasture) และมี polyethylene glycol เป็นตัวกระตุ้นอัตราการตกไข่ ovulation rate (OR) 22
2. 4.3 ผลของแทนนินต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีน (effective degradability of crude protein: EDCP) ในกระเพาะหมัก (*in situ*) 23
2.5 ระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก 25
2. 5.1 กระเพาะหมักทำหน้าที่เป็นอ่างหมัก และปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทำงานของกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง 28
2. 5.2 การปรับเปลี่ยนการใช้ประโยชน์ของอาหารโดยจุลินทรีย์และระบบการหมักของพืชอาหารสัตว์ในกระเพาะหมัก 29
2. 5.3 การปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักโดยกลยุทธ์การเสริมอาหารในท้องถิ่น 30
2.6 อาหารโปรตีนสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง 31
2.6.1 การนำกลับของ Nitrogen เข้าสู่กระเพาะหมัก (N-Recycling) 33
2. 6.2 Metabolism of Absorbed N 33
2. 6.3 ความต้องการโภชนะโปรตีนในแพะเนื้อ 34
3 วิธีการดำเนินการวิจัย 35
3.1 การศึกษาเบื้องต้น 35
3.2 การทดลองที่ 1 36
3.3 สถานที่ทำการวิจัย 36
3.4 ระยะเวลาการทดลอง 36

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการย่อยได้ในแพะเจาะกระเพาะและการย่อยได้ในลำไส้เล็กของใบรวมก้านสะเดารวมถึงการวิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา 37

4.1 คำนำ 37

4.2 วัตถุประสงค์ 37

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ 37

4.3.1 การสุ่มเก็บตัวอย่างใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา 37

4.3.2 การ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 38

4.3.3 การ ศึกษาความสามารถในการย่อยได้ของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร (สูตรอาหารข้นในบทที่ 5) จำนวน 8 ถุง ในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะ 38

4.3.4 การ ศึกษาการย่อยได้ของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรในลำไส้เล็กด้วยเทคนิค Three-step *in vitro* procedure 41

4.3.5 การ วิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา 42

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 43

4.5 สถานที่ทำการวิจัย 43

4.6 ระยะเวลา การทดลอง 43

4.7 ผลการทดลอง 43

4.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดาและวิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา 43

4.7.2 ความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถในการย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้ง และอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 44

4.7.3 การย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 46

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.8 วิจารณ์ผลการทดลอง 47
4.8.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา 47
4.8.2 ความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถในการย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้ง และอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 49
4.8.3 การย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 52
4.8.4 การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา 53
4.9 สรุป ผลการทดลอง 56
5 การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต 58
5.1 คำนำ 58
5.2 วัตถุประสงค์ 59
5.3 อุปกรณ์และวิธีการ 59
5.3.1 การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตและประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน 59
5.3.1.1 แผนการทดลอง 59
5.3.1.2 การจัดสัตว์ทดลอง 60
5.3.1.3 การจัดการให้อาหารสัตว์ทดลอง 60
5.3.1.4 วิธีการทดลองและการเก็บข้อมูล 61
5.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 65
5.5 สถานที่ทำการวิจัย 65

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.6 ระยะเวลา การทดลอง 65
5.7 ผลการทดลอง 65
5.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหาร 65
5.7.2 ปริมาณการกินได้ 66
5.7.2.1 ปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบ 66
5.7.2.2 ปริมาณการกินได้ของอาหารข้น 67
5.7.2.3 ปริมาณการกินได้รวมทั้งหมดของวัตถุแห้ง 67
5.7.3 อัตราการเจริญเติบโต (กรัม) 68
5.7.4 ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ 68
5.7.5 ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก 69
5.7.6 ค่าชีวเคมีในเลือดและนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก 70
5.7.7 ความสมดุลไนโตรเจน 72
5.7.8 จำนวนไข่พยาธิตัวกลม 72
5.7.9 ผลตอบแทนทางการเงินจากการใช้ใบรวม
ก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อ 73
5.8 วิจารณ์ผลการทดลอง 74
5.9 สรุปผลการทดลอง 94
6 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 95
6.1 บท สรุป 95
6.2 ข้อเสนอแนะ 97
รายการอ้างอิง 98
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก วิธีการทดลองทางห้องปฏิบัติการ 126
ประวัติผู้เขียน 139

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 การเสริม condensed tannins-acting group ในพืช *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* ต่อการย่อยและการดูดซึมกรดอะมิโนที่จำเป็นในแกะ 21

2.2 การใช้คอนเดนซ์แทนนินต่อการสืบพันธุ์ในแกะ 22

2.3 การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก 23

2.4 ประเภทของแทนนินที่พบใน Acacia, Quebracho และ Chestnut 23

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา และเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน 44

4.2 ความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 46

4.3 ความสามารถในการย่อยได้โปรตีนและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 46

4.4 การย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร 47

5.1 แผนผังการจัดองค์ประกอบปัจจัยการทดลองในแผนการทดลอง 4x4 latin square Design 60

5.2 วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารข้นทดลอง (เปอร์เซ็นต์) ที่ปรับให้มีโปรตีน (isonitrogenous) และพลังงานเท่ากัน (isocaloric) 61

5.3 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1 66

5.4 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง 67

5.5 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่ออัตราการเจริญเติบโต 68

5.6 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ 68

5.7 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก 69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

5.8 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมือง และแองโกลนูเบียนต่อค่า blood urea nitrogen, pH และปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ในเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร 70
5.9 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมือง และแองโกลนูเบียนต่อค่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ของของเหลวจากกระเพาะหมัก ในวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร 71
5.10 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมือง และแองโกลนูเบียนต่อความสมดุลไนโตรเจน (N-balance) 72
5.11 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมือง และแองโกลนูเบียนต่อจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูล 73
5.12 ผลตอบแทนทางการเงินจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนในระดับต่าง ๆ 74

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างของแทนนิน 11
2.2 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid และ ellagic acid 13
2.3 โครงสร้างทางเคมีของคอนเดนซ์แทนนิน 14
2.4 กลไกการไหลผ่านของสารประกอบโปรตีน-แทนนิน 16
2.5 การเพิ่มปริมาณไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อความเข้มข้นของ
แอมโมเนียไนโตรเจน(ammonia nitrogen; NH_3-N) 24
2.6 การเพิ่มปริมาณไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อปริมาณความสามารถ
ในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (dry matter digestibility) 24
2.7 การย่อยสลายอาหารโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 33

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง ปัจจัยในการผลิตถือว่ามีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อส่งผลต่อประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิต ตลอดจนผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อเกษตรกร โดยมากกว่าครึ่งหนึ่งของการผลิตทั้งหมดคือ ต้นทุน ค่าอาหาร เมื่อพิจารณาถึงราคาวัตถุดิบ โดยเฉพาะแหล่งโปรตีน เช่น กากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเลี้ยงสัตว์ปัจจุบันราคามีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จากปัญหาดังกล่าวนำมาสู่แนวทางในการวิจัยของการใช้โปรตีนทางเลือกอื่น ๆ ที่มีมาก ราคาถูกกว่า สามารถปรับปรุงกระบวนการหมักในกระเพาะหมักให้มีประสิทธิภาพดี และตัวสัตว์ยังคงความสามารถในการให้ผลผลิตเทียบเท่าเดิม จึงพยายามนำพืชอาหารสัตว์ท้องถิ่นที่มีคุณภาพใช้ในสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยทดแทนแหล่งโปรตีนที่มีราคาแพงกว่า เนื่องจากโปรตีนถือเป็นโภชนะที่มีความสำคัญต่อสัตว์ คุณค่าทางโภชนะของโปรตีนสามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) ต่อตัวสัตว์ ดังนั้นหากเกษตรกรนำมาใช้เลี้ยงสัตว์นอกจากช่วยแก้ปัญหาเรื่องราคาต้นทุนวัตถุดิบอาหารสัตว์ ยังคงสะดวกไม่ยุ่งยากต่อผู้เลี้ยง (สุรศักดิ์ คชภักดี และวินัย ประลมพ์กาญจน์, 2529) นอกจากนี้ยังสามารถช่วยเพิ่มมูลค่าโดยเปลี่ยนมาเป็นผลผลิตจากสัตว์ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่จะส่งเสริมให้มีการใช้ประโยชน์ผลผลิตและผลพลอยได้ในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการใช้เป็นอาหารแพะเนื้อ-แพะนมต่อไป

แหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีความสำคัญว่าโปรตีนที่สัตว์จะได้รับเพียงพอกับความต้องการหรือไม่นั้นมาจาก 3 แหล่ง คือ 1. โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) 2. โปรตีนไหลผ่าน (by-pass protein, escaped protein, rumen undegradable protein (RUP)) และ 3. โปรตีนที่ได้จากระบบภายในตัวสัตว์ (endogenous protein) (เนื้อเยื่อที่หมดอายุหรือน้ำย่อยต่าง ๆ) โปรตีนจากอาหาร (dietary protein) ประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ จะถูกย่อยในกระเพาะ หมักได้ กรดอะมิโนและแอมโมเนีย และโปรตีนไหลผ่านนี้จะถูกนำไปใช้ประโยชน์ประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ส่วน ปริมาณโปรตีนจากอาหาร ที่ถูกย่อย 29 เปอร์เซ็นต์ จะถูกใช้ประโยชน์ในรูป ของกรดอะมิโน และอีก 71 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็ นแอมโมเนีย (วิศิษฐิพร สุขสมบัติ , 2538) อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับลักษณะธรรมชาติของ โปรตีนจากอาหาร นั้น ๆ ด้วย สำหรับสัตว์ที่ให้ผลผลิตต่ำได้รับโปรตีนจากจุลินทรีย์ก็อาจจะเพียงพอ แต่สำหรับสัตว์ที่ให้ผล ผลิต สูงนั้นต้องได้รับโปรตีนโดยตรงเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ RUP จากปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าว มีหลายวิธีที่สามารถเพิ่มโปรตีนไหลผ่าน ได้แก่ การ

เลือกใช้โปรตีนจากข้าวโพด (zein) ที่ย่อยสลายในกระเพาะหมักน้อยเพียง 30-40 เปอร์เซ็นต์ การใช้ความร้อนด้วยการอัดเม็ด มีผลให้ RUP เพิ่มขึ้น การใช้ปลาป่นหรือกากถั่วเหลือง ชนิดที่ผ่านการทรีตท์ให้ย่อยสลายในกระเพาะหมักได้น้อยเช่นกัน และการใช้ formaldehyde เคลือบอาหารโปรตีน (วิศิษฐิพร สุขสมบัติ, 2538) จากวิธีการข้างต้นล้วนแต่เพิ่มต้นทุนการผลิต หากเลือกใช้โปรตีนจากพืชอาหารสัตว์ในท้องถิ่นที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก จะทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้มาก ซึ่งวิธีการป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักของแทนนิน (tannins) ในระดับที่เหมาะสมสามารถป้องกันการย่อยได้ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และสามารถช่วยลดจำนวนโปรโตซัวได้ ซึ่ง การที่มีโปรโตซัวอยู่ในกระเพาะอาหารมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ลดลงและอัตราการเจริญเติบโต ของสัตว์ ช้าลง เพราะโปรโตซัวจะ จับกิน (engulf) แบคทีเรียที่มีประโยชน์ ทำให้แบคทีเรียมีประโยชน์ลดลง จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากแทนนินไปขัดขวางการย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Reed, 1995) ทั้งนี้เพราะมีสารประกอบโปรตีน-แทนนิน (tannin-protein complex) สารประกอบโปรตีน -แทนนิน ไม่ถูกย่อยใน กระเพาะหมักในสภาวะความเป็นกรด -ด่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 6.5-7.0) โปรตีน-แทนนินเมื่อไหลผ่านสู่กระเพาะแท้จะแยกพันธะออกจากกัน เนื่องจากสภาวะความเป็นกรดภายในกระเพาะ จริง (pH ต่ำกว่า 2.5) (Jones and Mangan, 1977) โปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยโดยน้ำย่อยจากกระเพาะจริง และลำไส้เล็กให้มีอนุภาคเล็กลงเป็นกรดอะมิโน เพื่อให้ร่างกายดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป ส่วนแทนนินจะถูกขับออกมากับมูล

เมธา วรรณพัฒน์ (2533) รายงานถึงบทบาท ของแทนนินในพืชอาหารสัตว์ว่า ถ้ามีปริมาณแทนนินในพืชอาหารสัตว์ระดับ 20-40 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง จะสามารถป้องกันการเกิด อาการท้องอืด (bloat) และเพิ่มการไหลผ่านของโปรตีนและกรดอะมิโนที่สำคัญ ตลอดจนเป็นการเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ไหลผ่านมายังตำแหน่งของลำไส้เล็ก สอดคล้องกับ Neizen, Robertson, Waghorn, and Charleston (1998) พบว่า แทนนินสามารถช่วยป้องกัน การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก และเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมกรดอะมิโนในลำไส้เล็กได้ นอกจากนี้ Wanapat (2001) และ Makkar, Bluemmel, and Becker (1995b) พบว่า อาหารสัตว์ที่มีสารประกอบ คอนเดนซ์แทนนิน-โปรตีนสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนจากจุลินทรีย์โปรตีนได้สูงขึ้น แต่กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบแน่ชัด และพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของไนโตรเจน (N-recycling) เข้าสู่กระเพาะหมัก และเพิ่มการหลั่งน้ำลาย ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณ glycoprotein และยูเรีย (urea) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อ กระบวนการ หมักของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Makkar, Bluemmel, and Becker, 1995a; Reed, 1995; Krause, Denman, Mackie, Morrison, Rae, Attwood, and McSweeney, 2003)

จากผลที่เกิดขึ้นข้างต้น จึงมีความสนใจที่จะนำพืช โปรตีนอาหารสัตว์ (protein foliage) ในท้องถิ่น คือ สะเดา มาศึกษา เนื่องจากพบว่ามีปริมาณคอนเดนซ์แทนนินสูง ซึ่งมีคุณสมบัติ เป็นโปรตีนไหลผ่าน ดังนั้นจึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลการใช้ใบรวมก้านสะเดาต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ระดับต่าง ๆ เพื่อศึกษาผลที่มีต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ของโภชนะ จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตแพะเนื้อ ซึ่งเป็นการนำพืชโปรตีนท้องถิ่นมาใช้เป็นพืชโปรตีนอาหารสัตว์ ให้เป็นประโยชน์ในการลดต้นทุนค่าอาหารอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะของใบรวมก้านสะเดา และวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

1.2.2 เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะ (nylon bag technique) และการย่อยได้ในลำไส้เล็ก (three-step technique) ของอาหารข้นทดลองที่มีใบรวมก้านสะเดาเป็นองค์ประกอบ

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต

1.2.4 เพื่อศึกษาผลของการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อการกำจัดโปรโตซัว (defaunation) ในกระเพาะหมักและลดไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะเนื้อ

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 ใบรวมก้านสะเดามีคุณค่าทางโภชนะเหมาะสมสำหรับเลี้ยงแพะเนื้อ

1.3.2 การใช้ใบรวมก้านสะเดาใน แต่ละระดับใน สูตรอาหาร ข้นทดลอง แพะเนื้อ ไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมัก

1.3.3 การ ใช้ใบรวมก้านสะเดาในระดับที่เหมาะสมในอาหารแพะเนื้อ ต่อการเพิ่มสมรรถนะการผลิต ไม่ส่งผลเชิงลบต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก

1.3.4 การใช้ใบรวมก้านสะเดามีประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมัก และลดไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะเนื้อ

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึง ผลของการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อโดยตัดต่ำจากยอดลงมา 30 เซนติเมตร ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก และสมรรถนะการผลิตและประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ทราบถึงคุณค่าทางโภชนะ ในใบรวมก้านสะเดา และความสามารถในการย่อยได้ของใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร เหมาะที่นำมาใช้เลี้ยงแพะเนื้อ

1.5.2 ได้ทราบผล ของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อ ที่เหมาะสม ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตแพะเนื้อ

1.5.3 ได้ทราบผลของการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักและไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะเนื้อ

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พืชโปรตีนอาหารสัตว์หลายชนิดเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและสามารถนำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพราะประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง สามารถเพิ่มโปรตีนไหลผ่านได้ โดยเฉพาะกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) เนื่องจากมีสารประกอบแทนนิน-โปรตีน ในพืชอาหารสัตว์หลายชนิดโดยเฉพาะพืชในเขตร้อนจะมีองค์ประกอบของแทนนินสูงกว่าในประเทศเขตหนาว (Makkar, Blummel, and Bekker, 1997) ปราโมทย์ แพงคำ และ โอภาส พิมพา (2545) กล่าวว่า ประโยชน์และความคุ้มค่าของแทนนินอยู่ที่ความสามารถในการป้องกันการย่อยได้ของอาหารโปรตีนในกระเพาะหมัก ซึ่งโดยปกติการให้อาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีการคำนวณโปรตีนในส่วนนี้ให้เพียงพออยู่แล้ว ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนคุณภาพดีและราคาแพง เช่น โปรตีนจากกากถั่วเหลือง กากเมล็ดฝ้าย และกากเบียร์แห้ง เป็นต้น หากสามารถใช้โปรตีนจากโปรตีนพืชอาหารสัตว์ที่มีคอนเดนซ์แทนนินทดแทนโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักจากแหล่งอื่นซึ่งมีราคาแพงกว่า จะทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ และยังปลูกไว้ใช้เองได้หรือสามารถส่งเสริมให้เกษตรกรทั่วไปใช้ได้อย่างกว้างขวาง

Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่าหากมีคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยสามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมักและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กและเพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนี้ Wanapat (2001) และ Makkar, Bluemmel, and Becker (1995b) พบว่า คอนเดนซ์แทนนินสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนจากจุลินทรีย์ได้สูงขึ้น แต่ กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน หากใช้ในระดับที่สูงเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารวัตถุแห้ง (>5 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารวัตถุแห้ง) พบว่า การย่อยได้ในกระเพาะหมักและระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายลดลง (Woodward, Auldist, Laboyrie, Janse and Cottle, 1999) หรือสูงเกินไป (>6 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารวัตถุแห้ง) ส่งผลให้เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Reed, McDowell, Van Soest, and Horvath, 1982; Barry and Manley, 1984) อย่างไรก็ตาม พบว่า สะเดาเป็นพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดหนึ่งที่มีโปรตีนและคอนเดนซ์แทนนินในระดับสูงนอกเหนือจากกระถิน ใบขนุน ใบพุทรา และปอ (Paengkoum and Liang, 2003) ทั้งนี้การใช้ประโยชน์ของพืชโปรตีนเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจะถูกจำกัดด้วยระดับของคอนเดนซ์แทนนิน และการนำสะเดามาใช้เป็นอาหารสัตวเคี้ยวเอื้องนั้นมีน้อยมาก โดยเฉพาะในอาหารแพะเนื้อนั้นไม่พบว่ามีรายงาน การตรวจ

เอกสารนี้จึงอ้างถึงการใช้ ประโยชน์ของพืชที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบ เช่น *Leucaena spp., Yucca, Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus*

2.1 สะเดา (Neem tree)

สะเดาเป็นพืชตระกูลเดียวกับมะฮอกกานี ใน Family Meliaceae มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Azadirachta indica* A. Juss. var. Siamensis Valeton ชื่อทางการค้าว่า Neem, Nim, Margosa, Yepa, Tamaka และชื่อพื้นเมืองว่า กะเดา หรือเดา (ศูนย์ส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้และปลูกป่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ 4 จังหวัดนครราชสีมา กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ร่วมกับองค์กรความร่วมมือระหว่างประเทศญี่ปุ่น (JICA), 2546) ในประเทศไทยพบสะเดา 3 ชนิด คือ สะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) ลักษณะขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ปลายใบแหลม โคนใบเบี้ยว ปลายใบเรียวแคบ พบประปรายทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง สะเดาไทย (*Azadirachta indica* A. Juss. var. Siamensis Valeton) ลักษณะขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย แต่ปลายทู่ โคนใบเบี้ยวแต่กว้างกว่า ปลายใบแหลม พบมากเกือบทุกภาคของประเทศ นิยมนำใบอ่อนและช่อดอกของสะเดามารับประทาน และสะเดาช้างหรือไม้เทียม (*Azadirachta excelsa (Jack)* Jacobs) ลักษณะขอบใบเรียบ โคนใบเบี้ยว ขนาดใบและผลใหญ่กว่าสองชนิดแรก พบเฉพาะในภาคใต้ตั้งแต่จังหวัดสุราษฎร์ธานีลงไปถึงประเทศมาเลเซีย และอินโดนีเซีย (สุภาณี พิมพ์สมาน , 2536) จากรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ (2541) ระบุว่าสะเดามีสารอาหารที่เป็นผู้ช่วยของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายที่ไม่ได้ทำหน้าที่เพียงรักษาความเจ็บป่วย แต่ก้าวหน้ากว่านั้นด้วยการป้องกันร่างกายก่อนป่วย สะเดาจึงเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณเป็นยาแก้ไข้ ไข้มาลาเรีย ยาเจริญอาหาร และใช้เป็นยาชะล้างแผลภายนอก และพบว่าใบสะเดาบ้านมีสาร nimbolide ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลองด้วย (สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2545) ส่วนเมล็ดสะเดามีน้ำมันประมาณ 40-45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในประเทศอินเดียได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ในการทำสบู่ที่ทำจากลูกสะเดา และกิ่งสะเดาทุบทำเป็นยาสีฟัน (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2531 อ้างถึงใน สุภาณี พิมพ์สมาน และ สังวาล สมบูรณ์, 2541)

ศูนย์ส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้และปลูกป่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ 4 (นครราชสีมา) (2546) รายงานว่า ใน 3 ปี สะเดาโตจากเมล็ดเป็นไม้สูง 20 ฟุต หรือประมาณ 12-15 เมตร เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ขึ้นได้ดีในแถบแห้งแล้งทั่วไป เรือนยอดเป็นพุ่มหนาทึบตลอดทั้งปี ให้ร่มเงาดี มีระบบรากหยั่งลึก ชอบแสง เปลือกไม้ค่อนข้างหนา สีน้ำตาลเทาหรือเทาปนดำ แตกเป็นร่องตื้นหรือเป็นสะเก็ดยาว ๆ เยื้องสลับกันไปตามความยาวของลำต้น มีความแข็งแรงและทนทานมาก ทนต่อความร้อน และมลภาวะทางน้ำ อากาศได้ดี ในบริเวณที่มีความแห้งแล้ง ไม้สะเดาจะผลิตใบเฉพาะส่วนล่าง ๆ ประมาณเดือนมกราคมถึงมีนาคม ใบใหม่จะผลิขึ้นมาอย่างรวดเร็วในช่วงเดือนมีนาคม

ถึงเมษายน ออกดอกระหว่างเดือนธันวาคมถึงมีนาคม และผลจะสุกระหว่างเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน แล้วแต่สภาพท้องที่ อาจอยู่ได้นานถึง 200 ปี ช่อสะเดาที่นำมารับประทานนั้นออกดอกในหน้าแล้ง ทางภาคอีสานตอนบน สะเดาออกช่อต้นเดือนพฤศจิกายนตอนล่างแถวจังหวัดสุรินทร์ บุรีรัมย์ออกดอกต้นเดือนธันวาคม สุภาณี พิมพ์สมาน และ สังวาล สมบูรณ์ (2541) กล่าวว่า เมล็ดสะเดาและสะเดาอินเดียมีอินทรีย์สารมากกว่า 40 ชนิด ซึ่งได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์แล้ว ประเภทของอินทรีย์สารที่พบมากที่สุดคือ triterpene ที่เป็นพวก limonoids (หรือเรียก tetratriterpenoids) สาร limonoids ที่เป็นพิษต่อแมลงมีหลายชนิด เช่น azadirachtin, salannin, meliantriol และ nimbin เป็นต้น azadirachtin เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีปริมาณสูง (ประมาณ 2-4 มิลลิกรัม/กรัม) และได้รับความสนใจศึกษามาก มีรายงานสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในสะเดาอินเดีย แสดงผลต่อแมลงประมาณ 200 ชนิดในหลายอันดับ เช่น Lepidoptera, Coleopteran, Diptera, Homoptera, Hemiptera และ Orthoptera (Schmutterer, 1990) การแสดงผลเป็นลักษณะที่ไม่ได้ฆ่าแมลงให้ตายโดยเร็ว (outright kill) แต่มีผลให้แมลงเจริญเติบโตผิดปกติ (Lowery and Isman, 1994) และมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง โดยมีผลยับยั้งการกินอาหาร (antifeeding) ของแมลง (Blaney, Simmonds, Ley, Anderson, and Toogood, 1990) การดึงดูด (attract) ให้แมลงเข้ามาหาหรือไล่ (repal) แมลง เป็นต้น ตลอดจนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibitor) ยับยั้งการวางไข่ของตัวเต็มวัย (Oviposition deterrent) (ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2536; Schmutterer, 1990; Schmutterer and Freres, 1990; Schmutterer, 1995) นอกจากนี้สารสกัดจากสะเดายังมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชต่าง ๆ ได้อีกด้วย (อัญชลี สงวนพงษ์, 2537; Mansour and Ascher, 1995; Rajasri, Reddy, Krishanamurthy, and Prasad; 1991, Sanguanpong and Schmutterer, 1992; Schauer, 1980; Schauer and Schmutterer. 1981; Schmutterer, 1990) โมเลกุลของสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในสะเดามีโครงสร้างที่สลับซับซ้อนและมีเสถียรภาพต่ำ การทดลองสังเคราะห์และปรับเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลมักได้ผลผลิตต่ำ การนำไปใช้ประโยชน์ในปัจจุบันจึงยังมุ่งในประเด็นของการเตรียมสารสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติ คือ เมล็ดสะเดา เพื่อผลิตเป็นสารฆ่าแมลง (National Research Council, 1992) โดยอาจใช้วิธีการอย่างง่าย ซึ่งผู้ใช้สามารถเตรียมขึ้นได้เอง แต่เป็นสารสกัดซึ่งมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต่ำ หรือโดยการทำผลิตภัณฑ์สารสกัดเชิงพาณิชย์ ซึ่งในปัจจุบันมีการผลิตและจำหน่ายแล้วในหลายประเทศ เช่น อินเดีย สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย แคนาดา และไทย เป็นต้น (Mordue and Blackwell, 1993)

จากการรายงานขององค์กร Neem Association (2006) พบว่ายอดสะเดามีเบต้า -แคโรทีนสูงและมีมากกว่ายอดตำลึง ซึ่งมีเบต้า -แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ ในใบตำลึงถูกรายงานว่า 100 กรัม ให้เบต้า-แคโรทีน 699.9 ไมโครกรัมเทียบหน่วยเรตินัล (1 วันผู้ใหญ่ต้องการวิตามินเอ 800 ไมโครกรัมเทียบหน่วยเรตินัล) ยอดสะเดา 100 กรัม ให้เบต้า -แคโรทีนถึง 777.9 ไมโครกรัมเทียบหน่วยเรตินัล สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) กล่าวว่า ใบสะเดา

เหมาะเป็นอาหารผู้สูงอายุ เพราะเหตุผลทางยา Neem Association ระบุว่า ใบสะเดาช่วยลดความต้องการอินซูลิน (insulin) และพบว่า polysaccharides และ limonoids ที่พบในเปลือก ใบ และผลของสะเดา ลดความเสี่ยงในการเกิดเนื้องอกและมะเร็งได้ (Willian, 1996) โดยไม่ก่อผลข้างเคียง และช่วยให้การเต้นของหัวใจตรงจังหวะ นอกจากนี้ยังสามารถลดอาการเครียดลงได้ เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับสารสกัดจากใบสะเดา นอกจากนี้มีการทดลองเปรียบเทียบความเครียดของหนูกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับน้ำใบสะเดาคั้น หนูกลุ่มที่ 2 ได้รับน้ำเกลือ และกลุ่มที่ 3 ได้ diazepam (Valium) ซึ่งเป็นยาที่ลดความเครียดที่ใช้กันมากในปัจจุบัน ผลที่ได้คือ ใบสะเดาส่งผลได้เท่ากับหรือดีกว่า diazepam นอกจากนี้ยังมีรายงานในประเทศอินเดียมากกว่า 10 รัฐ พบว่าใบสะเดามีแทนนินเป็นส่วนประกอบซึ่งมีปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน (CT) สูงถึง 32-34 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง ซึ่งมีมากกว่าใบกระถิน (*Leucaena spp*.) ซึ่งพบว่ามีปริมาณเพียง 15-18 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง (Kirtikar and Basu, 1980) จากคุณค่าของใบสะเดาทางเภสัชกรรมที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้ประโยชน์ โดยศึกษาจากคุณสมบัติเฉพาะตัวของสะเดา หากนำสะเดามาเป็นอาหารเลี้ยงแพะเนื้อ โดยลดการใช้วัตถุดิบอาหารที่มีราคาแพงกว่า เช่น กากถั่วเหลือง ข้าวโพด และโปรตีนจากแหล่งอื่น จะสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ การนำมาใช้อย่างถูกต้องสามารถทำให้สัตว์สุขภาพดี โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารเสริม จึงเป็นการผลิตอาหารสัตว์ที่ปลอดภัย ซึ่งเป็นนโยบายที่รัฐบาลให้การสนับสนุนเพื่อผู้บริโภคและส่งขายไปยังต่างประเทศ เพื่อประโยชน์และประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

2.2 สารประกอบแทนนิน (Tannin compounds)

ประวัติของแทนนินอาจจะย้อนกลับไปถึงยุคก่อนประวัติศาสตร์ ซึ่งมีการค้นพบหลักฐานทางโบราณคดี มีการใช้แทนนินในการฟอกหนังสัตว์ขึ้นในยุคโบราณทางตอนเหนือของเยอรมัน และคำว่า แทนนิน ถูกบัญญัติขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค .ศ. 1976 โดย Sequil ทั้งนี้เพื่อใช้ในการอธิบายถึงสารประกอบเคมีชนิดหนึ่งที่พบอยู่ในน้ำยาสกัดจากต้นพืช สารประกอบเคมีดังกล่าวนี้มีคุณสมบัติที่สามารถรวมตัวได้กับโปรตีนของหนังสัตว์ ทั้งยังป้องกันไม่ให้เกิดการเน่าเปื่อยตลอดจนการเปลี่ยนสภาพของหนังดิบสด ๆ ให้กลายสภาพมาเป็นหนังฟอกหรือหนังสำเร็จได้ แต่ยังไม่พบว่ามีหลักฐานยืนยันแน่ชัดของจุดเริ่มต้นของการฟอกหนัง แต่ได้มีการพัฒนาการผลิตหนังจนมีคุณภาพดีจนมาถึงปัจจุบัน ต่อมาคำว่าแทนนินได้ถูกนำไปใช้เรียกโพลีฟีนอล (polyphenol) ซึ่งมีคุณสมบัติในการตกตะกอนของโปรตีน เพื่อไม่ให้เกิดการสับสน Bate-Smith and Swain (1962) จึงใช้คำจำกัดความของคำว่า “แทนนิน ” คือ สารประกอบที่มีคุณสมบัติประเภทฟีนอล ซึ่งตกตะกอนกับพวก alkaloid gelatin และโปรตีนต่าง ๆ (สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์, 2531)

แทนนินหรือสารประกอบโพลีฟีนอล เป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ละลายน้ำ (water-

soluble phenolics) ที่มีหมู่ hydroxyl จำนวนมาก มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500-5,000 Dalton (Jackson, Barry, Lascano, and Palmer, 1996) มีคุณสมบัติเป็น alkaloid gelatin และโปรตีน มีสถานะเป็นกรดอ่อน เป็นสารที่ทำให้เกิดรสฝาดหรือขม คุณสมบัติของแทนนินมีฤทธิ์ฝาดสมาน (astringent) จึงใช้ช่วยลดอาการท้องเสีย แผลไฟไหม้ แผลพุพอง ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์ , 2531) ผลของแทนนินที่เห็นได้อย่างเด่นชัด คือทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ลดลง และ/หรือต้องใช้อาหารเพิ่มขึ้นเพื่อเพิ่มน้ำหนักตัวของสัตว์ต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนัก ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกันในสัตว์จำพวกแมลง หนู ไก่และเป็ด ในการศึกษาอย่างละเอียด พบว่า แทนนินมีผลทำให้เมือกหล่อลื่นลำไส้ลดลง ทำให้การขับถ่ายพวกธาตุที่มีประจุบวกผิดปกติ การขับถ่ายโปรตีนและกรดอะมิโนมากกว่าปกติ ทำให้การเจริญเติบโตของขาไก่ผิดปกติอีกด้วย และแทนนินยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (Butter, Dawson, Wakelin, and Buttery, 2001; Max, Wakelin, Buuttery, Kinambo, Kassuku, and Mtengor, 2002; Molan, Hoskin, Barry, and McNabb, 2000) นอกจากนี้การใช้อาหารพืชโปรตีนที่มีแทนนินยังสามารถลดการเกิดภาวะท้องอืดในโคได้ (Li, Tanner, and Larkin, 1996) และใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนังทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย (ชวลิต สิทธิสมบัติ, 2539) แทนนินมีกลไกไปจับกับ fungal protein, bacteria protein หรือ viral protein อื่น ๆ ของเชื้อที่รุกรานทำให้เชื้อไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้ สารกลุ่มนี้ยังสามารถแสดงคุณสมบัติของการเกิดปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจงของฟีนอลได้ เช่น สามารถตกตะกอนกับโปรตีนต่าง ๆ (gelatin, หนังสัตว์ต่าง ๆ) alkaloid รวมทั้ง macromolecules เช่น cellulose และ pectin ได้ นอกจากนั้นยังสามารถตกตะกอนกับโลหะหนักพวก lead acetate, zinc acetate, potassium dichromate และ ferric chloride ดังนั้นแทนนินจึงจัดเป็นสารขัดขวางโภชนะชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถพบแทนนินได้ในส่วนเปลือกของต้นไม้และแก่นไม้ ดังนั้นในการใช้อาหารโปรตีนจากพืช จึงนำคุณสมบัติของคอนเดนซ์แทนนินไปใช้ประโยชน์ (Haslam, 1989)

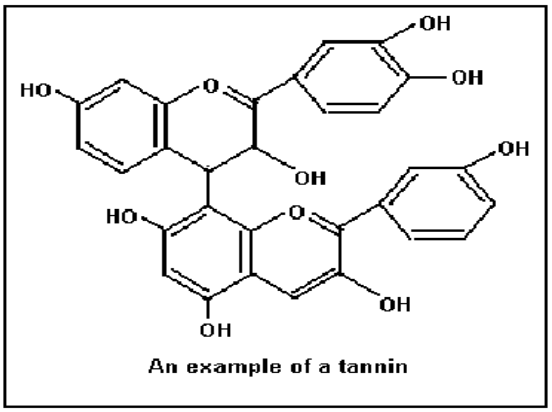
โดยทั่วไป แทนนินสามารถแบ่งตามความสามารถในการทนต่อการสลายตัวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannins) และคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannins) (McLeod, 1974; Gupta and Haslam, 1979) ในพืชหลายชนิดพบว่า แทนนินมีความสามารถในการป้องกัน และทำลายแบคทีเรีย รา และแมลงกินพืช ส่วนโทษของแทนนินมีรายงานว่า ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินจากเปลือกต้นโอ๊ค ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อโคหากได้รับปริมาณสูง แต่ปัจจุบันมีรายงานการทดลองของ Santos et al. (2000) และ González, Pabón, and Carulla. (2002) ถึงผลการใช้ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินที่สกัดจากถั่วเชส (chestnut) พบว่าสามารถป้องกันการย่อยสลายโปรตีนของกากถั่วเหลืองจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้สูงกว่าคอนเดนซ์แทนนินจากพืชตระกูล acacia และ quebracho สอดคล้องกับการทดลองของ Frutos,

Raso, Hervás, Mantecón, Pérez, and Giráldez (2004)

อย่างไรก็ตาม แทนนินจากพืชเป็นสารชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ พบมากในส่วนของเนื้อไม้ เปลือกไม้ เปลือกผล โดยเฉพาะส่วน galls ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อพืชที่มีการเจริญอย่างผิดปกติคล้ายคลึงกับเนื้องอก ตัวที่มากระทำให้เกิด galls ขึ้นในต้นพืชโดยมากจะเป็นแบคทีเรีย รา แมลง (Trease and Evans, 1983) และพยาธิ ตัวอย่างเช่น Turkish tannin ที่พบอยู่ใน galls ของต้น *Quercus infectoria* (Fagaceae) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยแมลงชื่อ *Cynips tinctoria* หรือ galls ของต้น *Quercus sessiliflora* ที่ถูกรบกวนโดยแมลงชื่อ *Dryophanta tashenbergii* ก็พบว่ามีแทนนินซึ่งอยู่ในสภาพกลูโคไซด์ ลักษณะสีแดง โดยมีส่วนอะไกลโคนคือ purpurogallin (พรรณิภา ชุมศรี, 2523)

สำหรับพืชในประเทศไทยที่มีแทนนินเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย เปลือกมังคุด ใบขนุน ใบฝรั่ง ใบหรือเปลือกสีเสียด ใบชา ใบสะเดา ใบกระถิน พืชตระกูลถั่ว เปลือก และผลกล้วย เป็นต้น (ปราโมทย์ แพงคำ และโอภาส พิมพา , 2545) Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่าถ้ามีแทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งมีพืชอาหารสัตว์หลายชนิดที่มีแทนนินอยู่ในระดับดังกล่าว หากมีการจัดการที่ดี เช่น จากมันเฮย์ (Wanapat, 2001) หรือพืชอาหารสัตว์อื่น ๆ เช่น กระถิน ปอ (Paengkoum and Liang, 2003) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูงสามารถไหลผ่านกระเพาะหมักได้ (rumen by-pass protein) ทั้งนี้เพราะมีสารประกอบโปรตีน -แทนนิน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะในโคนม (Wanapat, Pimpa, Petlum, and Boontao, 1997; Wanapat, 2001) นอกจากนี้ Wanapat, Polthanee, Wachirapakorn, Anekuit, and Mattarat (2001) และ Makkar et al. (1995b) พบว่า คอนเดนซ์แทนนินสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนจากจุลินทรีย์ได้สูงขึ้น แต่กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน ถึงแม้ว่าพืชหลายชนิดที่มีแทนนินสูง เช่น มันเฮย์สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบโปรตีนคุณภาพสูงได้เป็นอย่างดีสำหรับโคนม (Wanapat, Petlum, and Pimpa, 2000) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์ของมันแห้งหรือมันเฮย์รวมถึงพืชโปรตีนอาหารสัตว์จะถูกจำกัดโดยการที่มีระดับคอนเดนซ์แทนนินที่สูงมากว่า 6 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารวัตถุแห้ง ขึ้นไป เพราะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Reed et al., 1982; Barry and Manley, 1984) และหากมีในอาหารถึง 9 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารวัตถุแห้ง สามารถทำให้สัตว์ตายได้ (Makkar et al., 1997) สำหรับการผลิตและจัดการมันเฮย์จะมีแทนนินอยู่ต่ำกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ (Wanapat, Petlum, and Pimpa, 2000a; Wanapat, Puramongkon, and Siphuak, 2000b; Wanapat, Pimpa, Sripuek, Puramongkol, Petlum, Boontao, Wachirapakorn, and Sommart, 2000c; Wanapat, 2001) นอกจากนี้การใช้มันเฮย์ที่มีแทนนิน เป็นส่วนประกอบนั้น พบว่ามีแนวโน้มปรับปรุงสภาพนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก โดยเพิ่มประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งเป็นลู่ทางในการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักในกระเพาะหมักได้ จากการรายงานของ Woodward et al. (1999) พบว่าการเลี้ยง

โคนมด้วย *Lotus corniculatus* ซึ่งมีคอนเดนซ์แทนนินเป็นองค์ประกอบสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมและโปรตีนได้ 47 เปอร์เซ็นต์ และ 54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Paengkoum and Liang (2003) รายงานว่า คอนเดนซ์แทนนินพบได้ทั่วไปในโปรตีนพืชอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตร้อน เช่นเดียวกับ Bate-Smith and Swain (1967) พบว่า พืชอาหารสัตว์หรือหญ้าในเขตร้อนหลายชนิดมีคอนเดนซ์แทนนินเป็นองค์ประกอบ ซึ่งใบไม้และพืชต่าง ๆ จำนวนมากพบได้ทั้งแบบที่เป็นไฮโดรไลเซเบิลแทนนินและคอนเดนซ์แทนนิน (Waterman, Mbi, McKey, and Gartlan, 1980; Coley, 1983; Reed, Horvath, Allen, and Van Soest, 1985; Mole and Waterman, 1987a) โดยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาในหลายรูปแบบ เพื่อให้มีความสะดวกและเหมาะสมต่อการนำใช้ประโยชน์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนั้น แทนนินอาจมีอิทธิพลต่อการลดลงของประชากรโปรโตซัว ทั้งนี้อาจเพราะผลของสารประกอบโปรตีน -แทนนินที่เกิดขึ้นในพืชอาหารสัตว์ และพบว่าแทนนินสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของไนโตรเจน (N-recycling) เข้าสู่กระเพาะหมัก และเพิ่มการหลั่งน้ำลาย ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณ glycoprotein และยูเรีย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อกระเพาะหมักต่อไป (Makkar et al., 1995a; Reed, 1995; Krause et al., 2003)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของแทนนิน
ที่มา: O'Connell, 2000

โดยจากการแบ่งกลุ่มแทนนินตามความสามารถในการทนต่อการสลายตัวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) นั้นจำแนกประเภทออกได้เป็น 2 ชนิด (ชวลิต สิทธิสมบัติ, 2539) ดังนี้

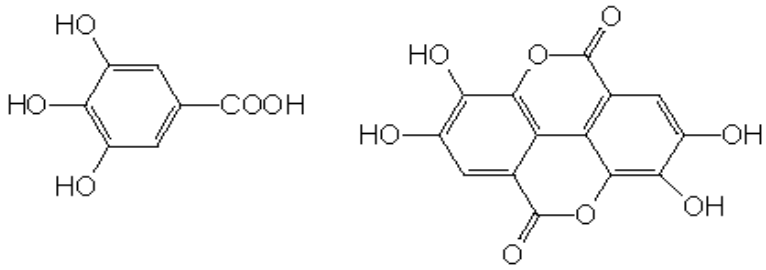
2.2.1 ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (Hydrolysable tannins)

เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ ส่วนที่หนึ่งเป็นส่วนของน้ำตาล มักเป็นน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนใหญ่หรือสารประกอบ polyols อื่น ส่วนที่สอง phenolic acid เช่น gallic acid หรือ hexahydroxydiphenic acid (HHDP) หรืออนุพันธ์ของ HHDP มักอยู่ในสภาพออกซิไดซ์ โดยส่วนที่เป็น phenolic acid จะมากกว่าส่วนของน้ำตาล (มักอยู่ในรูปของ gallic acid) หรือ polyols มาเชื่อมโยงกันด้วยพันธะเอสเตอร์ (ester linkage) ที่เรียกว่า depside linkage ซึ่งพันธะเอสเตอร์จะถูก hydrolyzed ในสภาวะที่มีน้ำและถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยกรด ด่างหรือเอ็นไซม์ (Swain, 1965; Haslam, 1966) หลังการแยกสลายด้วยน้ำจะได้ carboxylicphenol acid และ alcohol เกิดขึ้น โดยทั่วไปแล้ว alcohol ที่เกิดขึ้นจะเป็นพวกน้ำตาล ส่วนกรดจะเป็นอนุพันธ์ของ gallic acid เมื่อนำไปกลั่นแบบ dry distillation สารประกอบ phenolic acid จะเปลี่ยนเป็น pyrogallol ดังนั้นไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน จึงเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า pyrogallol tannins

สารประกอบกลุ่ม ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มแรก Gallo tannin คือ แทนนินที่เกิดมาจาก gallic acid หรือเป็นสารประกอบที่ประกอบด้วย gallic acid เชื่อมต่อกับน้ำตาลกลูโคส ด้วยพันธะเอสเตอร์ เมื่อสลายตัว acid hydrolysis จะได้ gallic acid และน้ำตาลกลูโคส ตัวอย่างของ gallo tannin ได้แก่ tannic acid (chinese gallotannin) และ tara gallotannin (tara tree; *Caesalpina spinosa*) (Leinmuller, Steingass and Menke, 1991) พืชที่ใช้เป็นยาหรือเป็นแหล่งของ gallo tannin ได้แก่ โกศน้ำเต้า (rhubarb), กานพลู (cloves), กลีบกุหลาบแดง (red rose petals), chinese galls, turkish galls, hamamelis, bearberry leaves, chesnut (*Castanea sativa*) (Haslam, 1979) และ maple เป็นต้น

กลุ่มสอง Ellagi tannin คือ แทนนินที่เกิดจากกรดเอลละจิค (ellagic acid) เป็นสารประกอบ polyphenols ที่ประกอบด้วย hexahydroxydiphenic acid หรือ modified form เช่น chebulic acid, dehydrohexahydroxydiphenic acid เป็นต้น อยู่รวมกับน้ำตาล ellagi tannin เมื่อสลายตัวแบบ acid hydrolysis ส่วนของ hexahydroxydiphenic acid จะแยกออกและเกิดปฏิกริยา lactonization ให้ ellagic acid ตัวอย่างของ ellagitannins ได้แก่ pedunculagin, chebulagic acid พบมากในส่วนใบ ฝัก และ gall ตัวอย่างพืชที่เป็นแหล่งของ ellagi tannin ได้แก่ เปลือกผลทับทิม (pomegranate rind), ผลสมอไทย (myrabolans), เปลือกต้นโอ๊ค (oak bark), gall oak (*Queercus infectoria*) (Leinmuller, Steingass and Menke, 1991) และใบยูคาลิปตัส (eucalyptus leaves)

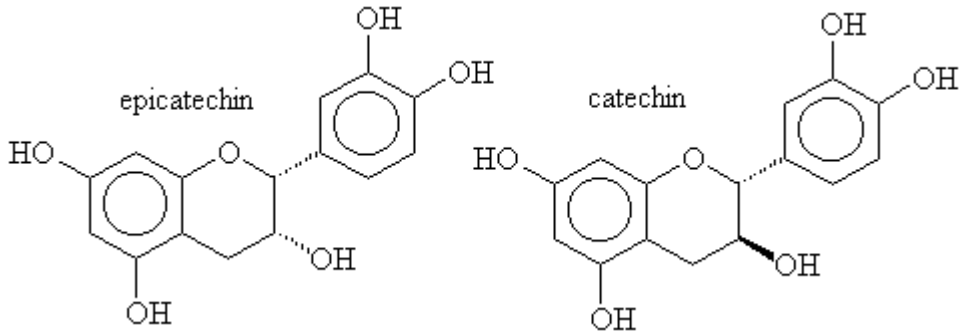


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid (ซ้าย) และ ellagic acid (ขวา)

ที่มา : Deshpande, Cheryan, and Salunkhe, 1986

2.2.2 คอนเดนซ์แทนนิน (Condensed tannins)

แทนนิน ประเภทนี้ค่อนข้างจะทำให้แตกตัวหรือสลายตัวได้ยากกว่าแทนนินชนิดสลายตัวได้ โครงสร้างเกิดมาจากการรวมตัวแบบพอลิเมอร์ของสารประกอบฟีนอลที่มีความเกี่ยวพันกับพวก ฟลาโวนอยด์ Haslam (1966, 1979) และ Robinson (1980) รายงานว่า เนื่องจากโครงสร้าง polyphenols นั้นเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบกลุ่ม flavonoids โดยเฉพาะ leucoanthocyanidin และ catechins เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า proanthocyanidins (Vickery and Vickery, 1981) เป็นสารประกอบ polyphenols ที่มีความซับซ้อน มีคุณสมบัติทั่วไปเหมือนแทนนินชนิดสลายตัวได้ แต่ละลายน้ำได้ไม่ดีเท่ากลุ่มไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน เมื่อนำมาต้มกับกรดเจือจางหรือนำมาทำปฏิกริยากับเอ็นไซม์ แทนที่จะแยกสลาย กลับได้พอลิเมอร์สีน้ำตาลแดง ที่ไม่ละลายน้ำ ชื่อ phlobaphenes, tannin-reds, phoba tannins sinv flavan-3-ol (Catechin) หรือ flavan-3,4-diol (leucoanthocyanidin) คอนเดนซ์แทนนินสามารถละลายได้ในสภาพที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูง (Haslam, 1966) และเมื่อนำมาทำการกลั่นแบบแห้ง (dry distillation) หรือผ่านความร้อนจะได้ catechols จึงอาจเรียกชื่อ แทนนิน ประเภทนี้ว่า catechol tannins หรือ catechin tannins หรือ phloba tannins (VIII) Turkish gallotannin (IX), Taragallotannin (X) และ Dhava tannin (XI) เป็นต้น ซึ่งพืชที่เป็นแหล่งของคอนเดนซ์แทนนิน ได้แก่ เปลือกอบเชย เปลือกชินโคนา เปลือกหลิว เปลือกโอ๊ค เปลือกโกโก้ เปลือกและใบของ hamamelis ราก krameria ราก male fern ใบชา crown vetch (*Coronilla varia*) (Leinmuller, Steingass and Menke, 1991) bush clover (*Lespedeza cuneata*; McLeod, 1974) ส่วนสกัดด้วยน้ำ catechu และ black catechu (*acacia cuth*) mill kernels (Gupta and Haslam, 1979) meadow pea (*Lathyrus pratensis*) (Bate-Smith, 1973a) โดยเฉพาะในพืชตระกูลถั่ว เช่น กระถิน (Molan, Attwood, Min, and McNabb, 2001; McLeod, 1974) เป็นต้น



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของคอนเดนซ์แทนนิน
ที่มา: Deshpande et al., 1986

2.3 บทบาทแทนนินต่อสรีรวิทยาของพืช

สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์ (2531) กล่าวว่า บทบาทของแทนนินต่อสรีรวิทยาของพืชนั้นเข้าใจว่าคงจะต้องเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเองของพืชที่มีต่อพวกปรสิตและสัตว์กินพืชทั้งหลาย จากการที่พบว่าพืชมีการสร้างสารประกอบเคมีพวกแทนนินเก็บสะสมไว้ในส่วนของเนื้อเยื่อของพืช นั้นอาจอธิบายได้ว่า โดยปกติแล้วเนื้อเยื่อของพืชที่มีแทนนินอยู่เป็น องค์ประกอบมักมีรสฝาด ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัว ทั้งนี้รสฝาดที่เกิดขึ้นจะเป็นความรู้สึกของการรับรสที่เกิดขึ้นจากแทนนินที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืชอันเป็นความรู้สึกรับรสที่แตกต่างไปจากรสขมหรือเปรี้ยว ความรู้สึกของรสฝาดที่เกิดขึ้นภายในปากมีต้นเหตุมาจากการเกิดปฏิกริยาระหว่างแทนนินกับโปรตีน (glycoprotein) ที่มีอยู่ในน้ำลาย ทำให้คุณสมบัติของการหล่อลื่นของน้ำลายสูญเสียไป เพราะเกิดการเชื่อมโยง (crosslink) ของ polymer tannins กับโปรตีน ปฏิกิริยานี้จึงช่วยปกป้องพืชและผลไม้ต่าง ๆ ให้รอดพ้นจากการถูกทำลายกัดเจาะหรือถูกกินโดยพวกสัตว์และแมลง

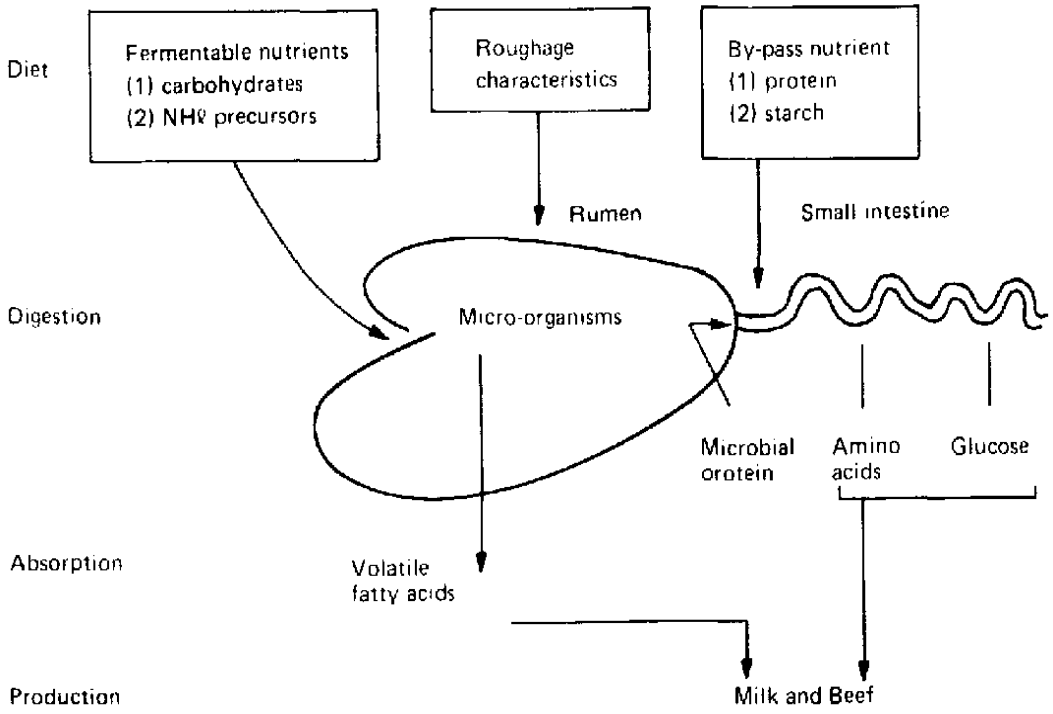
อย่างไรก็ตาม การเกิดของแทนนินในเนื้อเยื่อของพืชจะมีปริมาณที่เปลี่ยนแปลงไปได้เรื่อย ๆ ในระหว่างการเจริญของเนื้อเยื่อพืชโดยเฉพาะส่วนของผล การเปลี่ยนแปลงของแทนนินจาก oligomer ไปเป็น polymer จะเกิดขึ้น แต่คุณสมบัติของการฝาดสมานหรือการเกิดรสฝาดจะจำกัดอยู่เฉพาะกับ oligomer เท่านั้น ฉะนั้นในผลไม้ที่สุกแล้วไม่ว่าจะเป็นฝรั่งหรือกล้วยก็ตาม จึงไม่มีรสฝาดหลงเหลืออยู่เลยและก็ไม่พบพวก oligomer อยู่ในผลไม้สุกเหล่านี้ด้วย นั่นคือ polymer ที่เกิดขึ้นจะไม่ทำให้เกิดรสฝาดขึ้นได้ ก็เพราะว่า polymer จะลดการละลายตัวเองลง บางท่านยังได้เสนอทฤษฎีว่า ผลไม้สุกจะได้รับพลังงานมาจากการ oxidation ของแทนนินในกระบวนการ metabolism ของแทนนินนี้เอง ทั้งยังอาจจะเป็นแหล่งกำเนิดของกรดผลไม้ด้วย

2.3.1 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ซึ่งจากรายงานของ Jones, McAllister, Muir, and Cheng (1994) ซึ่งพบว่า แทนนินมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ซึ่งความเป็นพิษของแทนนิน ต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณแทนนินที่สัตว์ได้รับ และพบว่า ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินมีพิษต่อจุลินทรีย์น้อยกว่าคอนเดนซ์แทนนิน โดย Reed (1995) ได้จำแนกกลไกการยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักไว้ 3 วิธีด้วยกัน คือ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จุลินทรีย์ เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบโปรตีน ความเป็นพิษต่อผิวเซลล์จุลินทรีย์ และการจับตัวกับ metal ion ซึ่งพบว่า แทนนินมีคุณสมบัติในการจับกับโปรตีนได้ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำงานได้ โดยพบว่า proanthocyanidins สามารถจับกับเอนไซม์ protease ของ *Streptococcus bovis* และ *Butyrivibrio fibrisolvens*

2.3.2 ผลของแทนนินต่อเมแทบอลิซึมของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

แทนนินสามารถยับยั้งการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักโดยจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติสามารถตกตะกอนกับโปรตีนได้ ทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยสลายโปรตีนได้น้อยลง ดังนั้นโปรตีนในอาหารก็สามารถผ่านไปสู่กระเพาะจริงและลำไส้เล็ก สัตว์สามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ (Reed, 1995) สอดคล้องกับ Niezen, Waghorn, Charleston, and Waghorn (1995) พบว่า แทนนินสามารถช่วยป้องกันโปรตีนถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักและสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมกรดอะมิโนในลำไส้เล็กได้ โดย Frutos et al. (2004) และ Santos et al. (2000) ได้ศึกษาผลการเสริมไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีน (effective degradability of crude proteins: EDCP) ในกระเพาะหมัก (*in situ*) พบว่ากลุ่มที่เสริมไฮโดรไลเซเบิลแทนนินมีค่าประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนลดลง ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ซึ่งหมายความว่า โปรตีนจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปถูกย่อยสลายที่กระเพาะหมักได้น้อยลง ทำให้โปรตีนจากอาหารที่สามารถผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่างได้มากขึ้น อาจเป็นเพราะผลของสารประกอบโปรตีน-แทนนินที่เกิดขึ้นในพืชอาหารสัตว์ โดยเกิดจาก H-bonding ระหว่างแทนนินกับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน โดยเฉพาะค่าความเป็นกรด -ด่าง (pH) ที่เป็นกลาง ซึ่งสารประกอบโปรตีน-แทนนินจะไม่ย่อยสลายและคงสภาพได้ทนทานที่ความเป็นกรด -ด่างระหว่าง 3.5-7 แต่จะไม่สามารถคงสภาพได้และจะปลดปล่อยโปรตีนให้หลุดออกที่สภาพค่าความเป็นกรด -ด่าง <3.0 และ >8.0 (Jones and Mangan, 1977) แต่มีการทดลองของ Poncet and Remond (2002) ที่พบว่ากลุ่มที่เสริมและไม่เสริมไฮโดรไลเซเบิลแทนนินไม่มีความแตกต่าง เนื่องจากระดับ tannic acid ที่ใช้ในการทดลองอาจต่ำเกินไป (3 เปอร์เซ็นต์) จึงไม่มีผลกระทบต่อการย่อยสลายโปรตีน



ภาพที่ 2.4 กลไกการไหลผ่านของสารประกอบโปรตีน-แทนนิน

ที่มา : Minn, McNabb, Barry, and Peters, 1999

จากภาพที่ 2.4 และ 2.7 โปรตีนจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยเอนไซม์ urease ระดับความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสม (optimum pH) กับการเข้าย่อยสลายโปรตีนจะอยู่ระหว่าง 6.0-7.0 โดยโปรตีนจะถูก hydrolyze ให้เป็นสารประกอบอย่างง่าย (simple compounds) เช่น กรดอะมิโนหรือ แอมโมเนีย สารประกอบเหล่านี้ ที่ได้จาก NPN และ free amino acids จะถูกใช้ประโยชน์ โดยจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโต การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ จุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียในกระเพาะหมักจะเข้าย่อยสลายโปรตีนโดยผลิต extracellular enzymes ระดับความเป็นกรด -ด่างที่เหมาะสมกับการเข้าย่อยสลายโปรตีนอยู่ระหว่าง 6.0-7.0 โปรตีนจะถูก hydrolyze ได้ peptides และกรดอะมิโนซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกใช้ประโยชน์โดยตรงโดยจุลินทรีย์ จากนั้นจะผลิตแอมโมเนียและ organic acids ด้วยกระบวนการ deamination ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากจุลินทรีย์จะถูกสังเคราะห์จากแอมโมเนียและ 20 เปอร์เซ็นต์ จะสังเคราะห์จากกรดอะมิโนโดยตรง ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของ dietary protein จะถูกย่อยในกระเพาะหมักได้กรดอะมิโนและแอมโมเนียปริมาณของ dietary protein ที่ถูกย่อยนี้ 29 เปอร์เซ็นต์ จะถูกใช้ประโยชน์ในรูปกรดอะมิโนและอีก 71 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนีย อย่างไรก็ตามความสามารถในการละลายได้ของโปรตีน

เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการแตกตัวของโปรตีน (Handerick and Martin, 1963) และขึ้นอยู่กับลักษณะธรรมชาติของ dietary protein นั้น ๆ ด้วย

โปรตีนที่ผ่านเข้าสู่กระเพาะจริง จึงประกอบด้วยส่วนผสมระหว่างโปรตีนจากเซลล์จุลินทรีย์และโปรตีนจากอาหารซึ่งไม่ถูกย่อยในสลายในกระเพาะหมัก โปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยต่อด้วย proteolytic enzymes ได้กรดอะมิโนแล้วดูดซึมผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสเลือด ส่วนโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยจะผ่านไปยัง caecum ซึ่งจะมีการหมักต่อเช่นเดียวกับในกระเพาะหมักได้แอมโมเนียแล้วซึมผ่านผนัง caecum ส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยจะถูกขับถ่ายออกทางอุจจาระ

2.3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างแทนนินและโปรตีน

แทนนินและโปรตีนสามารถลดการย่อยได้ของอาหารในกระเพาะหมัก โดยเชื่อว่าเป็นผลมาจากสารประกอบโพลีฟีโนลิคไปมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก McSweeney, Palmer, Krause, and Brooker (1999) รายงานว่า แทนนินมีผลต่อการลดการย่อยได้ของสารประกอบโปรตีน รวมทั้งสารประกอบต่าง ๆ ที่มีรวมอยู่กับโปรตีน แทนนินเป็นสารต่อต้านการย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว โดยเฉพาะในระดับสูงจะมีผลทำให้การย่อยได้ และการดูดซึมของโปรตีนในลำไส้เล็กลดลง Wiseman and Wilson (1988) รายงานว่า สารประกอบระหว่างแทนนินกับโปรตีนมีพันธะค่อนข้างคงที่ในสภาพตามธรรมชาติ แต่เมื่อเปลี่ยนสภาพไป จะไม่สามารถผันกลับได้ พันธะระหว่างแทนนิน กับโปรตีนสามารถลดได้หลายวิธี เช่น ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีโพรพิลินในน้ำลายสูง โดยโพรพิลินจะทำหน้าที่ในการคลายพันธะก่อน อย่างไรก็ตาม โพรพิลินจากน้ำลายผลยังคงไม่ชัดเจน ปัจจัยที่มีผลมากกว่าได้แก่ สภาพความเป็นกรด -ด่างในสภาพกระเพาะหมักที่มีสภาพค่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งแทนนินกับโปรตีนยังไม่มีการสลายพันธะ แต่เมื่อผ่านไปที่กระเพาะจริงและลำไส้เล็ก ที่มีสภาพเป็นกรดจากกรดน้ำดี ทำให้พันธะระหว่างแทนนิน กับโปรตีนถูกทำลาย (Mole and Waterman, 1985) และ Jones and Mangan (1977) เห็นได้ว่าพันธะระหว่างคอนเดนซ์แทนนินและโปรตีนสามารถถูกทำลายที่ค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 3.5

กลไกของแทนนินต่อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณแทนนิน แทนนินเพียงจำนวนน้อยอาจไม่มีผลใด ๆ หรือส่งผลกระทบต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และจุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะหมักมีความทนทานต่อแทนนินในระดับสูง (Leng, 1991) โดยปกติจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีความสามารถลดความเป็นพิษของสารต่อต้านโภชนะต่าง ๆ ไม่เพียงเฉพาะแทนนิน (Makkar, Singh, and Kamra 1994) โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่จะย่อยอาหารคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักก่อน และจุลินทรีย์จะเลือกใช้โปรตีนที่สามารถย่อยง่ายจากแหล่งอื่นก่อน เช่น ยูเรีย ส่วนโปรตีนจากพืชอาหารสัตว์จะถูกย่อยได้เพียงจำนวนน้อยเท่านั้น

จากการรวบรวมข้อมูลการศึกษาระดับการใช้คอนเดนซ์แทนนินต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก พบว่า ระดับคอนเดนซ์แทนนินที่เหมาะสมสามารถเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ออก

จากกระเพาะหมัก (Beever, Thomson and Cammell, 1976) และ Minn, McNabb, Barry, and Peters (1999) กล่าวว่า การปล่อยให้สัตว์แทะเล็มในแปลงหญ้าและถั่วสามารถทำให้สัตว์รับแทนนิน 1-2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งสามารถเพิ่มระดับโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมัก

คอนเดนซ์แทนนินพบได้ทั่วไปในพืชโปรตีนอาหารสัตว์ โดยเฉพาะพืชในเขตร้อน หากใช้ระดับสูงเกินกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การกินได้ของอาหารลดลง (Montossi, Liu, Morris, Barry, and Risso, 2001) หากมีในอาหารถึง 9 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้สัตว์ตายได้ ระดับที่เหมาะสมที่ให้ผลดี คือ ประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารป้องกันการย่อยได้ของอาหารโปรตีนในกระเพาะหมักและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กและการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น ดังนั้นคอนเดนซ์แทนนินในโปรตีนพืชอาหารสัตว์สามารถทดแทนโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักจากแหล่งอื่น ซึ่งมีราคาแพงกว่า โดยพบว่าคุณสมบัติทั่วไปของแทนนินสามารถป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนบางส่วนโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและป้องกันโรคท้องอืด (Jones, Anderson, and Ross, 1973; Ross and Jones, 1974) โดยเฉพาะในโค Kendall (1966) กล่าวว่า แทนนินเป็นตัวการสำคัญที่ช่วยระงับการเกิดฟองอากาศในกระเพาะหมักของโคได้ ซึ่งทดลองในแบบ *in vitro* โดยใช้น้ำคั้นจากใบพืชตระกูลถั่วบางชนิดที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบเปรียบเทียบกับการเติมสาร polyvinylpyrrolidone พบว่าปริมาณของฟองอากาศเกิดขึ้นอย่างมากมาย ทั้งนี้สารดังกล่าวจะเข้ารวมตัวและระงับปฏิกิริยาของแทนนินลง

Jones, Broadhurst, and Lyttleton (1976) และ Jones and Mongan (1977) รายงานตรงกันว่าการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักของโคลดลงเมื่อปล่อยสัตว์แทะเล็มทุ่งหญ้าที่มีคอนเดนซ์แทนนินและสารประกอบโปรตีน -แทนนินแยกพันธะออกจากกันที่ระดับ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2.5 ภายในกระเพาะจริง ขณะที่ Jones and Mongan (1977) รายงานว่าแทนนินจากพวกพืชตระกูลถั่วจะรวมตัวเข้าจับกับโปรตีนในกระเพาะหมักได้อย่างเหนียวแน่นที่ระดับ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5 ทั้งนี้แทนนินชนิดต่าง ๆ จะมีระดับความเป็นกรด -ด่างที่เหมาะสมสำหรับการรวมตัวเข้าจับกับโปรตีนได้สูงสุดแตกต่างกัน

Reed et al. (1982) ศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง sainfoin ซึ่งมี 1.5 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน กับ red clover 0 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน พบว่า บ่อยครั้งสัตว์เคี้ยวเอื้องจะเกิดโรคท้องอืดขึ้นเมื่อใช้ด้วย red clover แต่ไม่ปรากฏว่าเกิดโรคชนิดเดียวกันนี้เมื่อใช้ sainfoin ดังนั้นโปรตีนที่ไม่ได้ถูกทำลายในกระเพาะหมักจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการสร้างโปรตีนจากจุลินทรีย์ เนื่องจากการย่อยได้ของโปรตีนจากจุลินทรีย์ อยู่ระหว่าง 30-70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งโปรตีนในอาหารจะถูกทำลายมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับการละลายของโปรตีนชนิดนั้น ๆ เช่น casein มี half life อยู่ในกระเพาะหมักเพียง 5-20 นาที และ 45 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ดังนั้นพวกโปรตีนที่หลุดรอดจากการถูกทำลายก็จะเป็นส่วนที่มีการละลายได้ต่ำ

Susanne, Steinga, and Drochner (2001) รายงานผลของแทนนินต่อการผลิตแก๊ส methane (CH_4) โดยแสดงผลการเพิ่มปริมาณ chestnut tannins สกัดในถั่วเหลือง (*in vitro*) ต่อปริมาณการผลิต CH_4 พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นแทนนินสกัดขึ้น มีผลทำให้ปริมาณการผลิตแก๊ส CH_4 ลดลงตามปริมาณแทนนินสกัด ที่เพิ่มขึ้นในปริมาณ 0, 20, 40 และ 80 mg ตามลำดับโดยพบว่า แทนนินสกัดเพียง 20 mg สามารถลดการเกิด CH_4 ได้ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของแก๊ซมีเทนจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับระดับของอาหารหยาบด้วย สำหรับพืชอาหารสัตว์แทนนินสูงและต่ำ กว่า 10 ชนิด พบว่า มีค่าการย่อยได้ 65 และ72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าการผลิตแก๊สหลังจากการหมัก 3 ชั่วโมง (*in vitro*) เท่ากับ 28 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้พบค่าสหสัมพันธ์กลับระหว่างแทนนินและค่าการย่อยได้ *(in vitro)* โดยพบว่า แทนนินเข้าระงับการทำงานของ cellulase ในกระเพาะหมัก ทำให้ย่อยได้ของเมล็ดข้าวฟ่าง (finger millet), field beans และ crowvetch leaflets ซึ่งเป็นพืชอาหารสัตว์ที่มีแทนนินอยู่ตามธรรมชาติลดลง อย่างไรก็ตาม คงไม่ได้เกิดจากการที่แทนนินเลือกเข้าระงับการทำงานของ cellulase เพียงอย่างเดียว หากขึ้นอยู่กับปริมาณแทนนินที่เข้ารวมตัวเข้าจับกับโปรตีนในพืชด้วย

นอกจากนี้พบว่ามีรายงานการใส่แทนนินทั้งชนิดไฮโดรไลเซเบิลแทนนินและคอนเดนซ์แทนนินลงในกากถั่วเหลือง ช่วยลดการเกิดแอมโมเนียมกระเพาะหมัก ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Tagari, Henis, Tamir, and Volcani (1965) ที่รายงานว่า การใส่แทนนินกลุ่ม carob หรือ gallotannin ลงในกระเพาะหมักของสัตว์โดยตรงไม่ส่งผลต่อการเกิดแก๊สแอมโมเนียแต่อย่างไร อย่างไรก็ตาม มีนักวิจัยบางกลุ่มตั้งข้อสังเกตว่าอาจจำเป็นต้อง treat อาหารก่อนเพื่อเปิดโอกาสให้แทนนินรวมตัวกับโปรตีนก่อนเกิดขบวนการย่อย แทนที่จะทำเพียงการใส่แทนนินลงในอาหารสัตว์ Reed et al. (1982) ได้เสนอข้อคิดเพื่อให้นักวิจัยพึงระวังปัญหาว่า จุลินทรีย์บางพวกอาจจะการปรับตัวและสามารถที่จะเข้าทำลายสารประกอบโปรตีน-แทนนินได้ ซึ่งอาจเกิดปัญหาซับซ้อนยิ่งขึ้น

Dreidges and Hatfield (1977) ศึกษาเปรียบเทียบระดับไนโตรเจนที่เก็บกักและหมุนเวียนในร่างกาย (nitrogen retention) ของแกะด้วยอาหารข้นชนิดเม็ด (pelletized food) ที่มีกากถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองที่เสริมแทนนิน พบว่าระดับไนโตรเจนที่กักเก็บของแกะแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของแกะกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 เท่ากับ 177 และ 217 กรัม/ตัว/วัน ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม กากถั่วเหลืองอัดเม็ดจะสลายตัวได้อย่างรวดเร็วเมื่อแช่น้ำ ขณะที่เม็ดกากถั่วเหลืองที่เสริมแทนนิน อัดเม็ดสามารถคงสภาพอยู่ได้นานถึง 6 ชั่วโมง ดังนั้นการอัดเม็ดอาจส่งผลต่อการคงสภาพของอาหาร ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อปริมาณแทนนินที่พบในอาหาร สำหรับการเลี้ยงแกะด้วยนมผง (skimmed milk powder) ผสมแทนนินจาก chestnut wood ทำให้ความสามารถในการละลายได้ในกระเพาะหมักลดลง 89 เปอร์เซ็นต์ ช่วยป้องกันการสลายตัวของกากถั่วลิสง กากถั่วเหลือง linseed rapeseed และเมล็ดทานตะวัน โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ส่วนระดับไนโตรเจนในลำไส้เล็กลดลง (68.2 กับ 72.0 เปอร์เซ็นต์) แต่ระดับไนโตรเจนที่เก็บกักและหมุนเวียนในร่างกายดีขึ้น (23.6 กับ 16.1 เปอร์เซ็นต์)

McGinty (1969) ทดลองใช้ข้าวโพด ข้าวฟ่างระดับแทนนินต่ำและข้าวฟ่างระดับแทนนินสูงในโคเพศผู้ พบว่าน้ำหนักตัวของโคเพศผู้ที่ได้รับข้าวโพดและข้าวฟ่างระดับแทนนินสูงเท่ากับ 32 และ 27 ปอนด์ ส่วนโคเพศผู้ที่ได้รับข้าวฟ่างระดับแทนนินต่ำมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในสัดส่วนที่น้อยกว่าเท่ากับ 25 ปอนด์ ค่าการย่อยได้ในข้าวฟ่างระดับแทนนินสูงเท่ากันกับข้าวฟ่างแทนนินต่ำ ในขณะที่ค่าการย่อยได้ของโปรตีนในข้าวฟ่างระดับแทนนินต่ำลดลงครึ่งหนึ่ง และหากใช้พืชทั้งสามชนิดข้างต้นเลี้ยงโคนมในระยะให้นมแบบหมัก พบว่าค่าเฉลี่ยของการให้นมเท่ากับ 77.2, 77.3 และ 72.8 ปอนด์/วัน ไขมันในน้ำนม 4.5, 4.2 และ 4.2 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.60, 0.57 และ 0.41 ปอนด์/ตัว/วัน ตามลำดับ

สุวิทย์ อโนทัยสินทวี (2538) ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของแพะรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารข้นที่มีกระถิน (1.7-3.7 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน) ในระดับ 0, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการกินได้ของแพะแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของแพะกลุ่มที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 36.75, 39.75, 33.50 และ 29.00 กรัมต่อวัน (P<0.05) ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 18.35, 16.43, 20.53 และ 22.14 (P<0.05) การใช้ใบกระถินในสูตรอาหารที่มีระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อสุขภาพของแพะ แต่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง จากการรายงานดังกล่าว การใช้ใบกระถินเลี้ยงแพะ หากใช้ในปริมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร สามารถเพิ่มอัตราการกินได้และอัตราการเจริญเติบโตขึ้นได้ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 50-75 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารและให้ติดต่อกันเป็นเวลานานมากกว่า 6 เดือน สัตว์จะเริ่มแสดงอาการขนร่วง คอหอยพอก น้ำลายไหล (Jones et al., 1976) ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้งและโปรตีนลดลง อัตราการกินได้และอัตราการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้นการใช้ใบกระถินเป็นอาหารเลี้ยงแพะ ควรเป็นการให้ในรูปแบบของการเสริมอาหารหยาบหรือใช้ในสูตรอาหารไม่เกิน 10-20 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์จากโปรตีนอาหารที่มีแทนนินไม่เพียงแต่มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่า แทนนินมีผลในทางบวกต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง แต่มีหลักฐานบ่งถึงผลในทางลบด้วย ฉะนั้นการใช้ประโยชน์จากแทนนินจะเกิดประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับสมดุลการจัดการด้านอาหาร เช่น การคำนวณพลังงานที่ย่อยได้เร็วและโปรตีนที่ย่อยได้เร็วให้มีความสมดุล เพื่อให้มีการสังเคราะห์จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในระดับสูงสุด แล้วเสริมอาหารจำพวกที่ถูกย่อยในกระเพาะหมัก รวมถึงสารประกอบโปรตีน -แทนนิน จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการที่สัตว์จะนำโภชนะไปใช้ประโยชน์มากที่สุด

2.4 การศึกษาผลของคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่อการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง

2.4.1 ผลของคอนเดนซ์แทนนิน ใน *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* ต่อการย่อยและการดูดซึมกรดอะมิโนที่จำเป็นในแกะ

ตารางที่ 2.1 การเสริม condensed tannins-acting group ในพืช *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* ต่อการย่อยและการดูดซึมกรดอะมิโนที่จำเป็นในแกะ

Items	*Lotus corniculatus*		*Lotus pedunculatus*	
	CT-acting group	CT-not acting group	CT-acting group	CT-not acting group
Rumen ammonia (mgN/l)	367	504	175	460
CT intake (g/day)	98.9	98.9	103.2	116.8
EAA Abomasal flow (g/day)	84.7[a]	55.5[b]	121.1	105.6
Proportion intake	0.86	0.56	1.17	0.9
Apparent absorption from small intestine (g/day)	58.8[a]	36.2[b]	81.4	83.5

หมายเหตุ: CT (คอนเดนซ์แทนนิน) และกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids; EAA)

[a และ b] อักษรที่ต่างกันหมายถึง differ significantly (P<0.05)

ที่มา: Wanghorn, John, Jones, and Shelton, 1987a; Wanghorn, Shelton, McNabb, and McCutcheon, 1994

จากตารางที่ 2.1 การใช้ CT-acting group ในพืช *Lotus corniculatus* เพิ่มการไหลของกรดอะมิโนที่จำเป็นในกระเพาะจริง และการดูดซึมในลำไส้เล็กสูงกว่า CT-not acting group อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนในพืช *Lotus pedunculatus* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

Barry and Manley (1984) ได้ศึกษาพืช *Lotus pedeunculatus* ในสกุล *Nelumbo* ซึ่งมีระดับคอนเดนซ์แทนนินอยู่ระหว่าง 2-4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งในอาหาร พบว่า ระหว่างการเคี้ยวเอื้อง แทนนินและน้ำลายจะรวมตัวกันเป็นสารประกอบโปรตีน-แทนนิน เกิดการป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมัก สอดคล้องกับรายงานของ Norton and Ahn (1997) โดยใช้พืชตระกูล *Calliandra calothysus* 2.5-3.7 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน พบว่าสามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมัก

และยังสามารถเพิ่มระดับของไนโตรเจนในลำไส้เล็ก โดยไม่มีผลกระทบต่อระดับไนโตรเจนที่กักเก็บและหมุนเวียนในร่างกาย

2.4.2 ผลการเลี้ยงแกะโดยใช้ *Lotus corniculatus* หรือ perennial ryegrass/white clover (pasture) และมี polyethylene glycol เป็นตัวกระตุ้นอัตราการตกไข่ ovulation rate (OR)

จากการรวบรวมข้อมูลพบว่า การใช้ *Lotus corniculatus* เป็นอาหารเลี้ยงแกะ ทำให้การเหนี่ยวนำอัตราการตกไข่สูงสุดหลังการให้อาหารครบ 2-3 รอบ (5-7 สัปดาห์) และพบว่าหากมีการเสริม PEG ร่วมด้วยจะทำให้มีอัตราการตกไข่ลดลง จากการทดลองของ Minn, McNabb, Barry, and Peters (1999); Min, Attwood, Reilly, Sun, Peter, Barry and McNbb (2002a); Luque, Barry, McNabb, Kemp, and McDonald (2000) สามารถอธิบายได้ว่า คอนเดนซ์แทนนินใน *Lotus corniculatus* สามารถเพิ่มอัตราการตกไข่ตั้งแต่ 1.40-1.70 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อการผสมติด นอกจากนี้ยังช่วยลดการผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของแกะ แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การใช้คอนเดนซ์แทนนินต่อการสืบพันธุ์ในแกะ

References	n^1	LW[2] (kg)	Ovulation rate			Response to lotus feeding (เปอร์เซ็นต์)[3]
			Pasture + PEG	*L. corniculatus*		
				+ PEG	-PEG	
Minn et al. (1999) (second cycle)	200	54	1.33 [a]	1.56 [b]	1.76 [c]	32.3
Luque et al. (2000) (second cycle)	240	60	1.45 [a]	1.66 [b]	1.64 [b]	13.1
Minn et al. (2002a) (third cycle)	225	51	1.48 [a]	1.66 [b]	1.80 [c]	21.6
Mean	222	55	1.42	1.62	1.73	22.3

หมายเหตุ: 1. number of experimental animal. 2. LW: mean live weight.

3. Calculated as: $\frac{\text{OR lotus (PEG)-OR pasture (-PEG)}}{\text{OR pasture (-PEG)*100}}$

PEG: polyethylene glycol, OR: ovulation rate

[a b และ c] อักษรที่ต่างกันหมายถึง differ significantly (P<0.05)

2.4.3 ผลของแทนนินต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีน (effective degradability of crude protein: EDCP) ในกระเพาะหมัก (*in situ*)

2.4.3.1 แทนนินต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก

González et al. (2002) ศึกษาประเภทแทนนินที่ต่างกันจาก 3 แหล่ง ดังตารางที่ 2.4 และพบว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณแทนนินสูงขึ้น ดังภาพที่ 2.5

ตารางที่ 2.3 การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก

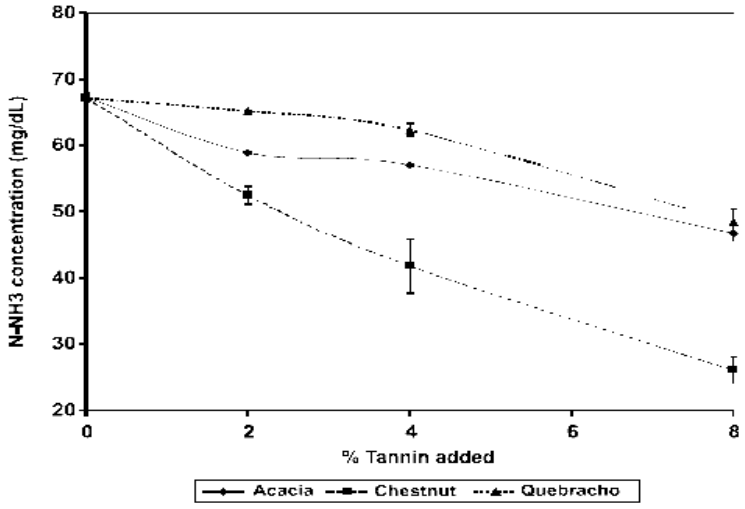
References	Effective degradability of CP (เปอร์เซ็นต์)		Protein sources
	Control	Hydrolysable tannin	
Frutos et al. (2004)	76.4 [a]	66.9 [b]	soybean meal
Poncet and Remond (2002)	90.8	88.7	peanut
Santos et al. (2000)	70.7 [a]	68.5 [b]	alfafla
	67.0 [a]	59.1 [b]	bermudar

หมายเหตุ: [a, b]อักษรที่ต่างกันหมายถึง differ significantly (P<0.01)

ตารางที่ 2.4 ประเภทของแทนนินที่พบใน Acacia, Quebracho และ Chestnut

Items	Tannin sources		
	Acacia	Quebracho	Chestnut
Total phenols (เปอร์เซ็นต์)	33.2	39.3	47.2
คอนเดนซ์แทนนิน A550 (mg)	1.13	0.82	0.05
ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (เปอร์เซ็นต์)	8.2	0	24

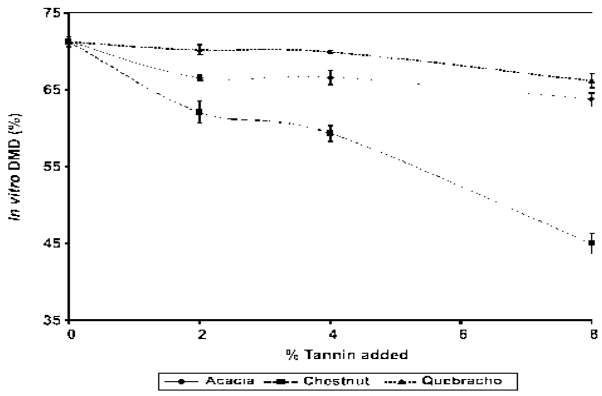
ที่มา: González et al, 2002



ภาพที่ 2.5 การเพิ่มปริมาณไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N)

ที่มา: González et al, 2002

จากการวัดประสิทธิภาพการย่อยสลายวัตถุแห้งของกากถั่วเหลือง (*in vitro*) ที่เสริมแทนนิน พบว่า มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณแทนนินและกลุ่มที่มีไฮโดรไลเซเบิลแทนนินสูงจะลดลงมากกว่าคอนเดนซ์แทนนินทั้ง 2 กลุ่ม ดังภาพที่ 2.6 โดยพบว่าการลดลงต่อหน่วยในกลุ่มที่เสริมไฮโดรไลเซเบิลแทนนินมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2.6 การเพิ่มปริมาณไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อปริมาณความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (dry matter digestibility)

ที่มา: González et al, 2002

2.5 ระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

นิเวศวิทยาจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ประกอบไปด้วยชนิดของแบคทีเรียที่สำคัญหลักอย่างน้อย 30 ชนิด (species) และมีความเข้มข้น 10^{10}-10^{12} เซลล์/มิลลิลิตรของของเหลวในกระเพาะหมัก โดยกลุ่มของแบคทีเรียในกระเพาะหมักมีดังนี้

1. กลุ่มที่ย่อยเซลลูโลส (cellulolytic bacteria) สามารถผลิตน้ำย่อย cellulose ที่สามารถย่อย cellulose ได้ และพบมากที่สุดในกระเพาะหมัก

2. กลุ่มที่ใช้เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose digesting bacteria) โดยทั่วไปแล้วกลุ่มที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจะสามารถใช้ประโยชน์จาก hemicellulose ได้ด้วย โดยจะสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างเหมาะสมถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักอยู่ในช่วง 6.0-7.0

3. แบคทีเรียที่ใช้อะไมโลส (amylolytic bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับอาหารข้นในระดับสูง มีแป้งเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ โดยชนิดที่สำคัญได้แก่ *Bacteriodes amylophillus* มีรูปร่างแบบ rods มีความสามารถในการย่อยแป้งและน้ำตาลมอลโตสได้ แต่ไม่สามารถย่อยเซลลูโลสหรือคาร์โบไฮเดรตอื่นได้เลย (Hamlin and Hungate, 1956)

4. แบคทีเรียที่ใช้กรด (bacteria utilizating acids) มีแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถใช้ประโยชน์จากกรดที่ได้จากการย่อยสลาย ได้แก่ *Selenomas lactilytica* และ *Selenomas ruminantium* (Prins, 1971) สามารถย่อย lactate ไปเป็น propionate, acetate, H_2 และ CO_2

5. แบคทีเรียที่ใช้โปรตีน (proteolytic bacteria) โดยทั่วไปแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งพลังงานพื้นฐาน ไม่มีการสร้างสปอร์ (non-spore forming) พบว่ามีความหนาแน่นของประชากรอยู่ระหว่าง 10^4-10^7 เซลล์/มิลลิลิตรของของเหลวในกระเพาะหมัก และแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะไม่สามารถใช้ประโยชน์จากน้ำตาลได้เลย (Hangate, 1966)

6. แบคทีเรียที่สังเคราะห์แก๊สมีเทน (methanogenic bacteria) เป็นแบคทีเรียที่มีความหนาแน่นน้อย จัดอยู่ในพวกแกรมบวก (gram positive) โดยส่วนใหญ่มีลักษณะรูปร่างแบบ cocci หรือ rods บางชนิดก็เป็นเซลล์เดี่ยวหรือไม่ก็ต่อกันเป็นสายยาว (single or chain) และมักจะเกาะอยู่กับโปรโตซัวเป็นการอาศัยแบบพึ่งพากัน (symbiotic)

7. แบคทีเรียที่ใช้ไขมัน (lipolytic bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายไขมันไปเป็นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมันอิสระได้ (free fatty acid) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า *Veillonella alcalescens* สามารถใช้ประโยชน์จากไขมันได้ (Hangate, 1966)

8. แบคทีเรียที่ใช้น้ำตาล (fermenters of sugar) การย่อยโพลิแซคคาไรด์โดยแบคทีเรียผลผลิตที่ได้เป็นโมโนแซคคาไรด์หรือไดแซคคาไรด์ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าถ้ามีน้ำตาลในปริมาณมาก ๆ จะไปลดการใช้ประโยชน์จากอาหารเยื่อใย ชนิดแบคทีเรียที่พบได้แก่ กลุ่ม

Lactobacillus sp. (Hungate, 1966)

สำหรับโปรโตซัวเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ มีประชากรประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดในกระเพาะหมัก และพบว่ามี 40 ชนิด มีความเข้มข้น 10^5-10^7 เซลล์/มิลลิลิตรของของเหลว ในกระเพาะหมัก ในสภาวะที่สัตว์ได้รับอาหารที่มีความเข้มข้นของโภชนะสูงจะทำให้ค่าความเป็นกรด -ด่างในกระเพาะหมักลดลงส่งผลให้โปรโตซัวเจริญได้ดี (Leng and Nolan, 1984) ซึ่งบทบาทของโปรโตซัวต่อการย่อยสลายอาหารนั้นขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโปรโตซัว เพราะแต่ละกลุ่มจะมีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากอาหารแตกต่างกันไป และโดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรโตซัวจะกินแบคทีเรียเป็นอาหารประมาณ 10^2-10^4 เซลล์/ชั่วโมง (Coleman, 1975) หรือประมาณ 10^8 เซลล์/วัน ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 6 มีผลทำให้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ลดลง (Coleman and Sandford, 1979) โปรโตซัวมีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดา โปรโตซัวส่วนใหญ่เป็นพวก ciliated แต่มีบางสปีชีส์ที่เป็น flagellate Protozoa (Williams, 1988) ซึ่งพบในกระเพาะหมักของสัตว์แรกเกิดเท่านั้น การที่มีโปรโตซัวอยู่ในกระเพาะอาหารมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตช้าลง เพราะโปรโตซัวจะกินแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทำให้แบคทีเรียมีประโยชน์ลดลง

ราในกระเพาะหมักมีความสามารถในการย่อยสลายอาหารเยื่อใย (fibrolytic) จากผนังเซลล์พืช (Akin, Gordon, and Hogan, 1983) รามี 5 จีนัส (genus) โดยมีจำนวนประชากรซูโอสปอร์ประมาณ 10^3-10^4เซลล์/มิลลิลิตรหรือมีความเข้มข้นน้อยกว่า 10^5 เซลล์/มิลลิลิตรของของเหลวในกระเพาะหมัก ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับแบคทีเรียและโปรโตซัว ในการย่อยผนังเซลล์พืชนั้น ราจะเจริญที่ผิวของอาหารบริเวณ sclerenchyma และ vascular (Ho, Abdullah, and Jalaludin, 1988a, 1988b, 1991) จึงสามารถย่อยอาหารหยาบและผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ได้ (Akin et al., 1983; Ho et al., 1988b, 1991)

จุลินทรีย์เหล่านี้จะหลั่งเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีความจำเพาะเพื่อย่อยสลายอาหารที่กินเข้าไป ระบบนิเวศวิทยาที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เหล่านี้คือ สภาพกระเพาะหมักต้องไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) มีระดับความเป็นกรด -ด่างอยู่ในช่วง 6.5-7.0 มีอุณหภูมิเหมาะสมประมาณ 38-40 องศาเซลเซียส และมีกระบวนการหมักอย่างต่อเนื่อง (continuous fermentation process) จุลินทรีย์ที่อาศัยส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) และบางพวกที่ใช้ออกซิเจน (facultative anaerobes) จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักจะต้องมีคุณสมบัติอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน จะต้องสร้าง end products ชนิดใดชนิดหนึ่งที่พบในกระเพาะหมักเท่านั้นและมีปริมาณไม่ต่ำกว่า 1 ล้านเซลล์ต่อกรัม ของ rumen content โดยความถี่และชนิดของอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก Warner (1966) พบว่า จำนวนแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนจากการนับหลังการให้อาหารทุก ๆ 3 ชั่วโมง Leedle, Bryant

and, Hespell (1982) พบว่า จำนวนของแบคทีเรียในกระเพาะหมักต่ำสุดเมื่อทำการนับจากของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid) หลังจากให้อาหาร 2-4 ชั่วโมง และมีจำนวนมากขึ้นเมื่อนับที่ 16 ชั่วโมง หลังจากให้อาหาร (มีการให้อาหาร 1 ครั้ง)

แบคทีเรียนับว่ามีบทบาทและความสำคัญมากกว่าโปรโตซัวและราต่ออัตราและขอบเขตของการย่อยสลายของอาหาร การผลิตกรด VFAs และจุลินทรีย์โปรตีน VFAs จะถูกดูดซึมผ่านผนังของกระเพาะหมักเป็นส่วนใหญ่ (~85 เปอร์เซ็นต์) เพื่อใช้เป็นแหล่งหลักของพลังงาน ส่วนโปรตีนจากจุลินทรีย์ ไขมัน และคาร์โบไฮเดรทของจุลินทรีย์ ตลอดจนส่วนของโภชนะของอาหารที่เหลือจะไหลผ่านออกจากกระเพาะหมักเข้าสู่กระเพาะอาหารส่วนล่าง โดยเฉพาะที่ลำไส้เล็กเพื่อการย่อยสลายและการดูดซึมใช้ในตัวสัตว์ต่อไป (Orpin and Joblin, 1997; Stewart, Flint, and Bryant, 1997; Williams and Coleman, 1997)

แบคทีเรียในกระเพาะหมักสามารถแบ่งตามลักษณะของการเป็นอยู่ในนิเวศวิทยากระเพาะหมักได้ 5 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มแบคทีเรียที่อาศัยอย่างอิสระในของเหลวในกระเพาะหมัก
2. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอย่างหลวม ๆ กับอนุภาคของอาหารในกระเพาะหมัก
3. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอย่างติดแน่น กับอนุภาคของอาหารในกระเพาะหมัก
4. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอยู่กับผนังด้านในของกระเพาะหมัก
5. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดผนังลำตัวของโปรโตซัวและรา (sporangia)

ในสภาวะการให้อาหารปกติ แบคทีเรียในกลุ่มที่ 2 และ 3 จะมีมากที่สุดคือ 75 เปอร์เซ็นต์ และจะสามารถผลิตน้ำย่อยในกระเพาะหมักชนิด endoglucanase (88 เปอร์เซ็นต์) xylanase (91 เปอร์เซ็นต์) amylase (70 เปอร์เซ็นต์) protease (75 เปอร์เซ็นต์) ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่ 1 จะมีประชากรน้อยและผลิตน้ำย่อยได้ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียกลุ่มที่ 4 และ 5 นั้นจะมีประชากรน้อยมากและผลิตน้ำย่อยได้ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ของประชากรทั้งหมด (Minato, Yusuf, Imamura, and Takahash, 1993; Williams and Strachan, 1984) โดยทั่วไปแล้วกระบวนการใช้อาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะต้องอาศัยปัจจัยที่สำคัญหลายอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งมีความสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ เพื่อทำการย่อยสลายอาหารประเภทพลังงาน ทั้งที่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (structural carbohydrate, SC) และคาร์โบไฮเดรตไม่เป็นโครงสร้าง (non-structural carbohydrate, NSC) (เมธา วรรณพัฒน์, 2533) เพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญและมีประโยชน์ต่อตัวสัตว์ คือ กรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids, VFA) ที่สำคัญได้แก่ กรดอะซีติก (acetic acid, C_2), กรดโพรพิออนิก (propionic acid, C_3), กรดบิวทีริก (butyric acid, C_4) และกลุ่มที่พบบ้างเล็กน้อยได้แก่ กรดไอโซบิวทีริก (iso-butyric acid, iso-C_4),

กรดไอโซวาเลริก (iso-valeric acid, iso-C_5) และกรดวาเลริก (valeric acid, C_5) ซึ่งกรดไขมันที่ระเหยได้เหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง ที่จะนำไปใช้ในการดำรงชีวิตและการให้ผลผลิตเนื้อและนมต่อไป (ฉลอง วชิราภากร, 2541)

นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในกระเพาะหมักยังสามารถใช้ประโยชน์จากแหล่งโปรตีนต่าง ๆ โดยเฉพาะสามารถใช้ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนแท้ (non-protein nitrogen, NPN) ซึ่งจุลินทรีย์จะทำงานได้ดีถ้าสภาพภายในกระเพาะหมักมีความเป็นกรด -ด่าง (rumen pH) ที่เหมาะสม คืออยู่ในช่วง 6.5-7.0 ทั้งแบคทีเรีย โปรโตซัว และรา สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วและเหมาะสมต่อการย่อยอาหาร (Czerkawawski, 1986) จากการรายงานของ Satter and Slyter (1974) พบว่า นอกจากค่าความเป็นกรด -ด่างในกระเพาะหมักที่เหมาะสมแล้วระดับแอมโมเนียไนโตรเจนก็มีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งระดับที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 4-5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ส่วน Boniface, Murray, and Hogan (1986); Perdok and Leng (1990); Song and Kennellly (1990); Wanapat and Pimpa (1999) พบว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 15-20 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ที่จะก่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลายและกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ที่เหมาะสมด้วย โดย Perdok and Leng (1990) พบว่า เมื่อระดับแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 15-30 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ทำให้ปริมาณการกินได้และประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารเพิ่มขึ้น และหากระดับแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มสูงถึง 30 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการลดลงของสัดส่วนระหว่าง C_2+C_4/C_3 จำนวนประชากรซูโอสปอร์เพิ่มขึ้น และยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์จาก 17 เป็น 47 เปอร์เซ็นต์ (Kanjanapruthipong and Leng, 1998) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอมโมเนียไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก พบว่า มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของประชากรจุลินทรีย์ตลอดจนปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการย่อยได้ ประสิทธิภาพการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ และยังก่อให้เกิดความสมดุลระหว่างพลังงานกับโปรตีนด้วย

2.5.1 กระเพาะหมักทำหน้าที่เป็นอ่างหมัก และปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทำงานของกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

กระเพาะหมักมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญในการเกิดกระบวนการหมักอาหารเพื่อสังเคราะห์ผลผลิตสุดท้ายให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายและการให้ผลผลิตต่าง ๆ ดังนั้นกระเพาะหมักจะต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ไม่ว่าจะเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก และความเข้มข้นของ NH_3-N จะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว และรา โดยผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญที่ได้จากกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยได้, แอมโมเนียไนโตรเจน , โปรตีนจากจุลินทรีย์ กรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ อะซิเตท โพรพิออเนท และบิวทีเรท เป็นแหล่งของ

สารตั้งต้นที่สำคัญที่ร่างกายสัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อสังเคราะห์พลังงานในรูปกลูโคสโดยอาศัยกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีส (gluconeogenesis) และกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป ในขณะที่แอมโมเนียไนโตรเจนนับเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ เพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการดูดซึมสารประกอบเหล่านี้จากกระเพาะหมักเพื่อไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ ชนิดของอาหาร ตลอดจนสัดส่วนระหว่างอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่สัตว์ได้รับ พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์และรูปแบบของกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ในเขตร้อนและเขตอบอุ่นจะมีความแตกต่างกันมากในเรื่องของคุณภาพส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและกระบวนการหมักโภชนะต่าง ๆ ด้วย มากไปกว่านั้นระบบการจัดการในด้านการให้อาหารสัตว์ที่แตกต่างกันยังมีผลต่อการพัฒนาการของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักด้วย ในเขตอบอุ่นส่วนใหญ่สัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารข้นในระดับสูงซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสภาวะความเป็นกรด -ด่างเป็นกรดมากยิ่งขึ้น อาจเกิดภาวะแอซิโดซีส (rumen acidosis) ได้ (Slyter, 1976) ซึ่งกรดไขมันที่ระเหยได้มีส่วนในการทำให้ความเป็นกรด-ด่างลดลง แต่กรดแลคติกจะมีผลต่อความเป็นกรดในกระเพาะหมักมากกว่า (Burring and Britton, 1986) ซึ่งปัจจัยจากชนิดอาหารที่สัตว์ได้รับนั้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด -ด่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นจะส่งผลต่อปริมาณการหลั่งน้ำลายและการเคี้ยวเอื้องของสัตว์ รวมทั้งการสังเคราะห์ TVFAs และจำนวนประชากรจุลินทรีย์ด้วย (Erfle, Boila, Teather, Mahadevan, and Sauer, 1982) นอกจากนี้ Van Vessel and Russell (1996) และ Lana, Russell, and Van Amburgh (1998) รายงานว่าในแกะที่ได้รับ Timothy hay ในระดับต่ำมีผลทำให้ความเป็นกรด -ด่างลดลงจากระดับ 6.5 เป็น 5.7 และการสังเคราะห์ TVFAs, อะซิเตท โพรพิออเนท บิวทีเรท และการสังเคราะห์แก๊สมีเทน (CH_4) รวมทั้งประสิทธิภาพการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ก็แตกต่างกันไป สำหรับแกะที่ได้รับเฮย์เป็นอาหารเพียงอย่างเดียว พบว่า มีความเข้มข้นของ TVFAs เท่ากับ 78 mM และสัดส่วน C_2, C_3 และ C_4 มีค่าเท่ากับ 59, 13, 6 mM ตามลำดับ สภาวะความเป็นกรด -ด่างในกระเพาะหมักเท่ากับ 6.5 และความเข้มข้นของ NH_3-N เท่ากับ 8 μM ซึ่งสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่เหมาะสม คือ 60 : 40

2.5.2 การปรับเปลี่ยนการใช้ประโยชน์ของอาหารโดยจุลินทรีย์และระบบการหมักของพืชอาหารสัตว์ในกระเพาะหมัก

แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีวิวัฒนาการและพัฒนาการที่มีความเฉพาะตัว ในการที่มีระบบการหมักของพืชอาหารสัตว์ในกระเพาะหมัก โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัวและรา ภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน อุณหภูมิและ ความเป็นกรด -ด่างที่เหมาะสม ซึ่งจะผลิตผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญให้กับสัตว์คือ กรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids, VFAs)

โปรตีนจากจุลินทรีย์และไวตามินรวม โดยพื้นฐานจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะไม่มีความต้องการใช้ประโยชน์จากเปปไทด์ สามารถใช้จากอาหารหยาบคุณภาพต่ำที่มีโปรตีนต่ำได้ดี ซึ่งอาหารเหล่านี้ทั้งมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนั้นแล้วสัตว์เคี้ยวเอื้องยังสามารถลดพิษจากสารพิษในอาหาร (phytotoxins) โดยอาศัยกลไกการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก กระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายและการให้ผลผลิตต่าง ๆ และจากรายงานของ Cunningham (1990) หากสามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ โดยหลักการจุลินทรีย์วิทยาโมเลกุลในกระบวนการหมัก (rumen microbial molecular) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักและความสามารถในการลดสารพิษในพืชอาหารสัตว์ ในการผลิตอาหารโปรตีนจากสัตว์ทั้งในรูปเนื้อและน้ำนมที่มีคุณภาพต่อไป ดังนั้นกระเพาะหมักจะต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก และความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนจะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์โดยผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญที่ได้จากกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยได้ แอมโมเนียไนโตรเจน โปรตีนจากจุลินทรีย์ กรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ อะซิเตท โพรพิออเนท และบิวทีเรท เป็นแหล่งของสารตั้งต้นที่สำคัญที่ร่างกายสัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อสังเคราะห์พลังงานในรูปกลูโคสโดยอาศัยกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีสและกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป นอกจากนี้กรดไขมันเหล่านี้ยังเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการนำไปสังเคราะห์เป็นน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม เช่น ไขมัน น้ำตาลแลคโตส เป็นต้น ขณะที่แอมโมเนียไนโตรเจนนับว่าเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ เพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนหลักที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการดูดซึมสารประกอบเหล่านี้จากกระเพาะหมักเพื่อไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ ชนิดของอาหาร คุณภาพของอาหาร ตลอดจนสัดส่วนระหว่างอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่สัตว์ได้รับ พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์และรูปแบบของกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ในเขตร้อนจะมีความแตกต่างกันมากในเรื่องของคุณภาพส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและกระบวนการหมักโภชนะต่าง ๆ และส่งผลถึงปริมาณและคุณภาพของผลผลิตในที่สุด

2.5.3 การปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักโดยกลยุทธ์การเสริมอาหารในท้องถิ่น

สัตว์เคี้ยวเอื้องโดยทั่วไปในเขตร้อนได้รับอาหารหยาบที่มีคุณภาพต่ำและผลพลอยได้ทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟางข้าว (Wanapat, 1985; Doyle, Devendra, and Pearce, 1986; Devendra, 1992; Wanapat, 1990, 1999) โดย Preston and Leng (1984) พยายามที่จะนำแหล่งวัตถุดิบเหล่านี้มาใช้ในระบบการผลิตสัตว์ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการผลิต Leng (1999) กล่าวว่า กลยุทธ์ที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมขึ้นอยู่กับการนำใช้วัตถุดิบที่มีอยู่ภายในท้องถิ่น

และเกษตรกรรายย่อยสามารถนำมาใช้ได้ ซึ่งสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลักมีผลทำให้สัดส่วนโปรตีนและพลังงาน (P/E) มีค่าต่ำ การเสริมด้วยวัตถุดิบอาหารที่มีในท้องถิ่น เช่น มันเส้นและกากเมล็ดฝ้ายร่วมกับการให้ฟางข้าว พบว่าทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์และสัดส่วนโปรตีนต่อพลังงาน (P/E) เพิ่มขึ้น ดังนั้นกลยุทธ์ในการปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยากระเพาะหมักจึงเป็นเรื่องที่สำคัญ โดยการเสริมอาหารก้อนที่มีองค์ประกอบของกากน้ำตาลและยูเรียก็เป็นอีกกลยุทธ์หนึ่งที่มีการนำใช้ในเขตร้อน ปัจจุบันยังค้นพบว่าในโคที่ได้รับอาหารหยาบที่มีไนโตรเจนและการย่อยได้ต่ำ ปริมาณความเข้มข้นแอมโมเนียในกระเพาะหมักขั้นต่ำที่ทำให้โคกินอาหารได้เพียงพอควรอยู่ที่ระดับ 200 มิลลิกรัมแอมโมเนียไนโตรเจน (Krebs and Leng, 1984; Boniface et al., 1986; Perdok, Leng, Bird, Habib, and Van houtert, 1988) ดังนั้นการเสริมยูเรียในสัตว์ที่กินอาหารที่มีคุณภาพต่ำ (โปรตีนและการย่อยได้ต่ำ) จะเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักเพิ่มการย่อยได้ของอาหารหยาบและเพิ่มการกินได้ (Krebs and Leng, 1984; Boniface et al., 1986; Perdok et al., 1988) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมัก รวมถึงการใช้ non-protein nitrogen (NPN) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก ตลอดจนการสังเคราะห์ VFAs เพื่อเป็นการเพิ่มสัดส่วน P/E ในระดับที่เหมาะสม มากไปกว่านั้นสามารถลดปริมาณการใช้อาหารข้นเสริมได้ (Kunju, 1986) จากการศึกษาร่วมกันกับเกษตรกรในเขตศูนย์รวมนม 6 แห่งในเขตภาคอีสานของประเทศไทย โดยเสริมอาหารก้อนคุณภาพสูงร่วมกับการใช้วัตถุดิบในท้องถิ่น มีผลทำให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (Wanapat, Petum, and Pimpa, 1999) อย่างไรก็ตาม นักวิจัยจำนวนหนึ่งทำการศึกษาวิจัยการใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังและผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์ พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ โดยสามารถใช้ได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น โคเนื้อ โคนม แพะ แกะ สุกร เป็ด ไก่ และปลา (ฉลอง วชิราภากร , เมธา วรรณพัฒน์ , นิโรจน์ ศรสูงเนิน และสุรชัย โค้วเจริญ, 2542; จีรชัย กาญจนพฤฒิพงศ์, อุทัย คันโธ , สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ วิไลลักษณ์ ชาวอุทัย, 2542) ซึ่งสามารถลดต้นทุนการผลิตได้โดยใช้ทดแทนวัตถุดิบอาหารแหล่งพลังงานที่มีราคาแพงกว่า เช่น ข้าวโพด ปลายข้าว หรือพลังงานจากแหล่งอื่น แต่สำหรับการใช้ในวงกว้างทั่ว ๆ ไปยังการใช้เพียงปริมาณน้อยเท่านั้น จึงจำเป็นยิ่งที่จะส่งเสริมให้เกิดการใช้เพิ่มขึ้น เพื่อพยุงราคามันสำปะหลังและเพิ่มมูลค่ากับผลผลิตจากการนำไปใช้เลี้ยงสัตว์

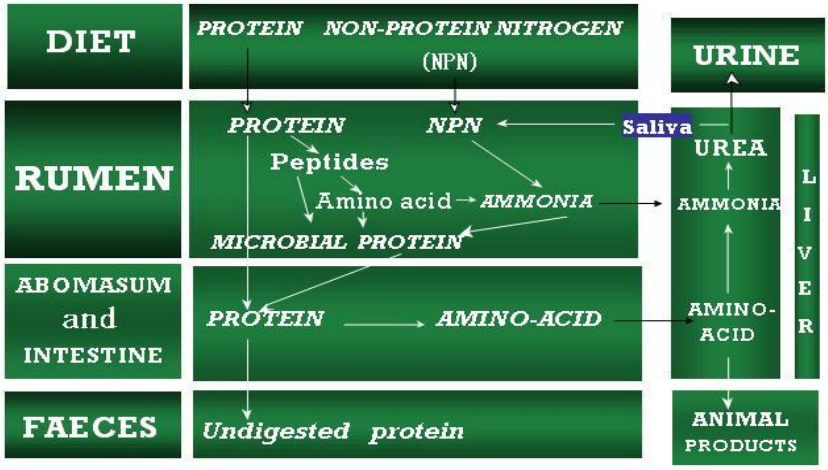
2.6 อาหารโปรตีนสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โปรตีนถือเป็นโภชนะที่มีความสำคัญสำหรับสัตวเคี้ยวเอื้อง ร่างกายมีความต้องการโปรตีนในแต่ละวันปริมาณมาก เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารและเซลล์ต่างๆ เช่น สมอง กล้ามเนื้อ เอนไซม์ ฮอร์โมน การเจริญเติบโต (growth) การให้ผลผลิต (production) การสืบพันธุ์

(reproduction) และการดำรงชีพ (maintenance) (NRC, 2001) นอกเหนือจากแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ ที่สัตว์จำเป็นต้องได้รับอย่างครบถ้วน เพื่อทำให้ metabolism และ biochemical reaction ในร่างกายเป็นไปตามปกติ (McDowell, 1992) ในการให้อาหารสัตว์ควรมีการจัดการให้ปริมาณโปรตีนเพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากโภชนะ ของโปรตีนสามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อตัวสัตว์ แต่สัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถเปลี่ยน สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen; NPN) ไปเป็นโปรตีน โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้ ไนโตรเจนที่อยู่ในอาหารจะอยู่ในรูปที่แตกต่างกัน ส่วนหนึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ประกอบกันเป็นโปรตีนแท้ (true protein) และอีกส่วนหนึ่งเป็น NPN สารประกอบไนโตรเจนบางพวกมีความแตกต่างกันทั้งความสามารถในการละลาย (solubility) และส่วนประกอบของกรดอะมิโน ส่วน NPN นั้นมีอยู่หลายชนิด เช่น amides, amines, ammonium salt, nitrate, nitrite, urea และ biuret ปริมาณของ NPN ที่มีอยู่ในอาหารสัตว์นั้นมีค่าตั้งแต่ 4-5 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนทั้งหมดในเมล็ดธัญพืช จนถึง 60-75 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมดในอาหารหยาบหมัก

โปรตีนในพืชจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบในใบพืช (leaf protein) และโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบในเมล็ดพืช (seed protein) ในพืชอาหารสัตว์จะประกอบด้วย true protein ประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมด เช่นเดียวกับเมล็ดพืช (Lyttleton, 1973) ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ของ leaf protein ทั้งหมดจะพบในส่วนของ chloroplasts (Mangan, 1982) โปรตีนในใบพืชประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ ส่วนอีก 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถละลายได้ ฉะนั้นทั้งในใบพืชและเมล็ดพืชประกอบด้วย NPN ประมาณ 15-25 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนหยาบทั้งหมดในอาหารสัตว์วิเคราะห์ได้โดย Kjeldahl Method ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะแสดงปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารส่วนประกอบ NPN จะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอายุ ชนิด สายพันธุ์ การให้ปุ๋ย อุณหภูมิ ความเข้มของแสงแดด ระยะความยาวของแสง และปริมาณการให้น้ำ (Hegarty and Peterson, 1973) ในช่วงระยะปี พ.ศ. 2513 เป็นต้นมาได้มีการคำนึงถึงการสลายตัวของโปรตีนในกระเพาะหมัก ซึ่งจะมีอัตราการสลายตัวแตกต่างกัน จนได้มีระบบจำแนกการคิดออกเป็น RDP หมายถึง ส่วนของอาหารโปรตีนที่มีการละลายได้ในกระเพาะอาหารส่วนหน้าหรือละลายได้ในส่วนกระเพาะหมัก และ RUP คือส่วนของอาหารโปรตีนที่ไม่ละลายได้ในกระเพาะอาหารส่วนหน้าหรือไม่ละลายได้ในส่วนกระเพาะหมักแต่มีการไหลผ่านไปย่อยสลายได้ในลำไส้เล็กตอนต้น อย่างไรก็ตามส่วนของโปรตีนจริงที่เคลื่อนตัวไปย่อยสลายที่ลำไส้เล็กส่วนต้นนั้น เรียกว่า metabolizable protein (MP) ซึ่งประกอบด้วย RUP โปรตีน จากจุลินทรีย์ (microbial crude protein, MCP) และส่วนเนื้อเยื่อภายในที่เกิดการหลุดลอก (endogenous crude protein, ECP) MP จึงหมายถึง ส่วนของโปรตีนที่มีการย่อยสลายในลำไส้เล็กโดยอาศัยเอนไซม์ต่าง ๆ ได้เป็นองค์ประกอบที่เล็กที่สุด คือ กรดอะมิโนจะได้รับการดูดซึมผ่านผนังเซลล์ของ

ลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบเลือดเพื่อร่างกายนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ในร่างกายต่อไป



ภาพที่ 2.7 การย่อยสลายอาหารโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง
ที่มา: วิศิษฐิพร สุขสมบัติ, 2538

2.6.1 การนำกลับของ Nitrogen เข้าสู่กระเพาะหมัก (N-Recycling)

ไนโตรเจนในรูปของยูเรียสามารถผ่านกลับเข้าสู่กระเพาะหมักได้โดยทางน้ำลาย ปัจจุบันยังพบว่า ยูเรียสามารถหมุนเวียนกลับเข้าสู่กระเพาะหมักได้โดยผ่าน rumen wall ตามกระบวนการ diffusion ซึ่งการนำกลับของยูเรียเข้าสู่กระเพาะหมักนี้จะเป็นการช่วยให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากไนโตรเจนได้เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะช่วงที่สัตว์ได้รับอาหารที่มีไนโตรเจนต่ำหรืออยู่ในระยะที่อดอาหาร ประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมดที่สัตว์ได้รับจะถูกนำกลับเข้าสู่กระเพาะหมักโดยผ่านทางน้ำลายและ rumen wall โดยกระบวนการใช้ NPN ในกระเพาะหมักนั้นแอมโมเนียจะเป็นตัวที่ทำหน้าที่ในปฏิกิริยาของการใช้ NPN ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ถ้าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักไม่สามารถที่จะย่อยสลายสารประกอบ NPN ให้ได้แอมโมเนียที่อยู่ในรูปอิสระ สารประกอบนั้นจะไม่มีประโยชน์ในการใช้เป็นแหล่ง N การใช้สารประกอบ NPN อื่น ๆ จะคล้ายกับกระบวนการใช้ยูเรีย

2.6.2 Metabolism of Absorbed N

Dietary N จะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักได้แอมโมเนียและ organic acids ปริมาณของไนโตรเจนที่ถูกย่อยสลาย (degraded N) จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายได้ ระดับของปริมาณอาหารที่กินได้และสรีรวิทยาอื่น ๆ แอมโมเนียที่ไม่ถูกนำไปใช้สังเคราะห์โปรตีนจาก

จุลินทรีย์จะถูกดูดซึมผ่าน rumen wall หรือ intestinal wall โดยการขนถ่ายผ่าน portal vein ไปยังตับ ซึ่งกรดอะมิโนจะถูกดูดซึมในกระเพาะหมักน้อยมาก ส่วนโปรตีนในอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก โปรตีนจากจุลินทรีย์และโปรตีนจากเนื้อเยื่อที่หมดอายุ จะผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่าง และจะถูกย่อยโดยน้ำย่อยจากกระเพาะจริงและลำไส้ได้เป็นกรดอะมิโนและ nucleic acids กรดเหล่านี้จะถูกดูดซึมผ่าน intestinal wall เข้าสู่ร่างกายสัตว์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

2.6.3 ความต้องการโภชนะโปรตีนในแพะเนื้อ

แพะเนื้อมีความต้องการโปรตีนรองลงมาจากพลังงานโดยมีหน้าที่สำคัญ ๆ เช่น เป็นส่วนประกอบของเม็ดเลือด เอนไซม์ ส่วนประกอบของกรดอะมิโนหลายชนิด โดยในแพะเนื้อที่โตมากแล้วสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนได้เองจากการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหาร ประกอบด้วยความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพ นอกเหนือจากจะได้รับพลังงานอย่างเพียงพอแล้วยังจำเป็นที่จะต้องได้รับโปรตีนเพื่อซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอและชดเชยเอนไซม์และฮอร์โมนที่สูญเสียไป ซึ่งความต้องการโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตนั้นเกิดจากการเพิ่มขนาดของกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ส่วนความต้องการโปรตีนเพื่อการสืบพันธุ์ เพื่อการเจริญของลูกอ่อนในท้อง ปริมาณความต้องการสูงสุดเมื่อสัตว์ตั้งท้องได้ 2 ใน 3 ของระยะเวลาที่ตั้งท้องและความต้องการโปรตีนเพื่อการผลิตเนื้อหรือน้ำนม แพะเนื้อใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพมาก ซึ่งโปรตีนที่ให้ต้องได้ทั้งปริมาณและคุณภาพที่เพียงพอ โดยพบว่า ในสัตว์เคี้ยวเอื้องด้วยกันอย่างโคนมมีความต้องการโปรตีนเพิ่มจากที่ใช้ในการดำรงชีพเพียง 1.25 กิโลกรัมต่อ 1 กิโลกรัมน้ำนม

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วยการศึกษาเบื้องต้น คือ เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนะของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา และศึกษาความสามารถในการย่อยได้ ในกระเพาะหมักในแพะเจาะกระเพาะ และการย่อยได้ในลำไส้เล็ก ของอาหารข้นทดลองที่มี ใบรวม ก้านสะเดา เป็นองค์ประกอบ รวมถึง วิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดาดัดแปลงจาก (Horigome, Kumar, and Okamoto, 1988; Jackson, Barry, Lascano, and Palmer, 1996; Perez-Maldonado and Norton, 1996) ซึ่งในแต่ละการทดลองมีวิธีดำเนินการวิจัยผันแปรตามวัตถุประสงค์ของแต่ละการทดลอง โดยรายละเอียดวิธีการดำเนินการวิจัยจะระบุไว้ในแต่ละการทดลองตามขั้นตอนต่าง ๆ การศึกษาการทดลองย่อย 1 การทดลอง กล่าวคือ การศึกษาถึงผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต ประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักและจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะเนื้อ

3.1 การศึกษาเบื้องต้น

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะและการย่อยได้ในลำไส้เล็กของ อาหารข้นทดลอง กลุ่มควบคุมกับ กลุ่มที่มีใบรวมก้านสะเดาเป็นองค์ประกอบ และวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

3.1.1 การสุ่ม เก็บ ตัวอย่างใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดา บริเวณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.2 การ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.1.3 การ ศึกษาความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะ

3.1.4 การ ศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กด้วยเทคนิค Three-step *in vitro* procedure

3.1.5 การ วิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

3.2 การทดลองที่ 1

การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต และประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อ และจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะเนื้อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (อาหารข้นโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ ที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ) โดยมีวิธีการดังนี้คือ

3.2.1 นำใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดาโดยตัดต่ำจากยอดลงมา 30 เซนติเมตร ทำการอบแห้ง ให้มีปริมาณเพียงพอก่อนนำมาผสมเป็นสูตรอาหาร เพื่อใช้สำหรับเลี้ยงแพะเนื้อที่ใช้ในการทดลอง

3.2.2 บันทึกประสิทธิภาพการเจริญเติบโต (performance) เช่น น้ำหนักตัว (body weight) การกินได้ (feed intake) และคำนวณอัตราการเจริญเติบโต (average daily gain, ADG) สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี สุ่มเก็บตัวอย่างมูลเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและนำไปคำนวณความสามารถในการย่อยได้ และตรวจนับ จำนวนไข่พยาธิตัวกลม ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน

3.2.3 เก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อ (collection of rumen fluid samples) โดยใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างสุ่มดูดของเหลวดังกล่าว โดยจะเก็บชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ตามลำดับ หลังกินอาหารมื้อเช้า

3.2.4 นำของเหลวในแต่ละชั่วโมงไปศึกษาดูการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ (ประชากรแบคทีเรียและโปรโตซัว) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน กรดไขมันระเหยได้และไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN) โดยทำการศึกษาทุกช่วงการทดลอง

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อาคารเครื่องมือ 1 และอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.4 ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2549 ถึง 30 มกราคม 2551

บทที่ 4
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการย่อยได้ในแพะเจาะกระเพาะและการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารทดลองที่มีใบรวมก้านสะเดาเป็นองค์ประกอบ รวมถึงการวิเคราะห์การแยกปริมาณแทนนินในใบรวมก้านสะเดา

4.1 คำนำ

วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำมาใช้ในการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นมีมากมาย อาทิ มันสำปะหลังตากแห้ง ข้าวโพด รำข้าว รำละเอียด กากเมล็ดพืชน้ำมัน และอื่น ๆ วัตถุดิบทางอาหารสัตว์เหล่านี้มีองค์ประกอบทางเคมี ความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักและลำไส้เล็กแตกต่างกัน ขณะที่วัตถุดิบอาหารสัตว์หลายชนิดมีการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการย่อย ได้ในกระเพาะหมักอย่างกว้างขวาง สะเดาที่มีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพรไทยและพืชโปรตีนท้องถิ่นกลับยังมีการศึกษาน้อยมาก โดยเฉพาะการนำใบรวมก้านสะเดามาเป็นส่วนประกอบอาหารแพะเนื้อในประเทศไทย การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงต้องการศึกษาถึงองค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีในใบรวมก้านสะเดาและความสามารถในการย่อยได้ ในกระเพาะหมักในแพะเจาะกระเพาะ และการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองที่มี ใบรวมก้านสะเดา เป็นองค์ประกอบ รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา และศึกษาความสามารถในการย่อยได้ของสูตรอาหารข้นทดลองในแพะเจาะกระเพาะ และการย่อยได้ในลำไส้เล็ก รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ

4.3.1 การสุ่มเก็บตัวอย่างใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา โดยตัดต่ำจากยอดลงมา 30 เซนติเมตร แล้วนำมาอบแห้งด้วยเครื่อง hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง (AOAC, 1990) นำตัวอย่างใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวม

ก้านสะเดาสด ที่ผ่านการอบ มาทำการบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้เก็บในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทำการบดสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร คือ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นทดลองที่ใช้ใบรวมก้านสะเดา 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มิลลิเมตร เพื่อศึกษาการความสามารถในการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก

4.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยนำตัวอย่างใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดาสด มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (proximate analysis) โดยวิเคราะห์ดังต่อไปนี้ คือ วัตถุแห้งโดยเครื่อง hot air oven โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyzer ไขมัน (ether extract) โดยเครื่อง Soxhlet auto analyzer เถ้า (ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์เยื่อใยโดย Detergent analysis (Goering and Van Soest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสาร ฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสาร ฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF)

4.3.3 การศึกษาความสามารถใน การย่อยได้ในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะ นำตัวอย่างอาหารข้น ทดลองทั้ง 4 สูตรที่บดเก็บไว้ในข้อ 4.3.1 มาศึกษาความสามารถใน การย่อยได้โดยใช้ถุงไนล่อนบ่มในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพา ะ (rumen degradability หรือ *in sacco* digestibility) (Ørskov, Deb Hovell and Mould, 1980)

โดยนำตัวอย่างอาหารข้น ทดลองทั้ง 4 สูตรที่บดไว้ และถุงไนล่อนที่มีรูพรุน (pore size) ขนาด 45 μm อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้น หลังจากนั้นนำถุงมาชั่งน้ำหนักพร้อมกับชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหารที่บดผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มิลลิเมตร ใส่ลงในถุงไนล่อนประมาณ 5 กรัม ทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักไว้แล้ว แล้วผูกปากถุง หลังจากนั้นนำถุงอาหารมาสอดเข้ากับสายยางที่ได้เจาะรูร้อยเชือกยาวประมาณ 30 เซนติเมตร และนำไปบ่มในกระเพาะหมักของแพะเจาะกระเพาะในส่วนที่ลึกที่สุดของกระเพาะ โดย บ่มในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ บ่มอาหารทั้ง 4 สูตรไว้ที่ 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยใช้แพะเจาะกระเพาะหมัก 3 ตัว และโดยแพะแต่ละตัวมีถุงไนล่อน 2 ซ้ำ คือมีถุงไนล่อน 8 ถุงต่อแพะ 1 ตัว แพะเจาะกระเพาะเป็นแพะเพศ เมียลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน น้ำหนักประมาณ 20±1.0 กก. แพะแต่ละตัวเจาะกระเพาะหมัก ใส่ท่อแบบถาวร ได้รับข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ และอาหารข้นสำเร็จรูปมีโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 400 กรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำให้กินตลอดเวลา เมื่อบ่มถุงไนล่อนในกระเพาะหมักแพะได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำถุงทั้งหมดออกจากกระเพาะหมัก ล้างด้วยน้ำประปา เพื่อล้างของเหลวจากกระเพาะหมักออกจากส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลาย หลังจากนั้นนำถุงไนล่อนไปแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ จนกระทั่งได้

ตัวอย่างครบทุกชั่วโมง นำถุงไนล่อนมาล้างจนสะอาดอีกครั้ง ก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง และนำไปชั่งเพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง และนำอาหารที่เหลือจากการย่อยสลายในแต่ละถุงไนล่อนไปวิเคราะห์หาโปรตีนหยาบ โดยเครื่อง Kjeltec นำค่าสัดส่วนโปรตีนที่สูญหายไปในระยะเวลาต่าง ๆ ที่นำถุงออกจากกระเพาะหมัก มาคำนวณหาอัตราการย่อยสลายของวัตถุดิบในกระเพาะหมัก

การคำนวณค่าปริมาณการย่อยสลายของโปรตีนที่ทิ้งไว้ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ มาคำนวณอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY EXCEL (Chen, 1996) ตามสมการดังนี้

$$\text{Potential dg} = a + b(1-\exp^{-ct})$$

เมื่อ Potential dg = ปริมาณที่ถูกย่อยสลายเมื่อเวลา t

c = อัตราการย่อยสลายไนโตรเจน

$$\text{Effective dg} = a + \frac{bc}{(c + k)}$$

dg = Effective of degradability

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

b = potentially degraded N, other than water soluble N

c = fraction rate of degradation of feed N per hour

k = fraction outflow rate of digesta per hour

จากสมการจะสามารถคำนวณค่า potential rumen degradability ได้จาก a + b โดยค่า a เป็นค่าไนโตรเจนที่หายไปที่เวลา 0 ชั่วโมง วัดได้จากการล้างถุงในน้ำเย็นธรรมดา ส่วน b เป็นค่าที่วัดได้จากส่วนของไนโตรเจนในอาหารที่หายไปที่หายไปจากถุงไนล่อนที่จุ่มแช่ในกระเพาะหมักเป็นระยะเวลาต่าง ๆ จนถึง 72 ชั่วโมง ซึ่งโดยทั่วไปแล้วค่า a + b และต้องไม่เกิน 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้านำ fractional outflow rate ของ digests ที่ไหลผ่านกระเพาะหมักมาพิจารณาด้วย และคำนวณโดยสมการ dg=a+bc/(c+k) นี้ ค่าที่คำนวณได้จะเรียกว่า effective rumen degradability ส่วนค่า k จะขึ้นอยู่กับระดับการกินอาหาร (level of feed intake) ของสัตว์ กล่าวคือ ถ้าสัตว์กินอาหารได้มาก k จะมากด้วย อย่างไรก็ตามในกรณีที่สัตว์ได้รับอาหารผสมระหว่างอาหารข้นและอาหารหยาบและได้รับระดับ maintenance ค่า k ที่ใช้ควรเป็น 0.046/hr หรือ 0.05/hr (Ørskov and McDonald, 1979) แต่ถ้าเป็นสัตว์ที่ได้รับอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) 0.08/hr. เมื่อคำนวณได้ค่า dg แล้วสามารถนำไปประมาณค่าโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักได้ และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก ซึ่งสามารถนำไปใช้คำนวณความต้องการโปรตีนได้ต่อไป

อย่างไรก็ดีการเปรียบเทียบชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้ในการ คำนวณอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักค่อนข้างซับซ้อน ฉะนั้นในการศึกษาถึงการย่อยสลายของอาหาร เพื่อหวังผลการนำไปใช้ในสัตว์ชนิดใดก็ควรใช้สัตว์ชนิดนั้นในการศึกษา และพยายามควบคุมปัจจัยอื่น ๆ ให้เป็นไปตามระเบียบวิธีการศึกษาชนิดของสัตว์ทดลอง (animal species) Siddons and Paradine (1983) พบว่า rumen degradability *in sacco* ในแกะจะมีค่าสูงกว่าในโคเนื้อ เมื่อได้รับหญ้าแห้งและหญ้าแห้งเสริมด้วยอาหารข้น Garnsworthy and Brown (1984) พบว่า degradability ในแกะมีค่าสูงกว่าโคนมเช่นเดียวกัน เมื่อสัตว์ได้รับหญ้าแห้งเสริมด้วยอาหารข้นที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนผสม แต่ถ้าใช้ข้าวโพดแทนข้าวบาร์เลย์ ค่า degradability ระหว่างแกะกับโคนมจะไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Prigge, Fox, Jacquemet and Russell (1993) ไม่พบความแตกต่างของ degradability ระหว่างกับโคเนื้อที่ได้รับอาหารหยาบ สำหรับปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการหาค่าการย่อยสลาย นอกเหนือปัจจัยต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่อาจมีผลต่อค่าที่หาได้ เช่น การเกาะตัวของจุลินทรีย์บนอนุภาคอาหารที่ไม่ถูกย่อยบนถุงและในถุง (microbial colonization of bag residue) เช่นเดียวกับการหา degradability ของอาหารชนิดใดชนิดหนึ่ง สัตว์ทดลองที่ใช้ควรได้รับอาหารชนิดนั้น ๆ แต่ในแง่ปฏิบัติเป็นไปได้ยาก ฉะนั้นในเชิงปฏิบัติควรประกอบสูตรอาหารสำหรับใช้ทดลองให้ประกอบด้วยชนิดของวัตถุดิบต่าง ๆ ที่จะทำให้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเจริญเติบโตและรักษาสมดุลอยู่ได้ อาหารสำหรับสัตว์ทดลองที่ใช้หา degradability ควรอยู่ในระดับ maintenance requirement (Lindberg, 1985) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอาหารสัตว์ทดลอง จำนวนซ้ำของสัตว์ทดลองและจำนวนซ้ำของถุง เป็นต้น อย่างไรก็ตาม อิทธิพลของปัจจัยเหล่านี้ควรที่จะได้มีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป สำหรับปัจจัยที่มีอิทธิผลต่อเงื่อนไขการใช้สมการข้างต้นและการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก โดยวิธี *in sacco* (วิศิษฐิพร สุขสมบัติ, 2541) คือ

4.3.3.1 ขนาดรูพรุนของถุง (bag pore size) ต้องคำนึงถึงคุณสมบัติในการให้ของเหลวในกระเพาะหมักไหลผ่านเข้าออกได้สะดวก ในขณะเดียวกันต้องป้องกันการไหลออกของชิ้นส่วนอาหารที่ไม่ถูกย่อย อาหารที่มีอนุภาคเล็กอาจไหลออกจากรูพรุนได้ (Mohamed and Smith, 1977; Playne, Khumnualthong and Echevevarria, 1978; Lindberg and Knutsson, 1981) อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างนี้จะหมดไปถ้าเวลาที่ใช้จุ่มถุงนานกว่า 24 ชั่วโมง (Lindberg and Knutsson, 1982)

4.3.3.2 ปริมาณตัวอย่างอาหาร (sample size) ต้องคำนึงถึงปริมาณอาหารที่เหลือหลังการย่อยว่าจะมีเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์โภชนะที่ต้องการหรือไม่ โดยปกติควรใช้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารต่อพื้นที่ถุง (mg/cm^2)

4.3.3.3 ขนาดอนุภาคอาหาร (sample particle size) ในระหว่างขบวนการกินอาหารและการเคี้ยวเอื้อง ซึ่งมีการนำกลับอาหารไปเคี้ยวใหม่รวมทั้งการย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก จะทำให้อนุภาคอาหารที่กินเข้าไปมีขนาดเล็กลง สำหรับ *in sacco* technique อาหารจะไม่ผ่านกระบวนการดังกล่าว ฉะนั้นการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงขนาดต่าง ๆ จะเสมือนเป็นตัวแทนของกระบวนข้างต้น อย่างไรก็ตามการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงที่มีขนาดต่าง ๆ กัน จะมีผลต่อการย่อยสลายของอนุภาคอาหารที่อยู่ภายในถุงไนล่อน Freer and Dove (1984) พบว่าการย่อยสลายของ N ในตัวอย่างเมล็ด lupin ที่บดละเอียด ปานกลางและหยาบ จะมีผลถึงความแตกต่างของการย่อยสลายที่ระยะเวลาการจุ่มถุง 2 ชั่วโมง (47 μm) แต่ที่ 24 ชั่วโมงจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพื่อความเป็นมาตรฐานในการหาค่าการย่อยสลายโดยวิธี *in sacco* ควรเตรียมตัวอย่าง ไม่ว่าจะเป็นเมล็ดธัญพืช อาหารโปรตีน หญ้าแห้ง หรือตัวอย่างอื่น ๆ โดยการบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0-2.0 mm เมื่อใช้ถุงที่มี pore size ระหว่าง 20-40 μm

4.3.3.4 การวางตำแหน่งของถุงในกระเพาะหมัก (positioning in the rumen) Mehrez and orskov (1977) พบว่าการใช้น้ำหนังถ่วงให้ถุงจมอยู่บริเวณ ventral sac ไม่มีผลต่อการย่อยสลายวัตถุแห้ง ปัจจุบันยอมรับที่จะให้ถุงไนล่อนมีการเคลื่อนไหวอย่างอิสระภายในกระเพาะหมัก เพื่อที่จะให้ particle size จากส่วนต่าง ๆ ไหลเข้าออกถุงได้

4.3.3.5 การล้างถุง (washing the bag) การล้างน้ำเย็นที่ไหลจากก๊อกประปาที่แนะนำโดย Quin, Van der Wath and Myburgh (1938) เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และนิยมใช้จนปัจจุบัน ระยะหลังนี้เพื่อความสะดวกรวดเร็วและเหมาะสมกับการทำงานที่ต้องการล้างถุงคราวละมาก ๆ ได้มีการนำเครื่องซักผ้า (washing machine) ชนิด 2 ถังมาใช้ ช่วงในการล้างถุง วิธีการทำง่าย ๆ โดยการบรรจุถุงไนล่อนที่ต้องการล้างลงไปในถังซักที่มีน้ำอยู่เต็ม เปิดเครื่องซักผ้าที่มีจังหวะการซักที่เบาที่สุด ในขณะที่เครื่องซักผ้าทำงานให้ปล่อยน้ำเข้าเครื่องและให้ล้นออกทางท่อล้นตลอดระยะเวลาของการล้างประมาณ 15 นาที นำถุงที่ผ่านการล้างแล้ว ลงปั่นในถัง 3-5 นาที ก่อนนำไปอบแห้งเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป การใช้วิธีนี้ได้ผลดีเช่นเดียวกับวิธีการล้างอื่น ๆ แต่สะดวกและรวดเร็วกว่า

4.3.4 การศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กด้วยเทคนิค Three-step *in vitro* procedure นำส่วนหนึ่งของตัวอย่างอาหารข้น ทดลองทั้ง 4 สูตร ในถุงไนล่อนในข้อ 4.3.3 หลังจากที่บ่มในกระเพาะหมัก 16 ชั่วโมง มาศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กด้วยเทคนิค Three-step *in vitro* procedure (Calsamiglia and Stern, 1995) โดยนำถุงออกมาล้างโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านจนกระทั่งน้ำใส นำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ใช้ force-air oven) และนำอาหารที่เหลือจากการบ่มในกระเพาะหมักมารวมกันโดยให้มีไม่ต่ำกว่า 60 มิลลิกรัม โดยชั่งอาหาร 15 มิลลิกรัมของ N อาหาร ใส่ใน 50 มิลลิลิตร centrifugation tube และเติม 10 มิลลิลิตรของสารละลาย 0.1 N HCL ที่

pH 1.9 ซึ่งประกอบด้วย 1 กรัมต่อลิตรของ pepsin (Sigma p-7012, Sigma) เขย่าด้วย vortex และ incubate ที่ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใน shaker water bath จากนั้นเติม 0.5 มิลลิลิตรของ 1 N NaOH solution และ 13.5 มิลลิลิตรของ pancreatin solution ที่ pH 7.8 ซึ่งมี 50 ppm ของ thymol (ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์) และ 3 กรัมต่อลิตรของ pancreatin (Sigma p-7545, Sigma) แล้วเขย่าด้วย vortex incubate ที่ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน shaker water bath และเขย่าด้วย vortex ทุก 8 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะการย่อยอาหารให้คล้ายกับกระเพาะหมัก และเติม 3 มิลลิลิตรของ 100 เปอร์เซ็นต์ (wt./vol) ของ trichloroacetic acid (TCA) solution เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์และแยกส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อย เขย่าด้วย vortex ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้ว centrifuge ที่ 10,000 รอบ 15 นาที เอาส่วนที่ใส (supernatant) ไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน Kjeldahl method (AOAC, 1980) เพื่อการคำนวณการย่อยได้ของโปรตีนโดย pepsin-pancreatin จาก TCA soluble - N/N ทั้งหมดของตัวอย่างที่ใช้ (dacron bag residue)

4.3.5 การวิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา ดัดแปลงจาก (Horigome, Kumar, and Okamoto, 1988; Jackson et al., 1996; Perez-Maldonado and Norton, 1996)

เก็บตัวอย่างใบรวมก้านสะเดาสดในกล่องมืดที่บรรจุด้วยน้ำแข็งแห้ง และปิดสนิท เพื่อลดกิจกรรมการสูญเสียคอนเดนซ์แทนนินระหว่างการนำมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ทำการหั่นตัวอย่างขนาด 1 นิ้ว และแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำเข้าเครื่อง freeze drier จนแห้ง จากนั้นบดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ลงในขวดสีชา และเก็บส่วนที่ไม่ได้ใช้ไว้ในตู้แช่แข็ง ชั่งตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติม 70 เปอร์เซ็นต์ ของสารอะซิโตน (acetone reagent) 10 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่อง ultrasonic water bath ครั้งละ 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง โดยพักครั้งละ 5 นาที เพื่อกระตุ้นคอนเดนซ์แทนนินคลายตัวออกมาจากใบพืช และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส 3,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บเอาส่วนที่ใสลงในขวดสีชาขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาจุกเกลียว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำหลอดที่ปั่นเหวี่ยงแล้วมาเติม 70 เปอร์เซ็นต์ ของสารอะซิโตน 5 มิลลิลิตร เริ่มทำซ้ำตั้งแต่เข้าเครื่อง Ultrasonic water bath ลงมา แล้วจึงรวมส่วนใสทั้งหมดเข้าด้วยกัน เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมหลอด 11 หลอด ทำการ dilute ส่วนใสกับ 70 เปอร์เซ็นต์ ของสารอะซิโตน ที่อัตราส่วน 1, 5, 10, 20, 50 หรือ 100 เท่า โดยระดับความเข้มข้นดังกล่าวนี้ใช้วิธีลองผิดลองถูก (trial and error) โดยปรับอัตราส่วนต่อหลอดเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร เติม 95 เปอร์เซ็นต์ ของ butanol/HCL 3 มิลลิลิตร และ 2 เปอร์เซ็นต์ ของสารเฟอร์ริก (ferric reagent) 0.1 มิลลิลิตร ทุกหลอด ปิดปากหลอดด้วย glass marble ก่อนเข้าเครื่อง vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำหลอดทั้งหมดเข้าเครื่อง water bath ที่ 95-100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สังเกตสีที่เปลี่ยนไป จะเป็นสีชมพูแกมม่วงหรือแดงแกมน้ำตาล จึงนำไปอ่านด้วย

เครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 550 นาโนเมตร แล้วเริ่มทำซ้ำตั้งแต่เพื่อนำไปคำนวณหาคอนเดนซ์แทนนิน

%CT= Absorbance value 550 nm X 78.26 X dilution factor)/(%DM)

* dilution factor = 0.5ml/(volume of extract taken)

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1985)

4.5 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อาคารเครื่องมือ 1 และอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.6 ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2549 ถึง 1 มีนาคม 2550

4.7 ผลการทดลอง

4.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดาและวิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารที่ใช้ในการทดลอง แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 พบว่า ใบสะเดามีค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง 36.4 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนหยาบ 18.3 เปอร์เซ็นต์ อินทรีย์วัตถุ 93.6 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 12.1 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.9 เปอร์เซ็นต์ NDF 41.8 เปอร์เซ็นต์ ADF 37.3 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 6.4 เปอร์เซ็นต์ ก้านสะเดามีค่าฉลี่ยของวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ อินทรีย์วัตถุ เยื่อใย ไขมัน NDF ADF และเถ้า เท่ากับ 38.2, 11.7, 94.0, 20.4, 2.7, 60.9, 40.3 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใบรวมก้านสะเดาที่ใช้ศึกษาในการทดลองมีค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ อินทรีย์วัตถุ เยื่อใย ไขมัน NDF ADF และเถ้า เท่ากับ 36.1, 16.3, 93.8, 18.9, 1.7, 51.0, 37.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) จากการวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา พบว่า ความเข้มข้นองคอนเดนซ์แทนนินจากใบรวมก้านสะเดาที่ได้รับการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร พบว่า ใบรวมก้านสะเดา 100 กรัม มีเปอร์เซ็นต์

คอนเดนซ์แทนนิน 7.9 หรือเท่ากับ 79.0 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง (g/kgDM)

โดยใบสะเดาจะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเถ้าสูงที่สุด ขณะที่มีเปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุ เยื่อใย ไขมัน NDF และ ADF ต่ำที่สุดเช่นเดียวกับก้านสะเดาที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเถ้าต่ำที่สุด ใบรวมก้านสะเดามีค่าเปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุและเถ้าใกล้เคียงกับก้านสะเดาและใบสะเดา ก้านสะเดามีเปอร์เซ็นต์เยื่อใยสูงกว่าใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดา ส่วนเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเถ้าของใบรวมก้านสะเดาสูงกว่าก้านสะเดา แต่มีค่าต่ำกว่าใบสะเดาและเปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุ เยื่อใย ไขมัน NDF และ ADF มีค่าสูงกว่าใบสะเดา แต่มีค่าต่ำกว่าก้านสะเดา

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา และเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน

	เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง		
วัตถุดิบ	**ใบสะเดา**	**ก้านสะเดา**	**ใบรวมก้านสะเดา**
วัตถุแห้ง	36.4	38.2	36.1
	---------- % DM----------		
โปรตีน	18.3	11.7	16.3
อินทรีย์วัตถุ	93.6	94.0	93.8
เยื่อใย	12.1	20.4	18.9
ไขมัน	0.9	2.7	1.7
เถ้า	6.4	6.0	6.2
NDF	41.8	60.9	51.0
ADF	37.3	40.3	37.6
% CT	-	-	7.9

NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber and CT= condensed tannins

4.7.2 ความสามารถใน การย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถใน การย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้ โปรตีน ของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

จากการศึกษา ความสามารถใน การย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถใน การย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4

สูตรข้างต้นแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3 พบว่า เมื่อวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้ง 4 สูตร ได้แก่ อาหารข้นทดลองควบคุม อาหารข้นทดลองสูตรที่ 2 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (1.5 เปอร์เซ็นต์ คอนเดนซ์แทนนิน) อาหารข้นทดลองสูตรที่ 3 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (3.0 เปอร์เซ็นต์ คอนเดนซ์แทนนิน) อาหารข้นทดลองสูตรที่ 4 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (4.5 เปอร์เซ็นต์ คอนเดนซ์แทนนิน) มีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น จะมีอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามเวลา การย่อยสลายวัตถุแห้งของสูตรอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร ที่ 0-48 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และพบว่าการย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรที่ 72 ชั่วโมงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) อาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมีอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้ง (dgDM = 60.40) สูงสุด รองลงมา คือ อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร และอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร และอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ซึ่งมี ส่วนผสมของพืชโปรตีน โดยที่มีอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้ง (dgDM = 46.60) ต่ำสุด ส่วนอัตราการย่อยสลายได้โปรตีน พบว่า อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีอัตราการย่อยสลายได้ของโปรตีน (dgDM = 43.50) ต่ำที่สุด และอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม อาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบ รวม ก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์และอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีอัตราการย่อยสลายโปรตีนสูงที่สุด

ส่วนการย่อยสลายได้โปรตีนของทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชั่วโมงที่ 2-72 (P<0.05) โดยอาหารข้นทดลอง กลุ่มควบคุม และอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีการย่อยสลายได้โปรตีนสูงสุดและต่ำสุดตามลำดับจากทุกกลุ่มการทดลอง โดยเฉลี่ยพบความสามารถในการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่แตกต่างจากอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม ทุกชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และที่ชั่วโมง 2, 6, 12, 24, 48 อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่แตกต่างจากอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (P<0.05) อาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ชั่วโมงที่ 6 มีค่าการย่อยสลายได้โปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่มการทดลอง เช่นเดียวกับชั่วโมงที่ 24 และ 48 พบว่าการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีค่าไม่แตกต่างจากอาหารข้นทดลอง กลุ่มควบคุมและอาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวม

ก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ขณะที่ชั่วโมงที่ 72 ของการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมและอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร

ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

วัตถุดิบ	วัตถุแห้ง								dgDM[/1]
	0 ชม.	2 ชม.	4 ชม.	6 ชม.	12 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	
กลุ่มควบคุม	31.4	56.0	60.8	66.6	70.8	77.0	84.0	87.9[a]	60.4[a]
ใบรวมก้านสะเดา 10 %	30.0	45.5	49.3	52.7	55.8	61.2	72.3	78.6[ab]	50.2[b]
ใบรวมก้านสะเดา 20 %	30.6	43.4	45.9	48.3	50.5	54.6	64.4	71.4[b]	46.6[c]
ใบรวมก้านสะเดา 30 %	31.1	48.8	54.1	58.3	61.8	66.9	74.3	76.5[ab]	54.1[b]
SEM	4.84	5.18	5.66	6.84	7.32	7.55	4.85	3.13	1.22

[a, b] and [c] = significant different (P<0.05) in column, SEM = standard error of mean

หมายเหตุ: /1 Effective degradability of DM

ชม. = ชั่วโมง

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการย่อยได้โปรตีนและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

วัตถุดิบ	โปรตีน								dgCP[/1]
	0 ชม.	2 ชม.	4 ชม.	6 ชม.	12 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	
กลุ่มควบคุม	34.1	48.6[a]	51.4[a]	54.0[a]	56.4[a]	60.7[a]	70.0[a]	75.8[a]	51.9[a]
ใบรวมก้านสะเดา 10 %	33.4	47.6[ab]	49.9[a]	52.1[a]	54.2[ab]	58.0[ab]	67.3[ab]	74.1[a]	50.1[a]
ใบรวมก้านสะเดา 20 %	33.7	38.1[c]	41.6[b]	44.7[b]	47.5[c]	52.3[b]	61.6[b]	66.3[b]	43.5[b]
ใบรวมก้านสะเดา 30 %	34.5	46.7[b]	49.0[a]	51.1[ab]	53.0[b]	56.3[ab]	63.0[ab]	66.6[b]	49.2[a]
SEM	0.88	0.41	1.46	1.72	0.77	1.50	1.88	1.90	1.31

[a, b] and [c] = significant different (P<0.05) in column, SEM = standard error of mean

หมายเหตุ: /1 Effective degradability of CP

4.7.3 การย่อยได้ในลำไส้เล็กอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

จากการศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรแสดงไว้ในตารางที่ 4.4 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักและส่วนที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ของทุกสูตรอาหารมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักของอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมสูงสุด รองลงมาคือ อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบ รวมก้านสะเดา 10, 30 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ส่วนที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ พบว่า อาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบ รวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่าสูงสุด และอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมีส่วนที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 4.4 การย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

วัตถุดิบ	การย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็ก		
	กระเพาะหมัก	ลำไส้เล็ก	ส่วนที่ไม่สามารถถูกย่อยได้
กลุ่มควบคุม	64.60[a]	22.87	12.53[c]
ใบรวมก้านสะเดา 10%	59.63[b]	24.07	16.30[b]
ใบรวมก้านสะเดา 20%	49.32[c]	26.00	24.69[a]
ใบรวมก้านสะเดา 30%	60.25[b]	23.95	15.80[bc]
SEM	0.98	0.92	0.71

[a, b] and [c] = significant different (P<0.05) in column, SEM = standard error of mean

4.8 วิจารณ์ผลการทดลอง

4.8.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา

จากการ วิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีของใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดา ส่วนของใบรวมก้านสะเดามีองค์ประกอบทางเคมีอินทรีย์วัตถุใกล้เคียงกับก้านสะเดา ส่วนเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่าก้านสะเดา แต่มีค่าต่ำกว่าใบสะเดา โดยโปรตีนที่ได้จากใบสะเดา ก้านสะเดา และใบรวมก้านสะเดา มีค่าเท่ากับ 18.3, 11.7 และ 16.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนที่ได้จากใบรวมก้านสะเดามีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) และ พรรณิภา ชุมศรี (2523) โดยรายงานไว้ที่ 16.3 และ 16.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ Neem Foundation (1980-2008) ใน Mumbai ประเทศอินเดีย รายงานไว้ที่ 13-35 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และพบว่าผลการศึกษาวิจัยในบางปีของ Neem Foundation (1980-2008) ใบรวมก้านสะเดามีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเพียง 7.1 ทั้งนี้อาจแตกต่างกันไปเนื่องจากสถานที่และดินที่ปลูก

สภาพดินฟ้าอากาศ การดูแลจัดการและขั้นตอนการสุ่มเก็บตัวอย่างทดลอง ส่วนปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงกว่าที่รายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) และ พรรณิภา ชุมศรี (2523) ทั้งนี้เนื่องมาจากในขณะเก็บตัวอย่างใบรวมก้านสะเดามาใช้ในการทดลองมีเศษดินติดปะปนมากับต้นด้วย เพราะมีใบและก้านสะเดาบางส่วนได้ทำการตากแห้งบนพื้นดินซึ่งอาศัยลมและแสงแดดจากธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์เถ้าของใบรวมก้านสะเดายังคงอยู่ในระหว่าง 5-18 เปอร์เซ็นต์ ตามที่ Neem Foundation (1980-2008) ได้รายงานไว้ ส่วนไขมันที่ได้จากใบรวมก้านสะเดาและก้านสะเดา มีค่าเท่ากับ 1.7 และ 2.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ไขมันที่ได้จากใบรวมก้านสะเดามีค่าต่ำกว่าการรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) และ Neem Foundation (1980-2008) โดยรายงานไว้ที่ 2.8 และระหว่าง 2-13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไขมันในใบสะเดาพบว่า มีค่าเท่ากับ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) ที่รายงานไว้ที่ 1.3 เปอร์เซ็นต์

ก้านสะเดามีโปรตีน 11.7 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) ที่รายงานไว้ที่ 11.3 เปอร์เซ็นต์ ก้านสะเดามีองค์ประกอบทางเคมีจำพวกเถ้าอยู่ในปริมาณต่ำ ต่ำกว่าใบรวมก้านสะเดาและใบสะเดา โดยเถ้าของก้านสะเดา ใบรวมก้านสะเดาและใบสะเดา มีค่าเท่ากับ 6.0, 6.2 และ 6.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเถ้าของใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดาที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมีค่าสูงกว่าสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) โดยรายงานไว้ที่ 4.7 และ 5.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ใบสะเดามีองค์ประกอบทางเคมีจำพวกโปรตีนและเถ้าอยู่ในปริมาณสูง โดยที่วัตถุแห้งของใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดามีค่าเท่ากับ 36.4, 37.2 และ 36.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของใบรวมก้านสะเดามีค่าต่ำสุดเมื่อเทียบกับใบและก้านสะเดา วัตถุแห้งของใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดาที่ได้จากการทดลองมีค่าสูงกว่ารายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) โดยรายงานไว้ที่ 33.0 และ 35.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีและขั้นตอนในการเก็บตัวอย่าง และอายุของต้นสะเดา ขณะที่ก้านสะเดามีเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งสูงสุด อาจเนื่องมาจากก้านสะเดามีเยื่อใยในปริมาณสูง และมีสัดส่วนของน้ำหนักมากกว่าเมื่อเทียบกับจำนวนใบสะเดาใน 1 ก้าน ส่วนเยื่อใยของใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดา มีค่าเท่ากับ 12.1, 20.4 และ 18.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่เยื่อใยของใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดามีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) โดยรายงานไว้ที่ 12.9 และ 20.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ Neem Foundation (1980-2008) รายงานไว้ที่ 8-26 เปอร์เซ็นต์ ส่วน NDF ของใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดา มีค่าเท่ากับ 41.8, 60.9 และ 51.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดย

NDF ของใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดามีค่าแตกต่างจากการรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) โดยรายงานไว้ที่ 44.7 และ 53.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน ADF ของใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดา มีค่าเท่ากับ 37.3, 40.3 และ 37.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ ADF ของใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดามีค่าใกล้เคียงกับรายงานของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) โดยรายงานไว้ที่ 35.9 และ 37.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า ก้านสะเดามีองค์ประกอบที่เป็นเยื่อใยในปริมาณที่สูงกว่าใบรวมก้านสะเดาและใบสะเดา ทั้งนี้ เนื่องจากพืชที่มีอายุมากจะมีผนังเซลล์หนาและย่อยได้ยาก และส่วนของกิ่งก้านจะมีองค์ประกอบที่เป็นลิกนินสูง ซึ่งย่อยไม่ได้ ดังนั้นพืชที่มีอายุมาก คุณค่าทางอาหารจะลดลง (หม่อมราชวงศ์ชวนิศน ดากร วรวรรณ , 2534) และก้านสะเดานั้นได้จากการเก็บต้นสะเดาที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติใน บริเวณพื้นที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และอาจมีอายุมาก ทำให้การสะสมเยื่อใยสูง

จากการรายงานองค์ประกอบทางเคมีหลายตัวที่พบในใบสะเดา ก้านสะเดาและใบรวมก้านสะเดาของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) พรรณิภา ชุมศรี (2523) และ Neem Foundation (1980-2008) มีความแตกต่างกันไปบ้างกับผลการวิจัยในครั้งนี้ อาจเป็นเพราะความแตกต่างกันของสถานที่และดินที่ใช้ในการปลูก สภาพดินฟ้าอากาศ และขั้นตอนการสุ่มเก็บตัวอย่างทดลอง นอกจากคุณค่าทางเคมีของสะเดาจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่นกัน เช่น พันธุ์ อายุการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ การดูแลจัดการ เช่นเดียวกับพืชโปรตีนชนิดอื่น เช่น กระถิน (Cobbina, 1998) สอดคล้องกับ ชวลิต สิทธิสมบัติ (2539) รายงานว่า ลักษณะสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในการปลูกพืชสมุนไพรไทยนั้นจะส่งผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันด้วย นอกจากนี้รายงานวิชาการจากคณะวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางเคมีของสะเดาที่มีอยู่อย่างจำกัดนั้น ทำให้ข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีในเชิงการเลี้ยงสัตว์มีอยู่น้อยตาม

4.8.2 ความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถในย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

จากการศึกษา ความสามารถในการ ย่อยได้วัตถุแห้ง ความสามารถในการ ย่อยได้โปรตีน อัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร และข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 และ 4.3 พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น เป็นเพราะการเข้าทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะ หมักจะสะดวกขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (เมธา วรรณพัฒน์, 2533) การที่พบว่า การย่อยสลายจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนนั้น ๆ ตามชั่วโมงที่เปลี่ยนไป ซึ่งความสำคัญของการย่อยโปรตีน/ไนโตรเจนในกระเพาะหมัก (protein/nitrogen decomposition in the rumen) จะได้เปปไทด์และกรดอะมิโน โดยเกิดจากขบวนการที่เรียกว่าไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกใช้ประโยชน์โดยตรงโดยจุลินทรีย์ อีกส่วนหนึ่งจะแตกตัวเป็นแอมโมเนียและ

สารประกอบคาร์บอน และยังมีประโยชน์มากต่อการตัดสินใจในการเลือกนำใบพืชไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ สำหรับอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่า อาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมีความสามารถในการย่อยได้วัตถุแห้งในชั่วโมงที่ 72 และความสามารถในการย่อยได้โปรตีนในชั่วโมงที่ 2-72 มีค่าสูงสุด ส่วนอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งและโปรตีนของอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองเช่นกัน โดยอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมีอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งสูงสุด (dgDM=60.4) รองลงมาคือ อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้ในสูตรอาหารกลุ่มควบคุมมีสัดส่วนของกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบในระดับสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมัก (Wanapat et al., 2000) และยังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายสูง มีความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูง (77.5 เปอร์เซ็นต์) (โอภาส พิมพา ม, กฤตพล สมมาตย์ และ พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ , 2539) ซึ่งในอาหารข้นทดลอง กลุ่มควบคุมประกอบด้วยกากมันสำปะหลังในระดับสูงที่สุด ส่วนอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมมีอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนสูงที่สุด (dgCP=51.9) อาจเนื่องจากเป็นกลุ่มที่ไม่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา ไม่มีคอนเดนซ์แทนนินในสูตรอาหาร จึงไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างแทนนินกับพวกโปรตีน (glycoprotein) ที่มีอยู่ในน้ำลาย ที่ทำให้คุณสมบัติการหล่อลื่นของน้ำลายสูญเสียไป เพราะเกิดการเชื่อมโยง (crosslink) ของ polymer tannins กับโปรตีน ปฏิกิริยานี้จะช่วยปกป้องพืชอาหารสัตว์จากการถูกทำลายหรือกระบวนการย่อยในกระเพาะหมักได้ และเนื่องจากโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จากอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมสูงกว่าอาหารข้นทดลองสูตรอื่นแต่ไม่ มีความ แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ขณะที่อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบ รวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้ง (dgDM=46.6) และอัตราการย่อยสลายได้โปรตีน (dgCP=43.5) ต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลอง เนื่องมาจากอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีสัดส่วนกากมันสำปะหลังในสูตรอาหารต่ำ ประกอบกับมีคอนเดนซ์แทนนินจากใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร ซึ่งอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 3.0 ซึ่งเป็นระดับที่ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายได้โปรตีน สอดคล้องกับ Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่า คอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ หากมีต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยสามารถป้องกันย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักได้ เช่นเดียวกับ Niezen, Waghorn, Charleston, and Waghorn (1995) พบว่า แทนนินสามารถช่วยป้องกันโปรตีนถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักและสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมกรดอะมิโนในลำไส้เล็กได้ และเนื่องจากทุกสูตรอาหารทดลองมีการปรับระดับเปอร์เซ็นต์โปรตีนให้เท่ากันหมด ผลของอัตราการย่อยสลายโปรตีนที่ลดต่ำลงนั้นจึงอาจมี

อิทธิพลมาจากคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา อย่างไรก็ตาม ความเป็นกรด -ด่างภายในกระเพาะหมักลดลงเฉลี่ยเท่ากับ 7.1, 6.6 และ6.7 เมื่อเวลาผ่านไป 2-3 ชั่วโมงหลังได้รับอาหารที่มีแทนนิน โดยความเป็นกรด -ด่างที่ลดลง ส่งผลให้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้เต็มที่ (Reed, 1995) และมีผลต่อการย่อยสลายได้ของอาหาร สอดคล้องกับการทดลองของ Jones and Palmer (2000) ที่รายงานว่า การย่อยได้ของโปรตีนภายในกระเพาะหมักของพืชอาหารที่มีแทนนินมีค่าการย่อยได้ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดเดียวกันที่ได้ผสมสาร polyethylene glycol (PEG) ซึ่งเป็นตัวลดประสิทธิภาพของสารประกอบโปรตีน-แทนนินที่ไม่ย่อยสลายโปรตีนภายในกระเพาะหมักและจะไหลผ่านเข้าสู่กระเพาะแท้และลำไส้เล็ก ซึ่งจัดเป็นโปรตีนไหลผ่าน เป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (วิศิษฐิพร สุขสมบัติ, 2540)

แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า เมื่อสัดส่วนของกากมันสำปะหลังในอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร น้อยที่สุดและมีการใช้ใบรวมก้านสะเดามากที่สุด ไม่ได้ทำให้ผลของอัตราการย่อยสลาย ได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนต่ำที่สุด อาจเพราะอาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีสัดส่วนของการใช้ใบรวมก้านสะเดาในระดับสูงเกินระดับที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม ความเป็นพิษของระดับคอนเดนซ์แทนนินที่สูงมากนั้น อาจไม่ก่อให้เกิดความสมดุลของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ไม่สามารถเพิ่มปริมาณการกินได้เพราะมีรสขมจัด อีกทั้งการย่อยได้ของอาหารที่สัตว์ได้รับเข้าไปทำให้รูปแบบของการหมักไม่เป็นไปอย่างเหมาะสม สัตว์ไม่ได้โภชนะที่เหมาะสมและอาจทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้สังเคราะห์เซลล์ได้อย่างเหมาะสม (Makkar, 2003) ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพของอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้งและโปรตีน ตลอดจนการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนไหลผ่านไม่เป็นไปตามทฤษฎี เนื่องจากจุลินทรีย์อาจถูกรบกวนจากภาวะเป็นพิษของคอนเดนซ์แทนนินในระดับสูงนี้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ McNabb, Waghorn, Peters, and Barry, 1996; Molan et al., 2001; Min, McNabb, Barry, and Peters , 2000; Min et al., 2002 ที่ใช้เทคนิค *in vitro* และ *in situ* ในการวิเคราะห์การย่อยสลายได้ของพืชที่มีแทนนินและไม่มีแทนนิน พบว่า พืชที่มีแทนนินจะมีการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่มีแทนนิน เพราะการละลายได้และอัตราการย่อยสลายของอาหารในกระเพาะหมักมีอัตราช้าลงเรื่อย ๆ เมื่อมีระดับแทนนินที่สูงมาก เช่นเดียวกับการพบว่าอัตราการย่อยสลายได้โปรตีนในกระเพาะหมักแบบ *in vitro* เป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถในการเกิดโปรตีนไหลผ่านได้ โดยพบว่า ใน White clover (*Trifolium repens* L.) เปรียบเทียบกับ Sericea lespedeza (*L. cuneata* var. Dum. Cours) มีอัตราการย่อยสลายได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักและโปรตีนไหลผ่านเท่ากับ 27, 18 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง และ 1, 96 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่

หากมีแทนนินในระดับสูงมากเกินความเหมาะสม อาจรบกวนสมดุลของกระบวนการหมักและจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้

4.8.3 การย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร

จากข้อมูลทั่วไป พบว่า การใช้พืชที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบในสูตรอาหารในระดับที่เหมาะสมหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมักและเพิ่มโปรตีนไหลผ่าน แต่จากการศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร ในครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึงแม้จะมีการใช้ระดับแทนนินที่เหมาะสมก็ตาม แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 อาจเป็นเพราะกระบวนการวิเคราะห์การย่อยได้ในลำไส้เล็กถูกจำลองขึ้นในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* ซึ่งเป็นสภาวะจำลองภายในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง การย่อยได้ในลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นไม่ได้ทดลองกับตัวสัตว์โดยตรง (*in vivo*) อาจเกิดความคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริงบ้างเมื่อเทียบกับการทดลองที่ทำขึ้นจริงในตัวสัตว์

อย่างไรก็ตาม อาหารข้นทดลอง ที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร โปรตีน 14.1 เปอร์เซ็นต์ มีส่วนที่ไม่สามารถย่อยได้สูงสุด (24.7 เปอร์เซ็นต์) และค่าย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักที่ได้จากการคำนวณต่ำสุด (49.3 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ อาหารข้นทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร และอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ขณะที่ค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อาจเพราะใบและก้านสะเดาในสูตรอาหาร ซึ่งมีคุณสมบัติแทนนินสามารถเข้าจับกับโปรตีนจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป เพื่อลดการย่อยสลายที่กระเพาะหมักลง และทำให้โปรตีนจากอาหารที่สามารถผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่างมากขึ้น อาจเป็นสาเหตุของการย่อยได้ในกระเพาะหมักของอาหารข้นทดลองสูตรควบคุมสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ และทำให้การย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็กมีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งกลไกการเกิดสารประกอบโปรตีน -แทนนินนั้นเกิดโดย H-bonding ระหว่างแทนนินกับคาร์โบไฮเดรทและโปรตีน สารประกอบโปรตีน -แทนนินจะไม่ถูกย่อยสลายและคงสภาพทนทานได้ที่ค่าความเป็นกรด -ด่างระหว่าง 3.5-7.0 แต่จะไม่สามารถคงสภาพและปลดปล่อยโปรตีนให้หลุดออกในสภาพความเป็นกรด -ด่างที่ <3.0 และ>8.0 (Jones and Mangan, 1977) ซึ่งสภาวะดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับสภาวะภายในของกระเพาะหมักและลำไส้เล็กของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ขณะที่ Dalzell, Stewart, Tolera, and McNeil (1998) และ McNeill, Osborne, Osborne, Komolong, and Nankervis (1998) ได้ศึกษาการย่อยสลายได้ของโปรตีนในใบกระถินแบบ *in vitro* อยู่ที่ 63.3 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับกระถินที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ในประเทศไทย ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วที่ประกอบไปด้วยแทนนิน ใบกระถินล้วน ๆ โปรตีนประมาณ 24.4 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก 36 เปอร์เซ็นต์ (เมธา วรรณพัฒน์ และ ฉลอง วชิราภากร, 2533) สามารถจับตัวกับโปรตีนได้ ซึ่งโปรตีนดังกล่าวสามารถ

ไหลผ่านกระเพาะหมักลงไปยังลำไส้เล็กได้ สอดคล้องกับ ปราโมทย์ แพงคำ และ โอภาส พิมพา (2545) กล่าวว่า ประโยชน์และความคุ้มค่าของแทนนินอยู่ที่ความสามารถในการป้องกันการย่อยได้ของอาหารโปรตีนในกระเพาะหมัก สอดคล้องกับ เมธา วรรณพัฒน์ (2540) รายงานถึงบทบาทของแทนนินในพืชอาหารสัตว์จาก McLeod (1974) ว่า แทนนินในพืชอาหารสัตว์ระดับต่ำถึงปานกลาง (20-40 g/kg DM) จะป้องกันการเกิดโรคท้องอืด เพิ่มการไหลผ่านของ non-ammonia nitrogen และกรดอะมิโนที่สำคัญ ตลอดจนเป็นการเพิ่มจุลินทรีย์โปรตีนที่ไหลผ่านมายังตำแหน่งของลำไส้เล็ก เช่นเดียวกับ Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่า คอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถป้องกันการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กและเพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนี้ Wanapat (2001) และ Makkar et al. (1995b) พบว่า คอนเดนซ์แทนนินสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนจากจุลินทรีย์ได้สูงขึ้น แต่กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน

4.8.4 การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

ใบรวมก้านสะเดาที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นใบรวมก้านสะเดาสดที่ผ่านการ freeze drier จนแห้ง จากห้องปฏิบัติการอาหาร อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จากการวิเคราะห์โปรตีนหยาบ 16.3 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 พบว่า ปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา 100 กรัม เท่ากับ 7.90 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (DM basis) มีค่าเท่ากับที่ Ghimeray, Jin, Ghimire, and Cho (2009) ในประเทศเนปาล รายงานไว้คือ 7.9 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง เช่นเดียวกัน แต่จะต่ำกว่าที่ Agricultural of Council of India (1995, อ้างถึงใน Kirtikar and Basu, 1980, หน้า 102) รายงานไว้คือ 8.2-8.6 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง หรือ 82-86 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง นอกจากนี้ Neem Foundation, Mumbai, India. (1980-2008) รายงานไว้ที่ 6-16 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ส่วน Subbaraman and Brucker (2001) พบว่าสะเดามีแทนนินประมาณ 3-8 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ใบรวมก้านสะเดาที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี (2549) พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 7.88-7.98 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์คอนเดนซ์แทนนินในห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี องค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันไปบ้าง ความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องมาจากสถานที่ในการปลูก สภาพภูมิอากาศ สภาพดินบริเวณนั้นมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน สายพันธุ์พืช และแหล่งที่มาของพืช กรรมวิธีในการวิเคราะห์และกระบวนการสกัด (Herve, Frank, Spiridoula, Stig, and Simons, 2006; Rojas, Lopez, Tejada, Vazquez, Shimada, Sanchez, and Ibarra, 2005; Leinmuller, Steingass, and Menke, 1991) และอาจเพราะสารคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดาสลายตัวได้เร็วในธรรมชาติ เนื่องจากสารออก

ฤทธิ์อาจเกิดภาวะสูญเสียสภาพในระยะแรก ๆ ที่ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ และตัวอย่างสะเดาที่นำมาศึกษาอ้างอิงมาจากในหลายประเทศ แต่การศึกษาระดับคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดาครั้งนี้ยังคงอยู่ในระดับทั่วไปของพืชเขตร้อนที่มีคอนเดนซ์แทนนินเป็นองค์ประกอบ (e.g. *Lotus corniculatus*, *Lotus pedunculatus*, *Leucaena leucocephala,* sulla และ sainfoin) Appalachian Farming System Research Center (1990) คือมีปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในช่วง optimum ตามที่เอกสารวิจัยทางวิชาการรายงานว่า พืชเขตร้อนส่วนใหญ่มีระดับความเข้มข้นของคอนเดนซ์แทนนินขั้นต่ำ ที่จะส่งผลในเชิงบวกต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยรายงานไว้ที่ประมาณ 20-40 g/kgDM (2-4 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง) สอดคล้องกับ Barry (1983) รายงานไว้ที่ 2-4 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ซึ่งเป็นระดับที่สามารถเพิ่มค่า rumen escape ของ dietary protein และน้ำหนักตัวแกะ เช่นเดียวกับ Turner (1990) รายงานว่า แพะที่เลี้ยง แบบ ปล่อยแทะเล็มพืชตระกูลถั่วที่มีคอนเดนซ์แทนนิน 2-4 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการย่อยสลายที่กระเพาะหมักลง โดยจับตัวกับโปรตีนจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป สารประกอบโปรตีน -แทนนินจะไม่ถูกย่อยสลายและคงสภาพทนทานได้ที่ค่าความเป็นกรด -ด่างที่เป็นกลาง แต่จะไม่สามารถคงสภาพและปลดปล่อยโปรตีนให้หลุดออกในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ <3.0 และ>8.0 (Jones and Mangan, 1977) ทำให้โปรตีนจากอาหารสามารถผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่างมากขึ้น โปรตีนจึงถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก สอดคล้องกับ Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่า หากมีคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยสามารถป้องกันย่อยได้ในกระเพาะหมักและสามารถเพิ่มจุลินทรีย์โปรตีนที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กและเพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น

ในหลายประเทศศึกษาการใช้คุณสมบัติของคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์คุณภาพต่ำเลี้ยงแพะ-แกะ เช่น *Sericea lespedeza*, Crabgrass/tall fescue, quebracho, *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* พบว่า ระดับคอนเดนซ์แทนนินที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืชสามารถใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ ใน *Sericea lespedeza* และ Crabgrass/tall fescue มีคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 17.7 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง quebracho, *Lotus corniculatus* และ *Lotus pedunculatus* มีค่าเท่ากับ 6, 2.6 และ 8 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ตามลำดับ (Puchala, Min, Goetsch, and Sahlu, 2005) ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ Wanghorn, Shelton, McNabb, and McCutcheon (1994) ที่รายงานไว้ที่ 2.2 และ 5.5 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ตามลำดับ ส่วน Min and Hart (2003) รายงานไว้ที่ 4.8 และ 7.7 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Terril, Rowan, Douglas, and Barry (1992b) และ Jackson, McNabb, Barry, Foo, and Peters (1996) รายงานไว้คือ 3.6 และ 6.1 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้ Hoskin, Wilson, Barry, Charleston and Waghorn. (2000) และ Waghorn and Shelton (1997) พบว่า *Lotus corniculatus* มีคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 1.9 และ 5 เปอร์เซ็นต์วัตถุ

แห้ง ตามลำดับ Barry and Forss (1983) พบว่า คอนเดนซ์แทนนินใน *Lotus pedunculatus* มีค่าเท่ากับ 7.8 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ส่วน Tavendale, Lucy, Meagher, Pacheco, Walker, Attwood, and Sivakumaran (2005) ศึกษาการวิเคราะห์คอนเดนซ์แทนนินใน *Lotus pedunculatus* โดยใช้ Butanol-HCL assay ตามวิธีการของ Meagher, Lane, Sivakumaran, Tavendale, and Fraser (2004) พบว่า ใน 100 กรัม มีคอนเดนซ์แทนนินอยู่ในช่วง 6.6-7.0 กรัม

นอกเหนือจากพืชอาหารสัตว์คุณภาพต่ำดังกล่าว มีพืชโปรตีนจำพวกพืชตระกูลถั่ว เช่น ใบกระถิน (*Leucaena leucocephala*) ที่ปัจจุบันประเทศไทยนิยมนำมาใช้เป็นพืชโปรตีนเลี้ยงสัตว์ พบว่า ในปริมาณที่เท่ากันกับใบรวมก้านสะเดา ใบกระถินที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน 26.3 และปริมาณคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 4.82 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (วรรณวิภา แก่นอำพัน, 2534) ซึ่ง Dalzell, Stewart, Tolera, and McNeil (1998) และ McNeill, Osborne, Osborne, Komolong, and Nankervis (1998) ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของระดับคอนเดนซ์แทนนินเชิงลึก ค่าคอนเดนซ์แทนนินรวม (total condensed tannins) และอัตราส่วนของโปรตีนหยาบต่อ ระดับของคอนเดนซ์แทนนินรวมในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด พบว่า *Leucaena leucocephala* var. leucocephala มีปริมาณคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 17-37 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง เท่ากับที่ Norton, Lowry, and McSweeney (1995) รายงานไว้คือ 1.7-3.7 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนอยู่ระหว่าง 17-30 เช่นเดียวกับ Lowry, Petheram, and Tangendjaja (1992) ที่รายงานว่า เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินใน *Leucana spp.* อยู่ระหว่าง 3.7-4.3 เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์โปรตีนและคอนเดนซ์แทนนินของใบรวมก้านสะเดา พบว่า ใกล้เคียงกับใบกระถิน ตามที่ Tolera, Seyoum, and Sundstol (1998); Dalzell, Stewart, Tolera and McNeill; Osborne, Osborne, Komolong, and Nankervis (1998) รายงานไว้ คือ 16.6 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และ 6.6-8.7 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ตามลำดับ ขณะที่ Kirtikar and Basu ในปี 1980 พบปริมาณแทนนินในใบกระถินเพียง 1.5-1.8 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและสามารถใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ สอดคล้องกับ Lowry et al. (1992) ที่ศึกษาการใช้ *Leucaena leucocephala* ที่มีแทนนิน 1.2 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งในสูตรอาหารก็สามารถใช้เลี้ยงโคในพื้นที่รอบชายฝั่งทะเลของ Madura และ Bali ในประเทศอินโดนีเซียได้ นอกจากนี้ระดับแทนนินในใบกระถินแห้งในประเทศมาเลเซียอยู่ในช่วง 7.5-8.3 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (Khamseekhiew, Liang Wong, and Jalan, 2000) ซึ่งสูงกว่าใบกระถินสายพันธุ์ต่าง ๆ และใบมันสำปะหลังที่เคยรายงานไว้ในประเทศไทยที่มีปริมาณแทนนินอยู่ระหว่างร้อยละ 0.64-2.42 (ศศิธร ถิ่นนคร กานดา นาคมณี และ ฉายแสง ไผ่แก้ว, 2539) และ 0.31-0.34 วัตถุแห้ง ตามลำดับ (Onwuka, 1992) ขณะที่งานวิจัยของเดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) พบว่า ปริมาณแทนนินในกระถินทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Salvador, Ivory Coast และ Cunningham มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 1.08-3.25 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงปกติที่พบในกระถินสายพันธุ์ต่าง ๆ ของไทย Lowry et al. (1992) อ้างโดย Norton (2000) รายงานว่า ใบกระถิน

(*Leucaena spp.*) ในประเทศอินโดนีเซียที่ผ่านการวิเคราะห์ด้วย Vanillin-HCL ตามวิธีการของ Boadhurst and Jones (1976) พบว่า มีคอนเดนซ์แทนนินอยู่ในช่วง 3.7-4.3 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ส่วน Mlambo and Makkar (2005) ศึกษาการวิเคราะห์คอนเดนซ์แทนนินในใบกระถินด้วย leucocyanidin equivalent ตามวิธีการของ Makkar (2003) พบว่า 100 กรัมของใบกระถิน มีคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 0.87 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.87 กรัม

อย่างไรก็ตามจากการค้นคว้าวิจัยโดย Foo, Newman, Waghorn, McNabb, and Ulyatt (1996) และ Foo, Lu, McNabb, Waghorn, and Ulyatt (1997) ระบุชัดเจนเกี่ยวกับความแตกต่างใน reactivity ระหว่างแทนนินกับ species ซึ่งใบกระถินและ *Lotus pedunculatus* ถือว่ามีระดับคอนเดนซ์แทนนินและโปรตีนหยาบใกล้เคียงกับส่วนของใบรวมก้านสะเดามากที่สุด ซึ่งปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์อาจแตกต่างไปจากงานวิจัยอื่น ๆ บ้าง เนื่องจาก สายพันธุ์ การเลือกวิธีการวิเคราะห์หรือสกัดคอนเดนซ์แทนนิน สอดคล้องกับ เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) ปริมาณแทนนินในกระถินจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ อายุ และสภาพแวดล้อมของกระถิน โดยแทนนินจะพบมากในกระถินส่วนแก่มากกว่าส่วนอ่อน และจากการวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินจากใบกระถินโดยการแยกวิเคราะห์ตามสายพันธุ์และตามส่วนต่าง ๆ ของกระถิน พบว่า ปริมาณแทนนินจะแตกต่างกันตามสายพันธ์และอายุของกระถินอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และแทนนินเป็นสารประกอบพวกฟีนอลลิคเช่นเดียวกับลิกนิน ซึ่งจัดเป็นสารประกอบทุติยภูมิ (secondary plant) จึงพบมากขึ้นเมื่อพืชอายุมากขึ้น คล้ายกับปริมาณสาร NDF และ ADF ซึ่งพบว่าปริมาณ ADF กับปริมาณแทนนินมีความสัมพันธ์ต่อกัน

4.9 สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ ใบสะเดา ก้านสะเดา และ ใบรวมก้านสะเดา พบว่า คุณค่าทางโภชนะมีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานไว้โดยผู้ วิจัยและสถาบันต่าง ๆ ซึ่งใบรวมก้านสะเดามีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสม จัดเป็นพืชโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีโปรตีนสูง สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารสัตว์ ได้ นอกเหนือจาก ใบกระถินซึ่งเป็นพืชโปรตีนประเภทเดียวกัน ใบรวมก้านสะเดาเป็นพืชสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติ ของคอนเดนซ์แทนนิน อยู่ในปริมาณสูง ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนด้วยการปกป้องการย่อยได้ของโปรตีนของอาหารในกระเพาะหมัก ส่วนก้านสะเดาจัดได้ว่าเป็นส่วนของพืชโปรตีนที่มีคุณภาพอาหารต่ำ เนื่องจาก มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำที่สุดเทียบกับใบสะเดาและใบรวมก้านสะเดา และเนื่องจากก้านสะเดามีคุณค่าทางโภชนะต่ำ หากจะนำมาใช้ในการเลี้ยงแพะเนื้อ นอกจากจะเกิดความยุ่งยากกับผู้ใช้ในการเลือกใช้เฉพาะก้านสะเดา ยังต้องปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้มีโปรตีนสูงขึ้นก่อนนำมาใช้เลี้ยงแพะ อีกด้วย การศึกษาครั้งนี้ จึงเลือกใช้ใบและก้านสะเดารวมกัน (ใบรวมก้านสะเดา)

แต่จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีทางโปรตีนของใบรวมก้านสะเดา ตลอดจนความสามารถในการ ย่อยได้ โปรตีนในกระเพาะหมักและการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร เปรียบเทียบกับการค้นคว้าเอกสารวิจัยทางวิชาการ พบว่า ใบรวมก้านสะเดาไม่สามารถทดแทนการใช้กากถั่วเหลืองได้หมด เพราะไม่ได้มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเทียบเท่ากับกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนเช่นเดียวกัน ดังนั้นในสูตรอาหารจึงใช้ยูเรียเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารร่วมด้วย และสามารถเสริมยูเรียในระดับที่ไม่เกิน 4 เปอร์เซ็นต์ หรือเสริมร่วมกับพืชที่มีโปรตีนสูงชนิดอื่นที่สามารถหาได้ในแต่ละท้องถิ่น ซึ่งมีส่วนช่วยลดการใช้กากถั่วเหลืองที่มีราคาแพงลง และช่วยให้แพะได้รับอาหารประเภทโปรตีนได้ดีกว่าการใช้ใบรวมก้านสะเดาเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้อัตราการย่อยสลายได้ วัตถุแห้งและ โปรตีนของอาหารข้น ที่ได้รับใบ รวมก้านสะเดา

เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลอง เนื่องจากมีคอนเดนซ์แทนนิน จากใบรวมก้านสะเดาที่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการย่อยสลายได้โปรตีนในกระเพาะหมักลดลง ช่วยให้เกิดการ ไหลผ่านของโปรตีนต่อไปยังลำไส้เล็กมากขึ้น สาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างแทนนินกับพวกโปรตีน ซึ่งช่วยปกป้องพืชอาหารสัตว์จากการถูกทำลายจากกระบวนการย่อยในกระเพาะหมักและมีสัดส่วนของมันสำปะหลัง และกากถั่วเหลือง ในสูตรอาหารต่ำ จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า การใช้สัดส่วน ของใบรวมก้านสะเดาในระดับสูงเกินระดับที่เหมาะสม ความเป็นพิษของระดับคอนเดนซ์แทนนินที่สูงมากนั้น อาจ ทำให้ความสมดุลของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักเปลี่ยนแปลงไป ไม่เป็นไปอย่างเหมาะสม และอาจลดปริมาณการกินได้เพราะมีรสขมจัด ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้สังเคราะห์เซลล์ได้อย่างเหมาะสม ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพของอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้งและโปรตีน ตลอดจนการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนไหลผ่านไม่เป็นไปตามทฤษฎี เนื่องจากจุลินทรีย์อาจถูกรบกวนจากภาวะเป็นพิษของคอนเดนซ์แทนนินในระดับสูงนี้ รวมถึง การวิเคราะห์การย่อยได้ในลำไส้เล็กถูกจำลอง สภาวะภายในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องขึ้นในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* การศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร ในครั้งนี้ จึงไม่พบความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ

บทที่ 5
การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต

5.1 คำนำ

การผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องมีความต้องการใช้วัตถุดิบหลาย ๆ ชนิดโดยเฉพาะวัตถุดิบประเภทโปรตีนเพื่อประกอบเป็นอาหาร โปรตีนจากพืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักที่ใช้ในประเทศที่ขาดแคลนโปรตีนจากสัตว์ เช่น ปลาป่น และเนื้อป่น นอกจากนี้โปรตีนจากสัตว์มักมีราคาแพง ในประเทศไทยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งวัตถุดิบโปรตีนที่นิยมใช้อย่างมาก แ ละมีการ นำเข้าจากต่างประเทศ ขณะที่นักวิชาการได้พยายามศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งโปรตีนทดแทนชนิดอื่น ๆ เพื่อที่จะลดต้นทุนการผลิต โดยปกติแล้วพืชโปรตีนนำมาใช้ในสูตรอาหารเพื่อเป็น การทดแทนแหล่งโปรตีนที่แพงกว่า เช่น กากถั่วเหลือง พืชโปรตีนที่ นิยมนำมาใช้ ได้แก่ กระถิน แค มะขามเทศ gliricidia และถั่วอัลฟาลฟา อย่างไรก็ตามพืชเหล่านี้จะมีเยื่อใยสูงและอาจมีสารพิษเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ทำให้มีข้อจำกัดในการใช้เป็นอาหารสัตว์ จึงควรจะทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับระดับการใช้พืชโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสัตว์ ปัจจุบันวัตถุดิบอาหารสัตว์มีมากมายหลายชนิด ซึ่งในสภาวะปัจจุบันที่เศรษฐกิจข้าวยากหมากแพง ปี 2551 ปัญหาสภาวะด้านเศรษฐกิจน้ำมันที่มีอัตราสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ค่าขนส่งและค่าครองชีพที่สูงขึ้น รวมถึงราคามันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ถีบตัวสูงขึ้น หลังนำไปผลิต ethanol เพื่อใช้ผสมน้ำมันเชื้อเพลิง ส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์มีต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เพื่อแก้ไขปัญหาหรือเป็นอีกทางเลือกเพื่อบรรเทาปัญหาดังกล่าว จึงได้มีการนำพืชโปรตีน ในท้องถิ่น หาได้ ง่ายมาใช้ ซึ่งการใช้ประโยชน์ของพืชที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบนั้นจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง ที่ระดับการใช้ประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมักบางส่วนและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังลำไส้เล็ก เพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น และป้องกันโรคท้องอืด นอกจากนี้คอนเดนซ์แทนนินยังสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนจากจุลินทรีย์ได้สูงขึ้นด้วย ทำให้การเลี้ยงแพะแบบตามมีตามเกิดของเกษตรกรที่ผ่านมาก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ง่าย ซึ่งยังคงมีมันสำปะหลังมาเป็นแหล่งพลังงานหลัก โดยลดปริมาณการใช้กากถั่วเหลืองคุณภาพดีที่มีราคาแพงลง โดยการ นำพืชโปรตีนชนิดอื่น ๆ ในท้องถิ่นเข้ามาปรับใช้ในสูตรอาหารได้จริง

นอกจากนี้ระดับที่เหมาะสมของการใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นส่วนประกอบในอาหารข้นสำหรับแพะเนื้อนั้นยังไม่มีรายงานวิจัยปรากฏไว้ ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นส่วนประกอบในอาหารข้นที่เหมาะสมสำหรับแพะเนื้อ

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต และประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อ

5.3 อุปกรณ์และวิธีการ

5.3.1 การศึกษาผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตและประสิทธิภาพในการกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน

5.3.1.1 แผนการทดลอง

จัดแผนการทดลองแบบ 4x4 latin square design ปัจจัยการทดลอง 4 ปัจจัยการทดลอง โดยอาหารที่ใช้มี 4 สูตร แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ช่วงการทดลอง ๆ ละ 21 วัน แสดงดังตารางที่ 5.1 โดย 14 วัน แรกสำหรับปรับตัว จัดการทดลองออกเป็นทั้งหมด 4 กลุ่ม คือ

กลุ่มการทดลองที่	1 กลุ่มควบคุม
กลุ่มการทดลองที่	2 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร
กลุ่มการทดลองที่	3 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร
กลุ่มการทดลองที่	4 ได้รับใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร

ตารางที่ 5.1 แผนผังการจัดองค์ประกอบปัจจัยการทดลองในแผนการทดลอง 4x4 latin square design

Period	Animal number			
	G1	**G2**	**G3**	**G4**
1	T1	T4	T3	T2
2	T2	T1	T4	T3
3	T3	T2	T1	T4
4	T4	T3	T2	T1

G1 = goat number1, G2 = goat number 2, G3 = goat number 3, G4 = goat number 4, T1 = unsupplemented the neem foliage, T2 = supplemented 10% of the neem foliage, T3 = supplemented 20% of the neem foliage and T4 = supplemented 30% of the neem foliage

5.3.1.2 การจัดสัตว์ทดลอง

แพะเนื้อที่ใช้ในการทดลองเป็น แพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนเพศผู้จำนวน 4 ตัว อายุประมาณ 7-8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 19±2.1 กิโลกรัม แบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลอง แพะทดลองทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิและฉีดวิตามินเอ , ดี$_3$ และอี ก่อนเข้าการทดลอง โดยแพะทุกตัวถูกเลี้ยงโดยขังในคอกเดี่ยวขนาด 2x3 เมตร มีอ่างน้ำพลาสติกสำหรับใส่น้ำให้กินตลอดเวลา

5.3.1.3 การจัดการให้อาหารสัตว์ทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการผสมอาหารข้นทั้งสิ้น 4 สูตร ด้วยการผสมอาหารด้วยมือ ในการจ่ายอาหารให้แก่แพะเนื้อจะให้เป็นรายตัว โดยจ่ายอาหารแยกเป็นอาหารข้น (concentrate) และอาหารหยาบ (roughage) อาหารข้นในแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกประกอบให้มีโปรตีน (isonitrogenous) และพลังงานเท่ากัน (isocaloric)

โดยให้แพะเนื้อได้รับตลอดระยะเวลา 4 ช่วงการทดลอง ซึ่งอาหารข้นทดลองที่ใช้มีโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ ตามกลุ่มทดลอง ให้ตามเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวของสัตว์แต่ละตัว) ทุกกลุ่มมีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบที่ให้แบบไม่จำกั ด และจัดแพะออกเป็นกลุ่มตามแผนการทดลอง ให้อาหารสองเวลาคือเช้า (07.30น) และบ่าย (16.00น) และมีน้ำให้กินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ตารางที่ 5.2 วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารข้นทดลอง (เปอร์เซ็นต์) ที่ปรับให้มีโปรตีน (isonitrogenous) และพลังงานเท่ากัน (isocaloric)

วัตถุดิบ	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				
	0%	10%	20%	30%	ราคาวัตถุดิบ บาท/กิโลกรัม
กากมันสำปะหลัง	68.1	60.5	53.9	47.3	4.2
รำละเอียด	10.0	10.0	10.0	10.0	7.0
กากถั่วเหลือง	13.0	9.4	5.8	2.2	14.0
ใบรวมก้านสะเดา	0.0	10.0	20.0	30.0	3.5
กากน้ำตาล	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
น้ำมันปาล์ม	0	1.2	1.4	1.6	19.0
ยูเรีย	2.2	2.2	2.2	2.2	15.0
กำมะถัน	0.2	0.2	0.2	0.2	50.0
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5	3.0
พรีมิกซ์ (premix)	1.0	1.0	1.0	1.0	35.0
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	
ราคาอาหาร/กิโลกรัม (บาท)	6.43	5.95	5.52	5.09	
ปริมาณโภชนะจากการคำนวณในสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					
โปรตีน*	14.08	14.05	14.03	14.01	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Mcal/kg)	2.41	2.45	2.44	2.43	

*จากการคำนวณ

%CT คือ เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน

5.3.1.4 วิธีการทดลองและการเก็บข้อมูล

เมื่อทำการคัดเลือกแพะเนื้อตามกลุ่มแผนการทดลองแล้ว ทำการให้อาหารและใช้ระยะเวลาในการปรับตัวสัตว์ทดลอง 2 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับสภาพคอกทดลองและอาหาร ทำการบันทึกข้อมูลเป็นระยะเวลาทั้งหมด 84 วัน ซึ่งมีช่วงบันทึกข้อมูล 21 วัน แบ่งเป็น 4 ช่วงการทดลอง โดยทำการบันทึกและเก็บข้อมูลต่าง ๆ ดังนี้

1) น้ำหนักตัว (body weight)

ทำการชั่งก่อนและหลังการทดลองและบันทึกน้ำหนักแพะแต่ละกลุ่มทดลองเป็นรายตัว โดยชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์ของทุกช่วงการทดลอง โดยอดอาหารก่อนชั่ง

2) การกินได้ (feed intake)

ชั่งและบันทึกข้อมูลปริมาณการกินอาหาร จากการชั่งอาหารที่ให้สัตว์กิน และส่วนที่เหลือจากการกินทุกวัน และสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารข้นและอาหารหยาบเป็นรายตัว ทั้งก่อนกินและหลังกินในช่วงเก็บตัวอย่างสัปดาห์สุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง 7 วันติดต่อกันทุกวัน แล้วนำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีการแบบ Proximate analysis ได้แก่ วัตถุแห้ง (Dry matter, DM) โดยเครื่อง Hot air oven เถ้า (Ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) โดยเครื่องเจลเทค (Kjeltec auto analyser) ไขมันหรือสารสกัดอีเธอร์ (Ether extract, EE) โดยเครื่องซอกเลท (Soxhlet auto analyser) และเยื่อใย (Crude fiber, CF) โดยเครื่องไฟเบอร์เทค (Fibertec auto analyser) (AOAC, 1990) วิเคราะห์เยื่อใยที่ไม่ละลายใน สารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายใน สารฟอกที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) โดยวิธีการดีเทอร์เจนท์ (Detergent method) (Goering and Van Soest, 1970) แล้วคำนวณหาปริมาณการกินได้

3) สมรรถภาพการผลิต

อัตราการเจริญเติบโต (average daily gain, ADG) = $\frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน}}$

4) การสุ่มเก็บตัวอย่างมูล

โดยมีถาดรองรับมูลวางอยู่ใต้กรงเมแทบอลิซึม ทำการชั่งมูลทั้งหมดในถาดรองรับใต้กรงเมแทบอลิซึมจากแพะเนื้อทุกตัวทุกวัน ในช่วง 7 วันสุดท้ายในแต่ละระยะการทดลอง ทำการคลุกเคล้ามูลในถาดรองรับให้ผสมกัน และทำการสุ่มเก็บมูล 10 เปอร์เซ็นต์ ของมูลที่ขับถ่ายออกมาในแพะเนื้อทดลองแต่ละตัว แบ่งมูลออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรกสุ่มมาร้อยละ 40 นำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปคำนวณหาวัตถุแห้ง ส่วนที่ 2 สุ่มมาร้อยละ 40 และนำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและนำไปคำนวณความสามารถในการย่อยได้ตามวิธีการของ Schnieder and Flatt (1975) และส่วนสุดท้าย สุ่มเก็บมาร้อยละ 20 เพื่อนำไปวิเคราะห์หาไข่พยาธิตัวกลม

5) การสุ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

มีถังรองรับปัสสาวะวางอยู่ใต้กรงเมแทบอลิซึม เติมกรดซัลฟูริก เข้มข้น 10เปอร์เซ็นต์ (10 เปอร์เซ็นต์ของ H_2SO_4) ประมาณ 10-20 มิลลิลิตร ในถังเก็บปัสสาวะ เพื่อปรับให้ปัสสาวะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 2 เพื่อป้องกันการสูญเสียของแอมโมเนีย ทำการวัดปริมาตรของปัสสาวะในถังรองรับอยู่ใต้กรงเมแทบอลิซึมจากแพะเนื้อทุกตัวทุกวัน ในช่วง 7 วันสุดท้ายในแต่ละระยะการทดลองและสุ่มเก็บปัสสาวะ10 เปอร์เซ็นต์ของที่ขับถ่าย ในแพะเนื้อทดลองแต่ละตัว เก็บไว้รอให้ครบ 7 วัน ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 7 วันนำปัสสาวะที่เก็บเอาไว้ในแต่ละวันมาผสมกันสุ่มเก็บไว้ 10 เปอร์เซ็นต์ของปัสสาวะที่ทำการผสมแล้วนำมาเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน โดยวิธี Kjedahl method (AOAC, 1990)

6) การศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและนิเวศในกระเพาะหมัก

โดยการเก็บตัวอย่าง rumen fluid ในกระเพาะหมัก (collection of rumen fluid samples) ใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างสุ่มดูดเอาของเหลวในกระเพาะหมักออกมาประมาณ 100-150 มิลลิลิตร/ตัว โดยจะเก็บชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวเพื่อมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก โดยจะทำการศึกษาทุกช่วงการทดลอง (4 ช่วงการทดลอง) ดังต่อไปนี้

การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก ขนาด25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย formaldehyde 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ (total direct count) ได้แก่ แบคทีเรียและโปรโตซัว โดยใช้ Haemacytometer ทำการนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย400 เท่าสำหรับแบคทีเรีย และ 100 เท่าสำหรับโปรโตซัวหรือศึกษาเกี่ยวกับ Microscopic direct count (Galyean, 1989) ซึ่งได้แก่

1) Bacteria count
2) Protozoa count

7) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักประมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เพื่อวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง pH meter และเครื่องวัดจะต้องได้รับการปรับ (calibrate) ด้วยการใช้ buffers ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และ 4.0 ก่อน

8) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N)

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก (test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย 6N HCL ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาส่วนที่ใส (supernatant) ลงในขวดขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาจุกเกลียว แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยวิธีการกลั่นของ Bromner and Keeney (1965)

9) กรดไขมันระเหยได้ (VFAs)

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen fluid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุกขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย 25 เปอร์เซ็นต์ H_2PO_3 จากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเฉพาะส่วนของเหลวใส (supernatant) ลงในขวดขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาจุกเกลียวเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid; VFA) ที่สำคัญ ได้แก่ acetic acid, propionic acid และ butyric acid ด้วยเครื่อง Gas Chromatography; Hewlett Packard GC system HP 6890) (GC)

10) การวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสัตว์ทดลองตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ใส่ในหลอดเก็บเลือดชนิดมีฝาจุก เก็บไว้ในความเย็นก่อนนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่น 0.75 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่แห้งและสะอาด จากนั้นเติมสารตัวอย่าง (ซีรั่มหรือพลาสม่า) ที่เตรียมไว้แล้ว ควรจะมีลักษณะใสไม่มีสี และไม่มีตะกอน จำนวน 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลายไธโอเซมิคาร์บาไซด์ ไดอะซิทิล โมโนซิม (Thiosemicar bazide diacetyl monoxime) 0.4 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดของเกลือเฟอริ คคลอไรด์ (ferric chloride) 4.0 มิลลิลิตร ลงในส่วนผสมดังกล่าว แล้วปั่นหลอดทดลองนี้ให้มีส่วนผสมเข้า กันดีด้วยเครื่องเขย่า (mixer) เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร รวมกับสารละลายในข้อ 1 และ 2 อย่างละ 4.0 มิลลิลิตร เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานยูเรียไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร แทนสารตัวอย่างทำเหมือนข้อ 5 และนำหลอดทดลองลงแช่ในอ่างน้ำเดือด (boiling bath) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นสักครู่ 2-3 นาที ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำ เพื่อไปวัดหาค่าปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 550 นาโนเมตร ตามวิธีการของ Mackay and Mackay (1972)

11) การนับไข่พยาธิโดยวิธีการตรวจหาไข่พยาธิแบบ Floatation technique

หลักการ คือ ทำให้ไข่พยาธิลอยตัวโดยใช้สารละลายที่มีความถ่วงจำเพาะสูงกว่าไข่พยาธิ เช่น น้ำเกลืออิ่มตัว (saturated sodium chloride) โดยนำอุจจาระ 1-5 กรัม ผสมกับน้ำเกลืออิ่มตัว 0.85 เปอร์เซ็นต์ 10-20 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน กรองโดยผ้ากรอง จากนั้นนำสารที่ได้เทใส่หลอดทดลอง (tube) จนเต็มปริ่มพอดี นำ cover slip ปิด โดยให้ผิวของของเหลวสัมผัสกับผิวของ cover slip พอดี (อย่าให้มีฟองอากาศ) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เพื่อให้ไข่พยาธิลอยตัว และนำ cover slip มาวางบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วตรวจหาไข่ปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์จากกำลังขยายต่ำไปสูง

5.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Covariance, ANCOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1985)

5.5 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อาคารเครื่องมือ 1 และอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.6 ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มการทดลองตั้งแต่วันที่ 9 มีนาคม 2550 ถึง 30 พฤศจิกายน 2550

5.7 ผลการทดลอง

5.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหาร

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารหยาบและอาหารข้น ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 5.2 พบว่า ข้าวโพดหมักที่ใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบ มีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ ไขมัน เถ้า เยื่อใย เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด มีค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองเท่ากับ 28.3, 8.1, 0.8, 2.4, 28.5, 62.1 และ 34.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 5.3 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1

องค์ประกอบ (%)	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				
	0%	**10%**	**20%**	**30%**	**ข้าวโพดหมัก**
วัตถุแห้ง	94.6	94.4	94.5	94.9	28.3
โปรตีน	14.4	14.3	14.1	14.2	8.1
ไขมัน	1.3	1.3	1.3	1.4	0.8
เถ้า	8.2	8.1	8.7	8.4	2.4
เยื่อใย	4.2	4.3	4.4	4.3	28.5
NDF	35.0	36.4	37.5	38.8	62.1
ADF	7.9	10.6	13.8	16.5	34.6
% CT	0	1.60	3.19	5.02	-

หมายเหตุ: NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber and CT= condensed tannins

อาหารข้นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มี 4 สูตร (ตารางที่ 5.2) โดยมีสัดส่วนการใช้น้ำมันปาล์ม กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลืองแตกต่างกัน คือ 0.2, 6.6, 3.6 และใบรวมก้านสะเดาที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (วัตถุดิบทั้งหมดรวมกันเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร) ตามลำดับ พบว่า ในกลุ่มที่ มีการ ใช้ใบรวมก้านสะเดาทั้ง 4 ระดับ มีค่าวัตถุแห้งใกล้เคียงกัน คือ 94.6, 94.4, 94.5 และ 94.9 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบเคมีอื่น ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใย ของในแต่ละกลุ่มการทดลองอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน ทุกกลุ่ม มีค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 14.3, 1.32, 8.36 และ 4.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสัดส่วนการใช้ใบรวมก้านสะเดาเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้องค์ประกอบที่เยื่อใยเพิ่มสูงขึ้น ได้แก่ NDF (35.0, 36.4, 37.5 และ 38.8 เปอร์เซ็นต์) และ ADF (7.9, 10.6, 13.8 และ 16.5 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

5.7.2 ปริมาณการกินได้

ปริมาณการกินได้อย่างอิสระของอาหารหยาบและปริมาณการกินได้รวมทั้งหมดตามหน่วยของน้ำหนักสัตว์ทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่มีผลกระทบอันเนื่องมาจากการใช้ใบรวมก้านสะเดา

5.7.2.1 ปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบ

ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อวัน (dry matter; g/d) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) เมื่อศึกษาปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนัก ตัวต่อ วัน (%BW/d) และ น้ำหนัก

เมแทบอลิคต่อวัน (g/kgBW$^{0.75}$/d) พบว่า การกินได้ทั้งสองแบบ ของทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

5.7.2.2 ปริมาณการกินได้ของอาหารข้น

ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อวันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) เมื่อศึกษาปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักต่อวัน (%BW/d) และต่อน้ำหนักเมแทบอลิ คต่อวัน (g/kgBW$^{0.75}$/d) พบว่า การกินได้ทั้งสองแบบ ของทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

5.7.2.3 ปริมาณการกินได้รวมทั้งหมดของวัตถุแห้ง

ปริมาณการกินได้รวมทั้งหมดของวัตถุแห้งต่อวันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) เมื่อศึกษาปริมาณการกินได้รวมทั้งหมดต่อน้ำหนักต่อวัน (%BW/d) และต่อน้ำหนักเมแทบอลิคต่อวัน (g/kgBW$^{0.75}$/d) พบว่า การกินได้ทั้งสองแบบ ของทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 5.4 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง

ปริมาณการกินได้	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
ปริมาณการกินได้อาหารหยาบ/วัน					
กรัม	304.9	309.0	301.2	302.8	7.85
%BW	1.58	1.47	1.45	1.58	0.07
g/kgW$^{0.75}$	32.6	31.8	31.1	32.9	1.25
ปริมาณการกินได้อาหารข้น/วัน					
กรัม	192.0	197.7	198.9	185.7	10.02
%BW	0.95	0.93	0.98	0.98	0.03
g/kgW$^{0.75}$	20.4	20.2	20.5	20.1	0.27
ปริมาณการกินได้รวม/วัน					
กรัม	496.8	506.8	500.0	488.6	13.53
%BW	2.52	2.43	2.43	2.53	0.08
g/kgW$^{0.75}$	53.0	52.0	51.5	53.0	1.00

BW = body weight, BW$^{0.75}$ = metabolic body weight, SEM = standard error of mean

5.7.3 อัตราการเจริญเติบโต (กรัม)

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของแพะตลอดระยะเวลาทดลอง 84 วัน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5.5

ตารางที่ 5.5 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่ออัตราการเจริญเติบโต

อัตราการเจริญเติบโต	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
ADG, g/day	45.5	44.9	46.8	43.6	0.71

ADG = average daily gain, SEM = standard error of mean

5.7.4 ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ

จากการศึกษาโดยวิธีเก็บตัวอย่างทั้งหมด (total collection method) เพื่อศึกษาค่าความสามารถในการย่อยได้ของอาหารทดลองนั้น พบว่า ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง ความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility, OMD) ความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนหยาบ (crude protein digestibility, DCP), neutral detergent fiber digestibility (NDFD) และ acid detergent fiber digestibility (ADFD) ของแพะที่ได้รับอาหารข้นทั้ง 4 สูตรทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 5.6 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ

การย่อยได้ของโภชนะ	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
DMD	61.2	63.4	61.2	59.4	1.42
OMD	65.1	65.0	63.8	62.8	2.40
CPD	65.9	66.2	66.4	64.3	0.96
NDFD	60.8	61.8	62.9	56.2	3.08
ADFD	47.6	48.8	51.6	47.5	2.73

DMD = dry matter digestibility, OMD = organic matter digestibility, CPD = crude protein digestibility, NDFD = neutral detergent fiber digestibility, ADFD = acid detergent fiber digestibility and CT= condensed tannins

5.7.5 ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ดังแสดงในตารางที่ 5.7 พบว่า ประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมักในชั่วโมงที่ 2 และชั่วโมงที่ 6 หลังการให้อาหารกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ มีประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมักสูงกว่ากลุ่ม ควบคุมและกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมักในชั่วโมงที่ 0 และ 4 พบว่า ประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมักต่ออาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ปริมาณของโปรโตซัวภายในกระเพาะหมัก ในเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร พบว่า กลุ่มควบคุมสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 5.7) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในชัวโมงที่ 0 ส่วนปริมาณของโปรโตซัวภายในกระเพาะหมัก ในเวลา 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร ลดลงต่ำสุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 5.7 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

จุลินทรีย์	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
แบคทีเรีย, x10^{10} cells/ml					
0	1.8	1.6	1.8	1.8	0.20
2	1.7^{bc}	1.6^{c}	2.1^{a}	2.0^{ab}	0.09
4	1.5	1.7	2.3	2.4	0.49
6	1.7^{bc}	1.5^{c}	2.2^{a}	1.9^{ab}	0.12
โปรโตซัว, x10^{5} cells/ml					
0	3.0	2.7	3.3	2.9	0.25
2	2.9^{a}	2.5^{ab}	1.8^{b}	2.6^{ab}	0.28

4	2.8[a]	2.5[ab]	1.6[b]	2.5[ab]	0.34
6	2.9[a]	2.6[a]	1.8[b]	2.6[a]	0.21

[a, b and c] = significant different (P<0.05) in row, SEM = standard error of mean

5.7.6 ค่าชีวเคมีในเลือดและนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก

ค่าชีวเคมีในกระแสเลือดที่ทำการวิเคราะห์ศึกษา คือ ความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด (ตารางที่ 5.8) และนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักที่ทำการวิเคราะห์ศึกษา คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยได้ (ตารางที่ 5.9) ของแพะที่ได้รับอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 5.8 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อค่า blood urea nitrogen, pH และปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ใน เวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร

Parameters	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
BUN, mg%					
0	10.9	9.9	10.2	10.6	0.44
2	12.5	12.0	12.5	12.9	0.66
4	16.8	15.8	15.3	15.2	0.71
6	12.9	12.5	11.2	11.1	1.12
pH (h, Post-feeding)					
0	7.2	6.9	7.1	7.2	0.13
2	6.5	6.6	6.6	6.6	0.18
4	6.9	6.7	6.7	6.7	0.18
6	7.2	6.8	6.8	6.8	0.18
NH_3-N, mg%					
0	7.7	7.8	7.6	7.5	0.25
2	9.7	9.4	9.6	9.8	0.11
4	12.2	12.6	10.8	12.5	0.95
6	8.7	8.4	8.6	8.8	0.14

BUN = blood urea nitrogen and NH_3-N = ammonia nitrogen

ตารางที่ 5.9 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อค่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ของของเหลวจากกระเพาะหมัก ในเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร

Parameters	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
Acetic acid, mol/100 mol					
0	74.8	75.3	72.7	72.4	2.41
2	72.5	74.0	72.4	73.0	1.62
4	75.7	76.5	71.3	72.9	1.51
6	74.5	74.5	72.5	73.9	1.42
Propionic acid, mol/100 mol					
0	17.6	16.9	18.4	18.5	1.46
2	20.2	19.1	20.0	19.8	2.02
4	17.3	17.2	20.0	19.8	1.79
6	17.3	18.1	19.1	19.1	1.76
Butyric acid, mol/100 mol					
0	7.7	7.8	8.9	9.1	1.10
2	7.4	6.9	7.9	7.2	0.98
4	7.1	6.3	8.8	7.3	1.22
6	8.3	7.4	8.3	7.0	0.88
C2/C3 (ratio)					
0	4.3	4.5	4.0	4.0	0.42
2	4.1	4.4	3.9	4.2	0.41
4	4.6	4.9	3.7	4.2	0.39
6	4.5	4.5	3.9	4.2	0.37
Total VFA (mM/L)					
Mean	46.5	55.8	59.9	59.8	4.80

C2/C3 = acetic acid/propionic acid ratio, (mM/L = มิลลิโมลาร์ต่อลิตร)

ตารางที่ 5.10 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อความสมดุลไนโตรเจน (N-balance)

Parameters	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
Nitrogen Intake g/d	8.6	8.2	8.5	8.1	0.26
Feces Nitrogen g/d	3.0	2.9	2.7	2.9	0.35
Urine Nitrogen g/d	3.6	2.7	2.6	2.9	0.50
Nitrogen Absorption g/d	5.6	5.5	5.6	5.3	0.47
Nitrogen Absorption %	65.6	66.4	66.3	64.3	4.73
Nitrogen retention g/d	2.0	2.6	3.2	2.3	0.92

5.7.7 ความสมดุลไนโตรเจน

จากผลการทดลอง ปริมาณไนโตรเจนที่แพะได้รับ การขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลองไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) และไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการดูดซึมไปใช้ประโยชน์และปริมาณไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกาย แสดงไว้ในตารางที่ 5.10

5.7.8 จำนวนไข่พยาธิตัวกลม

พบจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารในมูลแพะ 1 กรัม ก่อนเข้าการทดลอง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยหลังได้รับยาถ่ายพยาธิชนิด Ivermectin แล้วไม่พบว่ามีจำนวนไข่พยาธิที่แตกต่างกัน (P>0.05) ทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง ส่วนจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะช่วง 7 วันสุดท้ายหลังได้รับใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ตามสัดส่วนของใบรวมก้านสะเดาที่บริโภคเพิ่มขึ้นเท่ากับ 309 (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นทดลองที่ใช้ใบรวมก้านสะเดา 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีค่าเท่ากับ 276, 256 และ 249 ตามลำดับ (ตารางที่ 5.11) แต่ความสัมพันธ์ของ กลุ่มที่ 4 กลับไม่ได้ส่งผลให้ไข่พยาธิลดลงต่ำที่สุดตามสัดส่วนใบรวมก้านสะเดาสูงสุดที่ผสมในอาหาร และไม่พบผลที่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ยา Ivermectin (ตารางที่ 5.11)

สำหรับการรายงานผลของตัวแปร นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of covariance, ANCOVA) เนื่องจากไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ (analysis of covariance, ANOVA) ตามปกติ

ตารางที่ 5.11 ผลของระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูล (ฟองต่อมูล 1 กรัม)

Parameters	ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร				SEM
	0%	10%	20%	30%	
ก่อนได้รับใบรวมก้านสะเดา	363[ab]	370[ab]	379[a]	355[b]	5.66
หลังการถ่ายพยาธิ 14 วัน	306	269	224	245	31.62
ได้รับใบรวมก้านสะเดา	309[a]	276[b]	256[c]	249[c]	5.19

[a, b] and [c] = significant different (P<0.05) in row, SEM = standard error of mean

5.7.9 ผลตอบแทนทางการเงินจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อ

เมื่อพิจารณาถึงผลตอบแทนทางการเงิน แสดงไว้ในตารางที่ 5.12 แพะทั้ง 4 กลุ่มทดลอง ให้ผลตอบแทนทางการเงิน คือ 1,026.14, 1,129.29, 1,243.27 และ 1,128.34 บาท ตามลำดับ โดยคิดต้นทุนราคาอาหารข้นและหยาบจากราคาซื้อขายวัตถุดิบจริง โดยราคาอาหารข้นทั้งหมดคิดจากราคารับซื้อวัตถุดิบจริงจากหน้าโรงงานอาหารสัตว์ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ส่วนราคาอาหารหยาบบรรจุใส่ถุงพลาสติก 30 กิโลกรัม ๆ ละ 0.96 บาท คิดจากราคารับซื้อจริงในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และใบรวมก้านสะเดาราคากิโลกรัมละ 3.50 บาท โดยสอบถามราคาจากเกษตรกรในอำเภอสูงเนิน จังหวัดนครราชสีมา ขณะที่การทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการเชือดแพะ รายได้จากการขายซากแพะ (ร่างแช่แข็ง) จึงอาจต้องเทียบเป็นราคาที่ประมาณจากน้ำหนักซากของแพะเนื้อในช่วงอายุเดียวกันหรือน้ำหนักตัวที่มีชีวิตใกล้กันและคิดเทียบเป็นจำนวนเงินกับราคาซื้อขายเนื้อแพะกิโลกรัมละ 55 บาท ส่วนรายได้จากการขายแพะเนื้อมีชีวิตคิดจากน้ำหนักจริงในแต่ละกลุ่มการทดลอง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,281.50, 1,367.85, 1,459.15 และ 1,312.30 บาทต่อตัว ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม อาหารข้นทดลองที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา และมีข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ สามารถใช้เลี้ยงแพะเนื้อได้ดีเท่า ๆ กับแพะเนื้อที่ได้รับอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ มีผลตอบแทนทางการเงินสูงสุด ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร จึงสามารถใช้เป็นส่วนประกอบพืชโปรตีนที่

เป็นประโยชน์ในอาหารข้นทดลองที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบได้ และเป็นแนวทางเลือกสำหรับกลุ่มผู้เลี้ยงแพะเนื้อในอนาคต

ตารางที่ 5.12 ผลตอบแทนทางการเงินจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนในระดับต่าง ๆ

Parameters	**ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร**			
	0%	**10%**	**20%**	**30%**
น้ำหนักตัวแพะโดยเฉลี่ย (กก.)	23.30	24.87	26.53	23.86
รายได้จากการขายแพะเนื้อ (น้ำหนักมีชีวิต) (บาทต่อตัว)	1,281.50	1,367.85	1,459.15	1,312.30
ปริมาณการกินได้อาหารข้น (กก./ตัว/วัน)	0.384	0.395	0.398	0.371
ปริมาณการกินได้อาหารหยาบ (กก./ตัว/วัน)	0.610	0.618	0.6.2	0.605
ราคาอาหารข้น (บาท/ กก.)	6.43	5.95	5.52	5.09
ราคาอาหารหยาบ (บาท/กก.)	0.96	0.96	0.96	0.96
รายจ่ายค่าอาหารข้น (บาท/วัน)	2.46	2.35	2.20	1.89
รายจ่ายค่าอาหารหยาบ (บาท/วัน)	0.58	0.59	0.58	0.58
รวมรายจ่ายค่าอาหารสัตว์ (บาท/วัน)	3.04	2.94	2.78	2.47
รวมรายจ่ายค่าอาหารสัตว์ (ตลอดช่วงการทดลอง)	255.36	246.96	233.52	207.48
ผลตอบแทน	1,026.14	1,120.89	1,225.63	1,104.82

น้ำหนักแพะโดยเฉลี่ย (กก.) คิดจากแพะทุกตัวทุก treatment, รายได้จากการขายแพะ เนื้อขณะมีชีวิต = เป็นราคาที่ไม่ได้รวมค่ายารักษาโรค การจัดการและการดูแลรักษาอื่น ๆ , ต้นทุนค่าอาหารข้น = คิดจากราคาซื้อขายวัตถุดิบจริงหน้าโรงงานอาหารสัตว์ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, ต้นทุนค่าอาหารหยาบ = คิดจากราคารับซื้อจริงในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (ราคาอาหารหยาบบรรจุใส่ถุงพลาสติก 30 กิโลกรัม ๆ ละ 0.96 บาท), ต้นทุนค่าใบรวมก้านสะเดา = สอบถามราคาจากเกษตรกรในอำเภอสูงเนิน จังหวัดนครราชสีมา (ราคากิโลกรัมละ 3.50 บาท), ราคาซื้อขายเนื้อแพะ = คิดจากราคาซื้อขายภายในจังหวัดนครราชสีมา (ราคากิโลกรัมละ 55 บาท)

5.8 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารข้นทั้ง 4 สูตรในครั้งนี้ พบว่า วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ ไขมัน เถ้า เยื่อใย และเยื่อใย ที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง มีค่าใกล้เคียงกัน และผลของการลดการใช้กากถั่วเหลืองด้วยใบรวมก้านสะเดาไม่ทำให้ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ ไขมัน เถ้า เยื่อใย เยื่อใย ที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (NDF) ของแต่ละปัจจัยการทดลอง เปลี่ยนแปลง แต่มีผลทำให้องค์ประกอบที่เป็น เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (ADF) และ ปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน เพิ่มขึ้นตามองค์ประกอบทางเคมีของใบรวมก้านสะเดาที่มีเยื่อใยใน ระดับสูง สอดคล้องกับ เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) ที่ทำการศึกษาทดลองความสัมพันธ์ของ ปริมาณ ADF ของกระถินทั้งสามสายพันธุ์ Ivory Coast, Cunningham และ Salvador โดยพบว่าใบที่ รวมกิ่งก้านแก่จะมี ADF สูง ซึ่ง ADF เป็นส่วนประกอบของ cellulose และ lignin (เมธา วรรณพัฒน์, 2529) ที่มีลักษณะคล้ายกับปริมาณ NDF กล่าวคือ จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อพืชมีอายุ มากขึ้น ทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบของเซลล์ (cell content) ลดลง โดยพบว่า แทนนินเป็น สารประกอบฟีนอลลิคเช่นเดียวกับลิกนิน จัดเป็นสาร ทุติยภูมิ (secondary plant) จึงพบ lignin มาก ขึ้นเมื่อพืชอายุมากขึ้น คล้ายกับปริมาณ NDF และ ADF ซึ่งพบว่า ปริมาณ ADF กับแทนนินมีความ สัมพันธ์ต่อกัน

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่นำมาทำเป็นสูตรอาหารข้นผสมมาจากการ คำนวณสูตรอาหารและสัดส่วนของวัตถุดิบแต่ละชนิด ซึ่งไม่เท่ากันในแต่ละสูตร โดยเลือกใช้ วัตถุดิบทั้งแหล่งพลังงานและโปรตีน แร่ธาตุ และแหล่งพลังงานและโปรตีนเสริมอื่น ได้แก่ กากมัน สำปะหลัง รำละเอียด กากถั่วเหลือง ใบรวมก้านสะเดา กากน้ำตาล ยูเรีย กำมะถัน เกลือ พรีมิกซ์ และน้ำมันปาล์ม วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารข้นทดลอง งทุกสูตรถูกปรับให้มี โปรตีน (isonitrogenous) และพลังงานเท่ากัน (isocaloric) จึงทำให้ต้องมีการเพิ่มและลดระดับการ ใช้วัตถุดิบบางตัวลงในสัดส่วนที่เท่า ๆ กัน ส่วนการใช้พรีมิกซ์ในระดับสูงกว่าสูตรอาหารข้นทั่ว ๆ ไป พบว่า การคำนวณสูตรอาหารในส่วนนี้สามารถเพิ่มเติมได้โดยตรงหากอาหารมีพลังงานพอ เพราะใช้ปริมาณเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้โภชนะที่ให้พลังงานยังแตกต่างจากโภชนะอื่น เช่น วิตามิน เกลือแร่และพรีมิกซ์ ในแง่ที่ว่าสัตว์มักตอบสนองต่อปริมาณพลังงานและโปรตีนอย่างเห็น ได้ชัด เช่น ในการขุนโค ถ้าให้สัตว์ได้รับโภชนะอื่น ๆ ตามความต้องการเพื่อเพิ่มน้ำหนักตัวที่ระดับ หนึ่ง เช่น 500 กรัมต่อวัน การเพิ่มปริมาณวิตามินเอ เป็น 2 เท่าของความต้องการ ไม่มีผลทำให้ น้ำหนักตัวของโคเพิ่มขึ้น (แม้ว่าจะทำให้วิตามินเอจะถูกสะสมไว้ในร่างกายเพิ่มขึ้น) แต่ถ้าสัตว์ ได้รับพลังงานเพิ่มขึ้น มักจะมีการเพิ่มน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ฉะนั้นอาจกล่าวได้ว่าปริมาณพรีมิกซ์ที่ ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารข้นทดลองที่สัตว์ได้รับไม่ได้เป็นตัวบ่งบอกถึงผลผลิตได้

ตลอดจนการลดระดับการใช้กากมันสำปะหลังและกากถั่วเหลืองลงของทุก ๆ สูตรอาหาร ในการทดลองครั้งนี้ โดยมีสัดส่วนการใช้น้ำมันปาล์ม กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลืองแตกต่างกันประมาณ 0.2, 6.6, 3.6 และใบรวมก้านสะเดาที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (วัตถุดิบทั้งหมดรวมกันเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร) ตามลำดับ ก็เพื่อให้อาหารข้นทดลองทุกสูตรมีโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ซึ่งกากมันสำปะหลังจัดว่าเป็นวัตถุดิบประเภทพลังงาน แต่มีโปรตีนและไขมันต่ำมาก (Khajaraen, Khajaraen, Bunsiddhi, and Sakiya, 1979) ซึ่งจากรายงานของชวนิศนดากร วรวรรณ (2500) รายงานว่า สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ 20 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปิตุนาถ หนูเสน (2547) รายงานว่า สามารถนำมาใช้ได้สูงถึง 45 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุมาจากความฟ่ามของกากมันสำปะหลังเมื่อผสมในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น อาจทำให้สัตว์กินได้น้อยลง และเวียงสกุล นาประเสริฐ , กฤตพล สมมาตย์ และ สุรเดช พลเสน (2548) ไม่พบว่าการใช้กากมันสำปะหลัง 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรีย์วัตถุ นอกจากนี้ระดับของกากมันสำปะหลังไม่มีผลต่ออัตราการกินได้เมื่อมีกากน้ำตาลร่วมด้วย และการที่ กากมันสำปะหลังและใบรวมก้านสะเดามีเปอร์เซ็นต์ โปรตีนและ ไขมันค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการใช้น้ำมันปาล์ม ในการทดลองนี้ซึ่งมีองค์ประกอบของไขมันและพลังงานสูง นอกจากจะเป็นแหล่งพลังงานแล้ว จึงมีส่วนช่วยในการหล่อลื่นอาหารขณะที่สัตว์กินเข้าไปอีกด้วย เพิ่มความน่ากินเพราะแทนนินในสะเดามีรสขมและเฝื่อน นอกจากนี้จากการศึกษาน้ำมันพืชต่อประสิทธิภาพรูเมนและการผลิตในโครีดนมที่ระดับ 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้รับฟางหมักยูเรียของ เชาวฤทธิ์ มาปะโท (2551) พบว่า อิทธิพลของแหล่งอาหารหยาบและระดับน้ำมันเมล็ดทานตะวันไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนหยาบ ไขมัน และผนังเซลล์ ค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิในกระเพาะหมัก จำนวนประชากรของแบคทีเรียย่อยโปรตีนและสลายแป้งและผลผลิตน้ำนมของโคนม ขณะที่โคนมที่ได้รับการเสริมน้ำมันทานตะวันที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ประชากรแบคทีเรียและโปรโตซัวลดลง อาจเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวปริมาณสูงที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดทานตะวัน กรดไขมันจะเข้าไปห่อหุ้มผิวเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้รบกวนการดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ ให้ผิดปกติและจุลินทรีย์จึงตายในที่สุด สอดคล้องกับ Machmuller, Ossowski, Wanner, and Kreozer (1998) รายงานว่า การเสริมน้ำมันเมล็ดทานตะวันในระดับสูงสามารถลดจำนวนโปรโตซัวได้ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยส่งผลกระทบต่อการขนส่งสารอาหารต่าง ๆ เข้า -ออกเซลล์ นอกจากนี้ Ivan, Mir, Koenig, Rode, Neil, and Mir (2001) รานงานว่า การเสริมน้ำมันเมล็ดทานตะวันระดับสูงที่ 6 ถึง 8 เปอร์เซ็นต์ในอาหารแพะ ทำให้จำนวนโปรโตซัวลดลงจาก 1 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 2 แสนเซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใน 6 วัน แต่ไม่มีผลต่อสมรรถนะการผลิต อย่างไรก็ตาม เชาวฤทธิ์ มาปะโท (2551) พบว่า จำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายแป้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาจเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ เช่น *Selenomonas ruminantium*, *Propionibacterium acidipropionici* และ

Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermannii สามารถใช้ประโยชน์จากไขมัน (Himmi, Bories, Noussaid, and Hassani, 2000) รวมทั้งระดับค่าความเป็นกรด -ด่างยังอยู่ในช่วงปกติ จึงไม่มีผลต่อแบคทีเรียกลุ่มนี้

โดยในการประกอบสูตรอาหารครั้งนี้จึงยังคงต้องใช้วัตถุดิบโปรตีนสูงเป็นแหล่งโปรตีน ซึ่งวัตถุดิบที่มีโปรตีนสูง ได้แก่ กากถั่วเหลือง เนื่องจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีทางโปรตีนของใบรวมก้านสะเดาเปรียบเทียบกับการค้นคว้าเอกสารวิจัยทางวิชาการ พบว่า ใบรวมก้านสะเดาไม่สามารถทดแทนการใช้กากถั่วเหลืองได้หมด เพราะไม่ได้มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเทียบเท่ากับกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนเช่นเดียวกัน ดังนั้นในสูตรอาหารจึง มีการใช้รำละเอียดและยูเรียเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารร่วมด้วย ซึ่งน่าจะมีส่วนช่วยลดการใช้กากถั่วเหลืองที่มีราคาแพงลงได้ และช่วยให้แพะได้รับอาหารประเภทโปรตีน ชนิดอื่น ได้ดีกว่าการใช้ใบรวมก้านสะเดาเพียงอย่างเดียว และแน่นอนว่าการใช้กากมันสำปะหลังที่มีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมักเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้กับจุลินทรีย์นั้นสามารถใช้ประโยชน์ได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับแหล่งโปรตีนอื่นที่ถูกย่อยสลายได้เร็ว ส่งผลให้จุลินทรีย์ได้รับพลังงานและไนโตรเจนเพียงพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์ต่อไป

อย่างไรก็ตาม การทดลองครั้งนี้ไม่พบว่า การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของวัตถุดิบในสูตรอาหารนี้ ได้แก่ กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง และน้ำมันปาล์ม จะมีผลกระทบต่อ ระบบนิเวศในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตของแพะเนื้อ โดยรวม เนื่องจากไม่มีรายงานใดพบว่ามีคอนเดนซ์แทนนินในวัตถุดิบดังกล่าว และการใช้วัตถุดิบดังกล่าวในสัดส่วนต่าง ๆ ก็ไม่ได้ส่งผลทำให้ปริมาณการกินได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยได้ และอัตราการเจริญเติบโตลดลง หากเป็นผลมาจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาที่มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร สำหรับใบรวมก้านสะเดา มีโปรตีนสูงเฉลี่ยประมาณ 13-35 เปอร์เซ็นต์ Neem Foundation (1980-2008) สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริม คุณภาพดี เป็นพืชสมุนไพรไทยที่ ประกอบด้วยคอนเดนซ์แทนนินสูง (Ghimeray, Jin, Ghimire, and Cho, 2009; Kirtikar and Basu, 1980) ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนด้วยการปกป้องการย่อย สลายได้ของโปรตีนของอาหารในกระเพาะหมักสูง เนื่องจากการวิเคราะห์หาค่าแทนนินที่มีอยู่ในใบพืชสามารถนำมาอธิบายความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักได้ เนื่องจากแทนนินจะจับโปรตีนกลายเป็นโปรตีน -แทนนินสามารถไหลผ่านกระเพาะหมักดังที่ได้กล่าวมาแล้ว เหมาะที่จะนำมาใช้เลี้ยงแพะเนื้อเพื่อ ลดต้นทุนจากการใช้กากถั่วเหลืองในสูตรอาหารลง ซึ่ง เมธา วรรณพัฒน์ (2540) ได้รายงานถึงบทบาทของแทนนินในพืชอาหารสัตว์จาก McLeod (1974) โดยถ้ามีแทนนินในพืชอาหารสัตว์ระดับต่ำถึงปานกลาง (20-40 g/kg DM) จะป้องกันการเกิดโรคท้องอืด ช่วยป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมักและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กและเพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่

จำเป็น Reed (1995) และ Makkar (2000) นอกจากนี้ยังสามารถลดประชากรโปรโตซัว (Klita, Mathison, Fenton, and Hardin, 1996; Hu, Liu, Ye, Wu, and Guo., 2005a; Hu, Xia, Xiong, and Xu, 2005b; Hu and Xia, 2006) และไข่พยาธิในมูลแพะเนื้อด้วย (Niezen et al., 1995; Min and Hart, 2003)

ในการทดลองครั้งนี้ การใช้ใบรวมก้านสะเดาประกอบสูตรอาหารทดลองในระดับต่าง ๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อ ปริมาณการกินได้ วัตถุแห้งต่อวัน สอดคล้องกับรายงานของ Wina, Muetzel and Becker (2005b) เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีความเข้มข้นของแทนนินเพิ่มขึ้นที่ระดับ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับรายงานของ Klita, Mathison, Fenton, and Hardin (1996) ที่ใช้พืชที่มีซาโปนินเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารเลี้ยงแกะระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง พบว่า ไม่มีผลต่อกระทบต่อปริมาณการกินได้ (ซาโปนินจัดเป็น secondary compounds ที่พืชสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติ เพื่อป้องกันการทำลายของเชื้อก่อโรค เช่นไวรัส แบคทีเรีย รา และศัตรูพืช มีคุณสมบัติคล้ายแทนนิน) และจากการเสริม Yucca บดในอัตรา 20-60 กรัมต่อวันในโครุ่นสาว พบว่า การกินได้ของวัตถุแห้งไม่แตกต่างจากกลุ่มไม่เสริมและไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะหมักและอัตราการไหลผ่านของอนุภาคอาหาร (Hristov, McAllister, Van Herk, Cheng, Newbold, and Cheeke, 1999; Hess, Monsalve, Lascano, Carulla, Diaz, and Kreuzer, 2003) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับที่ Wu et al. (1994) และ Sliwinski, Soliva, Machmüller, and Kreuzer (2002) รายงานไว้ว่าการเสริมสารสกัดแทนนินใน Yucca 8 กรัมต่อตัวต่อวัน และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ไม่มีผลต่อความถี่ในการบีบตัวของกระเพาะหมักทั้งส่วนของกระเพาะหมักและกระเพาะรังผึ้ง (recticulum) (Klita, Mathison, Fenton, and Hardin, 1996) เนื่องจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาไม่ได้ส่งผลทำให้ระดับเยื่อใยในสูตรอาหารลดลง หรือลดประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร เพราะผลดังกล่าวทำให้อาหารผ่านจากกระเพาะหมักเร็ว เป็นเหตุให้การกินได้สูงขึ้น จึงทำให้ การใช้ใบรวมก้านสะเดาประกอบสูตรอาหารทดลองนี้ไม่มีผลกระทบต่อการกินได้ของแพะเนื้อ ทั้งนี้ ปราโมทย์ แพงคำ และโอภาส พิมพา (2544) รายงานว่า ความเป็นไปได้ในการใช้แทนนิน จึงควรอยู่ระหว่าง 2-4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งอาหาร เนื่องจากเป็นระดับที่ไม่มีผลกระทบต่อการกินได้ของสัตว์ ด้วยแทนนินเป็นสารที่ทำให้เกิดรสฝาดหรือขม (พรรณิภา ชุมศรี, 2523) ประกอบกับอาหารทดลองเป็นแบบผสมด้วยมือ มีลักษณะเป็นฝุ่น มีส่วนประกอบของกากมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นอาหารที่มีไขมันต่ำ จะมีความน่ากินต่ำ สัตว์กินได้น้อย การทดลองนี้จึงมีการใช้ร่วมกับวัตถุดิบอาหารที่เป็นน้ำมันปาล์มที่มีไขมันสูง เพื่อช่วยให้อาหารมีความน่ากินยิ่งขึ้น ลดผลกระทบในเชิงลบต่อการกินได้ หากใช้แทนนินในระดับที่สูง (5-9 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งอาหาร) พบว่าอาหารมีความน่ากินต่ำและทำให้การกินได้และน้ำหนักตัวของสัตว์ลดลง อย่างไรก็ตาม Teferedegne, McIntosh, Osuji, Odenyo, Wallace, and Newbold (1999) พบว่าการเลี้ยงแกะด้วย *Sesbania sesban* พืชในตระกูล

Sapindaceae ที่มีซาโปนิน ด้วยอัตรา 200 กรัมต่อวัน พบว่าเพิ่มการกินได้ของวัตถุแห้ง เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้นมากกว่า 4 วันขึ้นไป ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระเพาะหมักของสัตว์สามารถปรับตัวได้ และภายในกระเพาะหมักมีการแปรปรวนสูง ทำให้ซาโปนินมีผลในระยะเวลาสั้นเท่านั้น ประมาณสัปดาห์แรกของการเสริมอาหาร หากระยะยาวนานขึ้นกระบวนการหมักก็จะกลับคืนสู่สภาพปกติ (Wang et al., 1998) หรืออาจเป็นเพราะสัดส่วนอาหารหยาบและอาหารข้นที่เหมาะสมจะทำให้เกิดความสมดุลของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ทำให้เกิดรูปแบบของกระบวนการหมักที่เหมาะสม ส่งผลต่ออัตราการไหลผ่านออกของอาหารไปยังกระเพาะแท้และลำไส้เล็กเพิ่มมากขึ้น หรือเพิ่ม retention time ของอาหารในกระเพาะหมัก ทำให้สัตว์สามารถกินอาหารได้มากขึ้นตามไปด้วย (Kennedy and Nolan, 1992; McSweeney, Palmer, Krause, and Brooker, 1999; McSweeney, Palmer, McNeill, and Krause, 2001) รวมถึงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาของกระเพาะหมัก Church (1979) รายงานไว้ว่า สัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีความจุกระเพาะหมักและกระเพาะรังผึ้งมากกว่าเมื่อเทียบจากน้ำหนักตัวนั้นมีผลให้ความสามารถในการกินได้สูงกว่า (จรัญ จันทลักขณา, 2527) อย่างไรก็ตาม การกินได้ของวัตถุแห้งในสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นผันแปรไปตาม ขนาด ชนิดของอาหาร และระดับของโปรตีนตลอดจนระดับเยื่อใยของอาหารที่สัตว์ได้รับและชนิดและสภาพร่างกายของสัตว์ (Kearl, 1982)

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ของแพะที่ใช้ในการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง สอดคล้องกับ Min and Hart (2003) รายงานไว้ว่า แกะที่ได้รับอาหารจากพืช *Medicago sative* (Lucerne) และ *Hedysarum cornarium* ที่มีคอนเดนซ์แทนนินระดับ 1.5 และ 110 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง ไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต และไม่พบว่าน้ำหนักขณะมีชีวิต (live weight, g/d) มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับ Jones, Broadhurst and Lyttleton (1976) และ Holmes (1976) รายงานตรงกันว่า โคที่ได้รับอาหารที่มีกระถิน เป็นส่วนประกอบน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (CT เท่ากับ 1.7-3.7 เปอร์เซ็นต์ของอาหารวัตถุแห้ง) ไม่ส่งผลใด ๆ แก่ตัวสัตว์ถึงแม้ว่าจะได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีความสัมพันธ์กับปริมาณการกินได้ของสัตว์ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ปริมาณการกินได้ของแพะทดลองไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับงานทดลองของ Kibria, Nahar, and Mia (1994) ได้ทำการทดลองใช้ใบพืชชนิดต่าง ๆ ที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ใบกระถิน ใบขนุน ใบมะม่วงและใบฝรั่งให้แพะพันธุ์แบลคเบงกอลเพศผู้ตอนในรูปสด พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของแพะกลุ่มที่ได้รับใบกระถิน ใบขนุน และใบมะม่วง เท่ากับ 52.8, 43.9 และ 6.4 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ ส่วนแพะกลุ่มที่ได้รับใบฝรั่งพบว่ามีน้ำหนักตัวลดลงเท่ากับ 3.9 กรัมต่อตัวต่อวัน ทั้งนี้เนื่องจากจากอัตราการกินได้ของแพะกลุ่มที่กินใบฝรั่งต่ำมาก (73 กรัมต่อตัวต่อวัน) ในขณะที่ใบขนุนมีอัตราการ

กินได้สูงที่สุด (400 กรัมต่อตัวต่อวัน) ในขณะที่กระถินมีอัตราการกินได้เท่ากับ 320 กรัมต่อตัวต่อวัน ขณะที่ เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของแทนนินจากกระถินสดร้อยละ 0, 50 และ 100 ในแพะลูกผสมพันธ์พื้นเมือง-แองโกลโนเบียน ช่วงอายุ 1 และ 2 ปี หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองเป็นเวลา 90 วัน พบว่า อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน) ของกลุ่มที่ได้รับกระถินสดในสัดส่วนร้อยละ 100 มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับยาถ่ายพยาธิ และกลุ่มที่ได้รับกระถินสดในสัดส่วนร้อยละ 50 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักตัวเริ่มต้นของแพะทดลองช่วงอายุ 1 ปี กลับพบว่ากลุ่มที่ได้รับกระถินสดในสัดส่วนร้อยละ 100 มีน้ำหนักเริ่มต้นต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับกระถินสดในสัดส่วนร้อยละ 50 และกลุ่มที่ได้รับยาถ่ายพยาธิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่จากผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกระถินทดลองแสดงให้เห็นว่า ระดับโปรตีนที่เพียงพอทำให้แพะช่วงอายุ 1 ปี ที่ได้รับกระถินเป็นอาหารในสัดส่วนร้อยละ 50 และ 100 มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ที่ได้รับอาหารข้นกับหญ้าสด ซึ่งงานวิจัยจำนวนไม่น้อยที่รายงานถึงผลของแทนนินต่ออัตราการเจริญเติบโตของสัตว์เนื่องจากแทนนินมักส่งผลเด่นชัดให้น้ำหนักตัวของสัตว์ลดลง สาเหตุจากปริมาณการกินได้ที่ลดลงในขณะที่โคที่กินอาหารที่มีกระถินเป็นส่วนประกอบมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (50-75 เปอร์เซ็นต์) ในอาหารติดต่อกัน นานมากกว่า 6 เดือน โคจะเกิดอาการขนร่วง น้ำหนักตัวลดลง มี อาการท้องอืด ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้งและโปรตีนลดลง อัตราการกินและอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Jone et al., 1976; Holmes, 1976) อาการดังกล่าวอาจมีผลมาจากทั้งแทนนินและสารไมโมซิน (mimosine) ที่พบมากในใบกระถิน (Andrew, 1995) สารไมโมซินจะมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ต่าง ๆ เช่น wool follicular bulb cell ทำให้เกิดอาการขนร่วง แต่ก็พบว่าการเลี้ยงแพะด้วยกระถินสดเป็นอาหารหยาบในสัดส่วนร้อยละ 50 และ 100 ของอาหารไม่พบว่าแพะแสดงอาการเป็นพิษจากไมโมซิน (Jones and Megarrity, 1986) เห็นได้ว่าแทนนินต่างก็เป็นทั้งประโยชน์และโทษต่อตัวสัตว์ ฉะนั้นการเสริมพืชที่มีแทนนินในการเลี้ยงสัตว์ปริมาณสูงอาจเป็นผลเสียต่อตัวสัตว์ (ปราโมทย์ แพงคำ และ โอภาส พิมภา , 2546) โดยเฉพาะเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์และสรีรวิทยา เช่น การเปลี่ยนไปของอัตราการกินอาหาร การเพิ่มการผลิตน้ำลาย ผิวหนัง และทำให้การกินได้ การย่อยได้ อัตราการเจริญเติบโตและการเคลื่อนที่ของกระเพาะหมักลดลง เนื่องจากอาจมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์

ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (DM) อินทรีย์วัตถุ (OM) โปรตีนหยาบ (CP) และเยื่อใย (NDF และ ADF) ในทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สอดคล้องกับ EL Hag and Greenhalgh (1982) รายงานไว้ว่า สัตว์ที่ได้รับการเสริมอาหารข้นและหยาบในสัดส่วนที่เหมาะสมนั้น จะทำให้สัตว์ได้รับปริมาณโปรตีนและพลังงานที่เพียงพอ ทำให้เกิดกระบวนการหมักอย่างเหมาะสมภายในกระเพาะหมัก ส่วนการย่อยได้ของโปรตีนนั้นจะขึ้นอยู่กับระดับของ

โปรตีนในอาหารด้วย (Schnieder and Flatt, 1975) ทั้งนี้ในสูตรอาหารทดลองได้มีการปรับระดับโปรตีน (isoprotein) และระดับพลังงาน (isocaloric) ให้สัตว์ได้รับเท่ากัน จึงทำให้ระดับของอาหารข้นและหยาบในการทดลองนี้ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของการย่อยได้โภชนะ เนื่องจากสัตว์จะอาศัยความสามารถในการย่อยจากจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก เข้าย่อยสลายอาหารที่ผ่านไปในกระเพาะหมัก ซึ่งความสามารถในการย่อยอาหารได้ของจุลินทรีย์จะสัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์ในเชิงบวก นอกจากนี้ Song and Kenelly (1990) พบว่า ระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักก็มีส่วนช่วยในการย่อยได้ของโภชนะด้วย พบว่า เมื่อระดับแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจะทำให้การย่อยได้ของวัตถุแห้งเพิ่มขึ้น ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ ค่าแอมโมเนียไนโตรเจนของแพะทดลองไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง จึงทำให้การย่อยได้ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบการย่อยได้ในแพะเนื้อกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีความเป็นไปได้ของค่าการย่อยได้ของโภชนะที่เป็นเยื่อใยและโปรตีนสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลอง และในแพะเนื้อกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีปริมาณจำนวนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นหลังจากการให้อาหาร จึงไม่ได้ทำให้ ประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยของแบคทีเรียในกระเพาะ หมักลดลง ซึ่งอาจอนุมานว่ามีประชากรแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายอาหารเยื่อใยรวมทั้งกลุ่มที่ใช้ประโยชน์ได้จากโปรตีนสูงกว่ากลุ่มอื่น แสดงว่าการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารยังคงเป็นระดับที่เหมาะสมที่ไม่มีผลกระทบเชิงลบหรือไปลดจำนวนประชากรแบคทีเรียลงจนทำลายสมดุลของระบบนิเวศของกระเพาะหมัก ทำให้แพะยังคงมีความสามารถในการย่อยสลายอาหารได้สูงกว่า ทำให้ได้รับโภชนะเพิ่มขึ้น มีผลคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Pradham (1994) พบว่ากระบือปลักมีประชากร cellulolytic bacteria สูงกว่าโคและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอาหารเยื่อใยได้ดีกว่าโคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จำนวนแบคทีเรียจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ในชั่วโมงที่ 0 และ 4 ของอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ($P>0.05$) ค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรีย เท่ากับ 1.8 และ 2.0×10^{10} cells/ml ซึ่งมากกว่าโครุ่นสาวที่ได้รับแทนนินอัตรา 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (0.01 เปอร์เซ็นต์) ในอาหาร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.0×10^{9} cells/ml (Sliwinski et al., 2002) สอดคล้องกับรายงานของ Hess et al. (2003) ที่ศึกษาพืชที่มีซาโปนินสูง (soapberry) แบบ *in vitro* อัตรา 100 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร (0.1 เปอร์เซ็นต์) ในอาหาร ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.3×10^{9} cells/ml ซึ่งไม่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรีย ทั้งนี้ความแตกต่างของอาหารและโภชนะที่สัตว์ได้รับจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก จะเห็นได้ว่าในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร จำนวนประชากรโปรโตซัวในกลุ่มที่มีใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้นทดลองลดลงตามระดับใบรวมก้านสะเดาที่สูงขึ้นและลดลงต่ำสุดในกลุ่มที่มีใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้นทดลองระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียในกระเพาะหมักมากขึ้น โดยพบความ

แตกต่างกันทางสถิติของจำนวนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 2 และ 6 หลังการให้อาหาร อาจเป็นเพราะในสะเดามีแทนนินเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านโปรโตซัว (anti-protozoa) ได้ดี ทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์โปรโตซัว โดยการแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่ห่อหุ้มส่วนที่อยู่ภายในทั้งหมดและเป็นเยื่อเลือกผ่าน (semi-permeable membrane หรือ differentially permeable membrane) ประกอบไปด้วยชั้นไขมันและโปรตีน ตามทฤษฎีของแดเนียลและดาฟสัน (Daniell-Davson) ในปี พ.ศ. 2478 ชั้นของไขมันเรียงตัวกัน 2 แถว โดยด้านที่มีประจุหันออกด้านนอก ส่วนโปรตีนมีลักษณะเป็นก้อนกลมหุ้ม ทั้งด้านบนและด้านล่างของชั้นไขมัน ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเซลล์และสิ่งที่มีอยู่โดยรอบ รวมทั้งการกระจายประจุไฟฟ้า จนทำให้เกิดความต่างศักย์ไฟฟ้าขึ้นได้ระหว่างภายในเซลล์และนอกเซลล์ ซึ่งการควบคุมการไหลเข้า-ออกของสารต่าง ๆ ไม่มีความสลับซับซ้อนมากนักเมื่อเทียบกับเยื่อหุ้มเซลล์ของมนุษย์และสัตว์ชั้นสูง จึงมีความ sensitive มากกว่า การแลกเปลี่ยนของสารที่ผิดปกติเข้าไปจะเป็นเหตุให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพได้ โดยปกติถ้ากระบวนการ osmotic pressure ของเซลล์จุลินทรีย์สูญเสียสภาพไป การดูดซึมน้ำเข้า -ออกภายในเซลล์ ตลอดจน การขนส่งไอออนต่าง ๆ ระหว่างเซลล์เมมเบรนจะเกิดขึ้นไม่ได้ เซลล์ทั้งเซลล์จะเหี่ยวและเสื่อมสภาพในที่สุด ฉะนั้นการอ อกฤทธิ์ของสารแทนนินจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการไหลผ่านอิออน ที่บริเวณเยื่อบุผิวเซลล์ชั้นนอก (cell membrane) ของโปรโตซัว จึงทำให้เกิด กระบวนการ แลกเปลี่ยนโภชนะของจุลินทรีย์ ที่สูญเสียสมดุลไป (Herve, Frank, Spiridoula, Stig, and Simons, 2006)

โดยปกติโปรโตซัวจะกินแบคทีเรียเป็นอาหารโดยเฉลี่ยประมาณ 10^2-10^4 เซลล์ต่อชั่วโมง (Coleman, 1975; Russell, 1998) ซึ่งโปรโตรซัวในกระเพาะหมักมี 2 กลุ่ม คือ Holotrichs และ Entodiniomorphs ชนิดที่พบมากในกระเพาะหมัก คือ Entodiniomorphs ประมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ (Ivan, Mir, Mir, Entz, He, and McAllister, 2004) โดย Holotrichs จะใช้คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ ส่วนกลุ่ม Entodiniomorphs จะกลืนกินแป้งจากธัญพืช และทำให้แป้งแตกตัว เช่นเดียวกับซาโปนินที่สกัดได้จากเมล็ดชา (tea saponin; 60 เปอร์เซ็นต์ของ triterpenoid saponins) ศึกษาแบบ *in vitro* ในอัตรา 0.2-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทำให้จำนวนโปรโตซัวลดลงและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ (Hu, Liu, Ye, Wu, and Guo, 2005a; 2005b; 2006) และจากการใช้สารสกัดจากผลของ soapnut ที่มีทั้งแทนนินและซาโปนินก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Kamra, Agarwal, and Chaudhary, 2006) โดยให้ผลคล้ายกับการศึกษาของ Wang et al. (1998) และ Wina, Muetzel, and Becker (2005b) ที่ใช้ yucca extract อัตรา 0.5-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Lila, Mohammed, Kanda, Kamada, and Itabashi (2003) ที่ใช้ซาโปนินจาก yucca extract ในอัตรา 1.2-3.2 กรัมต่อลิตร เนื่องจากซาโปนินเป็นสารประกอบพวกไขมัน ซึ่งเหมือนกับโครงสร้างของเยื่อหุ้มของโปรโตซัว ทำให้สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นเหตุให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพได้ ส่งผลให้สารต่าง ๆ สามารถซึมผ่านได้มาก

ขึ้นและเซลล์โปรโตซัวถูกทำลายในที่สุด นอกจากนี้ Klita, Mathison, Fenton, and Hardin (1996) ที่ศึกษาการใช้ซาโปนิน 27.8 เปอร์เซ็นต์จากการสกัดรากถั่วอัลฟาน่า เสริมในอาหารแกะอัตรา 4 เปอร์เซ็นต์ของการกินได้วัตถุแห้ง (44.7 กรัมซาโปนินต่อตัวต่อวัน) พบว่าทำให้ลดจำนวนโปรโตซัว 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับที่รายงานโดย Hristov et al. (1999) ที่ศึกษา *Yucca schidigera* (yucca) บดเสริมในอัตรา 20-60 กรัมต่อวัน ในการเลี้ยงโคสาวพบว่า สามารถลดจำนวนโปรโตซัวได้ ขณะที่การใช้พืชที่มีซาโปนินสูง (soapberry) แบบ *in vitro* อัตรา 100 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร ทำให้ลดจำนวนโปรโตซัว 54 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลเช่นเดียวกับที่เสริม *E. cyclocarpum* ในอัตรา 0.5 และ 10 กรัมต่อวัน จะลดจำนวนโปรโตซัว 20-90 เปอร์เซ็นต์ และจากการใช้ *E. cyclocarpum* เลี้ยงแกะ ทำให้ลดจำนวนโปรโตซัว 49-79 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงวันที่ 4-11 ของการเสริมหลังจากนั้นจะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นปกติในวันที่ 20 (Ivan et al., 2004) สอดคล้องกับรายงานของ Teferedegne et al. (1999) ที่เสริม *Sesbania sesban* เลี้ยงแกะในอัตรา 200 กรัมต่อวัน ขณะที่การศึกษาซาโปนินสกัดจาก yucca ในแกะและโคใช้อัตรา 5-30 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่า ไม่มีผลทำให้จุลินทรีย์เปลี่ยนแปลง แต่จำนวนโปรโตซัวเพิ่มขึ้นประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ในอัตรา 30 กรัมต่อตัวต่อวัน (Eryavuz and Dehority, 2004; Wu et al., 1994) ให้ผลเช่นเดียวกับที่ศึกษาในต้น *E. cyclocarpum* และ *P. saman* ในอัตรา 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร (Hess et al., 2003) และจากการศึกษาโดย Abreu, Arulla, Lascano, Dlaz, Kreuzer and Hess (2004) ที่เสริมผลของต้น soapberry ในอัตรา 8 กรัมต่อน้ำหนักเมแทบอลิก (128 กรัมต่อตัวต่อวัน) ในแกะพันธุ์แอฟริกัน ก็พบว่าเพิ่มจำนวน โปรโตซัว โดยเฉพาะกลุ่ม Entodiniomorphs ส่วนกลุ่ม Holotrichs ไม่เปลี่ยนแปลง ถึงแม้ว่าการใช้ซาโปนินในอัตรา 0.5-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะไม่มีผลต่อ *Fibrobacter spp.* แต่ซาโปนินในระดับสูง 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีผลต่อกลุ่ม Fibrolytic bacteria คือ *Ruminococcus albus, R. flavefaciens* และ *Chytridomycetes* (Wina, Muetzel, and Becker, 2005b) ทั้งนี้ทั้งนั้นอาจเพราะผลของสารประกอบแทนนิ น-โปรตีนที่เกิดขึ้นในพืชอาหารสัตว์ที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง Wanapat et al., 1997; Wanapat, 2001) สอดคล้องกับ Makkar et al. (1995a), Reed (1995), Krause et al. (2003), Wanapat et al. (2000, 2000b, 2000c), Wanapat (2001) แทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่า 2-4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีความสามารถ ในการปรับปรุงสภาพนิเวศวิทยา ในกระเพาะหมัก โดยเพิ่มประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมัก ซึ่งเป็นลู่ทางในการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักในกระเพาะหมักได้และ สามารถเพิ่มการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนได้สูงขึ้น แต่กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบเป็นที่แน่ ชัด Woodward et al. (1999) การใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้นทดลองที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นระดับที่มี อิทธิพลต่อการลดลงของ จำนวน ประชากร โปรโตซัวและเพิ่มจำนวนประชากรแบคทีเรีย ทั้งนี้ทั้งนั้นระดับของแทนนินที่ใช้และสภาพแวดล้อมของนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ใน

กระเพาะหมัก ความถี่และชนิดของอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก Warner (1996) พบว่า จำนวนแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนจากการนับหลังให้อาหารทุก ๆ 3 ชั่วโมง Leedle et al. (1982) พบว่า จำนวนแบคทีเรียใน กระเพาะหมักต่ำสุดเมื่อทำการนับจากของเหลวในกระเพาะหมักหลังการให้อาหาร2-4 ชั่วโมงและจะมีจำนวนมากขึ้นเมื่อนับที่ 16 ชั่วโมงหลังจากการให้อาหาร (มีการให้อาหาร 1 ครั้ง)

ส่วนผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมักในกระเพาะหมักนั้น พบว่า ค่าความเป็นกรด -ด่างของของเหลวในกระเพาะหมัก หลังการให้อาหาร ณ เวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ของกลุ่มอาหารข้นควบคุมและกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดาที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่างในแต่ละช่วงเวลาเท่ากับ 7.1, 6.6, 6.8 และ 6.9 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เมธาวรรณพัฒน์ (2533) ซึ่งกล่าวว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในกระเพาะหมักอยู่ในช่วง 6.5-7.0 จากค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด -ด่างดังกล่าวสังเกตได้ว่ามีระดับลดลงหลังจากได้รับอาหารแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับ Puchala et al. (2005) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ณ เวลาต่าง ๆ คือ 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมงมีค่าเฉลี่ยลดลงหลังการให้อาหารเช่นเดียวกัน จากการศึกษาของ Bunting, Boiling, Mackown, and Devenport (1989) พบว่า เมื่อระดับโปรตีนในอาหารสูงขึ้น มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด -ด่างลดลง เนื่องจากการเกิดกระบวนการหมักสูงสุดประมาณชั่วโมงที่ 3-4 หลังจากการให้อาหาร ซึ่งกระบวนการนี้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ที่เพิ่มขึ้นสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 3-4 หลังจากการให้อาหารเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจจะมีผลกระทบต่อค่าความเป็นกรด -ด่าง ทำให้มีค่าลดลง แสดงให้เห็นว่า ณ ชั่วโมงที่ 3-4 หลังจากการให้อาหาร จะมีผลผลิตจากกระบวนการหมักในกระเพาะหมักเกิดอยู่ในปริมาณมาก นอกจากนั้นสารประกอบโปรตีน -แทนนินจะส่งผลใ ห้ค่าความเป็นกรด -ด่างภายในกระเพาะ หมักลดลงด้วย เนื่องจากแทนนินมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน (Oniface, 1997) โดยรายงานของ Zimmer and Cordesse (1996) รายงานว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะ หมักจะลดลงจาก 7.0 เป็น 6.9 และ 6.3 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2 และ 3 ชั่วโมงหลังจากสัตว์ได้รับอาหารแทนนิน โดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจะส่งผลให้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้เต็มที่ (Reed, 1995) เช่นเดียวกับ Naafs, Van Bergen, and Filley (2005) รายงานว่า แทนนินจะทำงานและจับกันกับเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง และเนื่องจากเอนไซม์จากจุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้เต็มที่ จึงสอดคล้องกับการทดลองของ Jones and Mangan (1977) ที่รายงานว่า การย่อยได้โปรตีนภายในกระเพาะ หมักของพืชอาหารที่มีแทนนินมีค่าการย่อยได้ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดเดียวกันที่ได้ผสมสาร polyethylene glycol (PEG) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ลดประสิทธิภาพของแทนนิน

นอกจากนี้ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก โดยเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ณ เวลาต่าง ๆ คือ 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นที่ไม่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดาและกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเฉลี่ย ณ เวลาต่าง ๆ คือ 7.7, 9.6, 12.0 และ 8.6 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาของ Puchala et al. (2005) รายงานว่า เวลาที่ใช้ในการย่อยเพิ่มมากขึ้น คือ ณ เวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนจะเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 3 จากกระบวนการหมักที่เพิ่มสูงขึ้นภายหลังที่ได้รับอาหารข้นและจะลดลงในชั่วโมงที่ 6 จากการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือด อย่างไรก็ตาม ได้มีการศึกษาความต้องการแอมโมเนียไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดย Wallace (1979) พบว่า ระดับที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 9.7-21.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Wanapat and Pimpa (1999) รายงานไว้ว่าระดับที่เหมาะสมอยู่ที่ 17.6 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ระดับนี้จะส่งผลให้การย่อยได้ของวัตถุแห้งและโปรตีนหยาบ ตลอดจนประชากรแบคทีเรียในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น และระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีความสัมพันธ์กับระดับไนโตรเจนในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากแหล่งโปรตีนจากอาหารที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักในปริมาณที่แตกต่างกัน Church (1979) ได้อธิบายการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นเดียวกันว่า โดยทั่วไปยูเรียจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมักโดยการทำงานของจุลินทรีย์ ได้ผลผลิตสุดท้ายคือแอมโมเนีย โดยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์จะถูกใช้ไปในการสังเคราะห์ โปรตีนจากจุลินทรีย์ ส่วนแอมโมเนียที่เหลือจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือด และผ่านไปยังตับเพื่อเข้าสู่วัฏจักรยูเรีย แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าแอมโมเนียไนโตรเจนในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้Huber and Limin-Kung (1980) และ Higginbotham, Huber, Wallentine, Johnston, and Andri (1989) พบว่า ระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นหลังการให้อาหารชั่วโมงที่ 4 เพราะเป็นช่วงที่เกิดกระบวนการย่อยสลายอาหารโปรตีนได้ในระดับสูง สัมพันธ์กับระดับของจุลินทรีย์ที่จะเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วยในกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดาแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ อาจเนื่องจากการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการแยกชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียที่สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารโปรตีนได้ ซึ่งจะเห็นความแตกต่างของจำนวนประชากรได้อย่างชัดเจนมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่า ณ เวลาชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหารของกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดาที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีค่าความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) อาจ

เนื่องมาจากในทดลองครั้งนี้แพะกลุ่มทดลองที่ได้รับใบรวมก้านสะเดาสัดส่วนร้อยละ 0, 10, 20, 30 ได้รับไนโตรเจนจากอาหารข้นที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 14 เท่ากันหมดทุกกลุ่ม และหลังจากการให้อาหาร ณ ชั่วโมงที่ 3-4 หากมีปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักในระดับสูง ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แต่ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ณ เวลาชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ของกลุ่มที่ไม่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดาและกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) จึงทำให้ระดับไนโตรเจนในกระแสเลือดไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) พบว่า ภาวะยูเรียในกระแสเลือดก่อนและหลังให้อาหารของแพะช่วงอายุ 1 และ 2 ปี กลุ่มที่ได้รับกระถินสดในระดับร้อยละ 0 ในอาหารมีปริมาณยูเรียในกระแสเลือดน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับกระถินในระดับร้อยละ 50 และ 100 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระดับยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดอยู่ในช่วง 20.14-27.85 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่งอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานของปริมาณยูเรียไนโตรเจนของแพะที่มีค่าอยู่ในช่วง 12.6-28 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร พลาสมา (เมธา วรรณพัฒน์, 2529; Plumb, 1999) แต่ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดจะมีค่าผันแปรออกไปตลอดไป โดยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย (โชคชัย ตรีวิโรจน์, 2536) เช่น ระดับโปรตีนที่สัตว์ได้รับ การย่อยได้โปรตีน (เมธา วรรณพัฒน์, 2529) ระดับพลังงงาน การย่อยสลายโปรตีนในร่างกาย (proteolysis) เพื่อใช้ในการสร้างพลังงานในขณะอดอาหาร รวมถึงกรดอะมิโนที่ไม่ได้ถูกใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนก็จะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียไนโตรเจนในเลือด เห็นได้ว่า ระดับยูเรียไนโตรเจนที่สูงอาจมีสาเหตุมาจากปริมาณโปรตีนที่สัตว์ได้รับจากอาหาร โดยแพะกลุ่มที่ได้รับกระถินสดในสัดส่วนร้อยละ 0 จะได้รับไนโตรเจนจากอาหารข้นที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 16 ในอาหารข้น ในขณะที่แพะทดลองที่ได้รับกระกินเป็นอาหารจะได้รับไนโตรเจนสูงกว่า เนื่องจากกระถินที่ใช้เป็นอาหารทดลองมีโปรตีนในอาหารสูงประมาณร้อยละ 20 โปรตีนที่สัตว์ได้รับจากอาหารมากเกินความต้องการของร่างกาย สัตว์จะเปลี่ยนเป็นยูเรียไนโตรเจนในเลือดและถูกขับออกในปัสสาวะ (เมธา วรรณพัฒน์, 2529) เช่นเดียวกับ Puchala et al. (2005) รายงานว่า ความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด ณ เวลา 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร ของทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) โดย ณ เวลาต่าง ๆ มีค่าเฉลี่ยของทุกกลุ่มจะมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 3 หลังการให้อาหาร และลดลงเมื่อเวลาผ่านไป หลังจากถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือดและถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียที่ตับ เพื่อป้องกันความเป็นพิษของแอมโมเนีย จึงเห็นได้ว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับระดับไนโตรเจนในกระแสเลือด

เมื่อพิจารณาถึงกรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิออนิก และกรดบิวทีริค ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สอดคล้องกับ Sliwinski et al. (2002) ที่ใช้ yucca

extract ที่มีแทนนินในอัตรา 1-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เลี้ยงโครุ่นสาวในสูตรอาหาร มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 58.40 mmol/L ความเข้มข้นของกรดโพรพิออนิก เท่ากับ 18.10 mmol/L และความเข้มข้นของกรดบิวทีริค เท่ากับ 20.10 mmol/L ขณะที่การศึกษาแบบ *in vitro* จากซาโปนินที่สกัดจากเมล็ดชาในอัตรา 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทำให้ลดการผลิตแอมโมเนีย แต่ไม่มีผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้ (Hu, Liu, Ye, Wu, and Guo, 2005a; 2005b) ขณะที่ Klita, Mathison, Fenton, and Hardin (1996) พบว่า การเสริมซาโปนินสกัดจากรากถั่วอัลฟาน่า ในอัตรา 1-4 เปอร์เซ็นต์การกินได้ (44 กรัมต่อวัน) ในแกะ พบว่า 2 วันแรกการผลิตกรดอะซิติกและกรดโพรพิออนิกจะสูงในการเสริมซาโปนิน 4 เปอร์เซ็นต์ แต่จากการวัดวันที่ 14 วันไม่แตกต่างกัน แสดงว่าจุลิทรีย์ในกระเพาะหมักมีการปรับตัว (Wang et al., 1998) ผลนี้สอดคล้องกับที่รายงานโดย Teferedegne et al. (1999) จากการเลี้ยงแกะด้วย *S. sesban* อัตรา 200 กรัมต่อวัน และการใช้ *E. cyclocarpum* เสริมในแกะ ก็ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักในกระเพาะหมัก (Ivan et al., 2004; Hess et al., 2003) จากการทดลองครั้งนี้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกในเวลาต่าง ๆ ในกลุ่มที่มีใบรวมก้านสะเดา 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารเท่ากับ 74.4, 75.1, 72.2 และ 73.0 mol/100 mol ตามลำดับ ความเข้มข้นของกรดโพรพิออนิกเท่ากับ 18.1, 17.8, 19.4 และ 19.3 mol/100 mol ตามลำดับ ความเข้มข้นของกรดบิวทีริคเท่ากับ 7.6, 7.1, 8.5 และ 7.7 mol/100 mol ตามลำดับ โดยความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมักจะมีความสัมพันธ์กับการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ส่วนความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดยังอยู่ในช่วงระดับปกติของแพะ สอดคล้องกับรายงานของ Paengkoum, Liang, Jelan, and Basery (2006) โดยทดลองใช้ steam-treated oil palm fronds และยูเรีย 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในการปรับพลังงานและโปรตีนในสูตรอาหารเลี้ยงแพะนมพันธุ์ซาเนน อายุประมาณ 7-8 เดือน น้ำหนักตัวเฉลี่ย 23.4$\pm$1.6 กิโลกรัม ให้มีระดับโปรตีน 12, 15 และ 18 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานระหว่าง 2 ระดับคือ 3.64 และ 3.88 Mcal/kg พบว่า อิทธิพลของระดับพลังงานในอาหารมีผลต่อค่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ ทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นตามระดับพลังงานที่เพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 44.2-48.9 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร ขณะที่กลุ่มแพะที่ได้รับอาหารพลังงานต่ำมีค่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 37.9-42.6 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร โดยความเข้มข้นของอะซิติกนั้นลดลงในแพะกลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานสูง เพราะกรดโพรพิออนิกที่มีมากขึ้นจากการใช้ประโยชน์ได้ของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้สูงขึ้น จึงไปลดสัดส่วนของกรดอะซิติกลง ขณะที่การทดลองในครั้งนี้มีทำการปรับพลังงานและโปรตีนในสูตรอาหารให้เท่ากัน จึงไม่พบว่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงระดับของการใช้ยูเรียและกากมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีระดับสัดส่วนที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองน้อย จึงไม่ส่งผลกระทบดังกล่าว สำหรับสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออ นิก

เท่ากับ 4.4, 4.6, 3.9 และ 4.2 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกัน ขณะที่ Lila, Mohammed, Kanda, Kamada, and Itabashi (2003) ที่ศึกษาการใช้ซาโปนินอัตรา 1.2-3.2 กรัมต่อลิตร แบบ *in vitro* ทำให้สัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก (2.29) แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) เช่นเดียวกับการเสริมผลของ soapberry 128 กรัมต่อตัวต่อวัน (ที่มีแทนนิน 8 กรัม) ในแกะพันธุ์แอฟริกันของ Abreu et al. (2004) พบว่า ทำให้ลดสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก (P<0.05) เท่ากับ 4.30 เปรียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่า 5.30 จากปริมาณกรดอะซิติก กรดโพรพิออนิก และสัดส่วนของกรดอะซิเตทต่อกรดโพรพิออนิกสามารถที่จะบ่งบอกถึงการเกิดโรค rumen acidosis ได้ จากการรายงานของ Hutjens (1996) พบว่า โคที่มีร่างกายปกตินั้นจะมีการผลิตสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก ในอัตราส่วนที่มากกว่า 2.2:1 การผลิตต่ำกว่านี้จะส่งผลทำให้โคเกิดโรคได้ จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า แพะที่รับใบรวมก้านสะเดาทุกสูตรอาหารข้นทดลองยังมีการผลิตสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิกในอัตราส่วนที่ปกติและแพะที่ใช้ในงานทดลองไม่มีอาการเกิดโรคดังกล่าวแต่อย่างใด

ปริมาณไนโตรเจนที่แพะได้รับ การขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลอง ไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) และไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการดูดซึมไปใช้ประโยชน์และปริมาณไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกาย สอดคล้องกับรายงานของ Norton and Ahn (1997) โดยใช้พืชตระกูล *Calliandra calothysus* 2.5-3.7 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน พบว่า สามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะหมักและยังสามารถเพิ่มระดับของไนโตรเจนในลำไส้เล็ก โดยไม่มีผลกระทบต่อระดับไนโตรเจนที่กักเก็บและหมุนเวียนในร่างกาย แต่ความสัมพันธ์ของไนโตรเจนที่ขับออกมาทางมูลและปัสสาวะจะมีความสัมพันธ์กับระดับโปรตีนที่ได้รับโดยคิดเป็นวัตถุแห้งและยังสัมพันธ์กับขนาดของร่างกายอีกด้วย (Van Soest, 1991) นอกจากนี้ Mathieu, Senaud, Jouany, Bohatier, Bertin, and Mercier (1997) รายงานว่า หากมีประชากรโปรโตซัวอยู่ในระดับต่ำก็จะส่งผลทำให้การขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะลดต่ำลงไปด้วย จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าในกลุ่มแพะที่รับอาหารข้นทดลองสูตรที่ 3 มีประชากรโปรโตซัวต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่น ๆ และมีปริมาณการขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะเท่ากับ 2.7 และ 2.6 กรัมต่อวัน ต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลองอื่น ๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาจเป็นเพราะอาหารข้นทดลอง กลุ่มดังกล่าวมีสัดส่วนของใบรวมก้านสะเดาที่มีระดับที่เหมาะสมหรือมีฤทธิ์มากต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรโปรโตซัว ขณะที่อาหารข้นทดลอง กลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีค่าเฉลี่ยประชากรโปรโตซัวไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุมและอาหารข้นทดลอง กลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร จึงทำให้ปริมาณการขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะไม่มีความแตกต่างกันเช่นเดียวกัน และแพะในกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นทดลอง กลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา

10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร เมื่อเปรียบเทียบอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม พบว่า มีปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับเพิ่มตามระดับของใบรวมก้านสะเดา แต่พบว่าแพะที่ได้รับอาหารข้นทดลองสูตรที่ 3 มีการขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะน้อยกว่ารวมถึงการดูดซึมไนโตรเจนและปริมาณเก็บกักไนโตรเจนที่ได้สูงกว่าแพะกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารข้นทดลอง กลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร สอดคล้องกับการศึกษา Devendra (1992) รายงานว่า การขับออกของไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะของสัตว์เคี้ยวเอื้องในระดับต่ำ อาจเพราะมีการดูดซึมไนโตรเจนที่สูงกว่าและทำให้มีปริมาณเก็บกักไนโตรเจนได้สูง โดยไนโตรเจนจะถูกนำกลับมาใช้ได้อีก โดยผ่านเข้าสู่กระเพาะหมักในรูปของยูเรียผ่านทางน้ำลาย และการแพร่ของยูเรียในกระแสเลือดผ่านทางผนังกระเพาะ

จำนวนไข่พยาธิตัวกลมที่พบก่อนและหลังการใช้ยาชนิด Ivermectin มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 5.11) แสดงว่า แพะมีปฏิกิริยาตอบสนองต่อ Ivermectin ในการลดจำนวนไข่พยาธิตัวกลมลงอย่างมีประสิทธิภาพหรือ Ivermectin ส่งผลในการทำลายพยาธิในระบบทางเดินอาหารของแพะ สอดคล้องกับ ทัศนีย์ อภิชาติสรางกูร อภิชาติ ศรีภัย สุรภี ทองหลอม และ ยงยุทธ ศรีวิชัย (2546) ได้ทดลองทำการถ่ายพยาธิในแพะและแกะที่ป่วยด้วยโรคพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเชื่อว่าการป่วยครั้งนี้มีสาเหตุหลักจากพยาธิฮีมอนคุส คอนทอร์ทุส (*Haemonchus contortus*) เนื่องจากสัตว์มีอาการโลหิตจางอย่างรุนแรง และไม่ปรากฏอาการท้องเสีย ซึ่งตรงกับอาการของโรคที่สุภรณ์ โพธิเงิน (2524) รายงานไว้ว่าสัตว์แสดงอาการโลหิตจางคือ เหงือก เยื่อบุตา และผิวหนังซีด ค่าฮีมาโตคริตอาจลดลงน้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ (จากการตรวจครั้งนี้พบว่ามีค่า 14.7 เปอร์เซ็นต์) หายใจสั้นและอ่อน บวมน้ำตามร่างกาย ซึม เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย น้ำหนักลด ส่วนใหญ่อุจจาระมีลักษณะปกติ อาการท้องเสียพบได้เมื่อมีการติดพยาธิชนิดอื่นร่วมด้วย นอกจากนี้สุภรณ์ โพธิเงิน (2524) ยังระบุว่าในบรรดาพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ฮีมอนคุส คอนทอร์ทุสเป็นพยาธิที่ทำอันตรายมากที่สุด เนื่องจากตัวเต็มวัยและตัวอ่อนระยะที่ 4-5 สามารถดูดเลือดจากสัตว์ ขณะที่ตัวเต็มวัยของพยาธิชนิดอื่นไม่ดูดเลือด จำนวนไข่พยาธิที่พบก่อนและหลังการใช้ Albendazole ไม่แตกต่างกัน และจากการใช้ยาถ่ายพยาธิทั้งสามชนิด จะเห็นได้ว่ายามีประสิทธิภาพแตกต่างกัน ขณะที่ Albendazole ไม่ออกฤทธิ์ในการทำลายพยาธิในแพะและแกะ ส่วน Ivermectin และ Levamisole ออกฤทธิ์ได้ดี แต่ฤทธิ์ของ Levamisole อยู่ได้นานกว่า นอกจากนี้ Saithanoo (1996) รายงานว่าการดื้อยาอาจเกิดขึ้นได้ในฟาร์มแพะที่มีการใช้ยาถ่ายพยาธิหลายชนิดหมุนเวียนสลับกันไป พบว่า พยาธิฮีมอนคุส คอนทอร์ทุส ดื้อยา Fenbendazole และ Albendazole มากที่สุด

ผลการศึกษาประสิทธิผลของใบรวมก้านสะเดาที่มีต่อจำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะตลอดการทดลอง พบว่า ไข่พยาธิในมูลแพะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตามสัดส่วนของใบรวมก้านสะเดาที่บริโภคเพิ่มขึ้น และไม่พบผลที่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้

Ivermectin แสดงว่า ประสิทธิผลของใบรวมก้านสะเดามีผลขับไข่พยาธิในระบบทางเดินอาหารของแพะได้ดีพอ ๆ กับการใช้ Ivermectin ซึ่งเมื่อสัตว์กินใบรวมก้านสะเดาเข้าไปแล้ว แทนนินจากใบรวมก้านสะเดาจึง ไปขัดขวางการย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Reed, 1995) เพราะมีสารประกอบแทนนิ น-โปรตีน เ นื่องจากมีการรวมตัวกันของแทนนิน กับโปรตี นในน้ำลา ย เมื่อสารประกอบแทนนิน-โปรตีนไหลผ่านสู่กระเพาะแท้จะแยกพันธะออกจากกันเนื่องจากสภาวะความเป็นกรดภายในกระเพาะแท้ (ต่ำกว่า 3.5) (Mole and Waterman, 1985; Jones and Mangan, 1977) โปรตีนจะถูกย่อยสลายในกระเพาะแท้และลำไส้เล็ก และเนื่องจากเจ้าบ้าน (host) จะได้รับตัวอ่อนพยาธิระยะติดต่อ (ระยะที่3; L_3) จากการกินหญ้า เมื่อเข้าสู่ร่างกาย จะออกจากปลอกหุ้ม แล้วจะเคลื่อนตัวไปอาศัยอยู่ตามเยื่อเมือกของอโบมาซัม แล้วเจริญเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียใน lumen ของอโบมาซัม ซึ่งพร้อมจะสืบพันธุ์ต่อไป ในบางชนิดอาศัยอยู่ในผนังลำไส้เล็ก (Soulsby, 1982) ซึ่งเมื่อส่วนหนึ่งของสารประกอบแทนนินเดินทางเข้าสู่ลำไส้เล็ก ทำให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างภายในลำไส้เล็กเปลี่ยนไป ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการดำรงชีพและขยายเผ่าพันธุ์ของพยาธิ ทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด และไข่พยาธิจะถูกขับออกมาพร้อมกับมูล ส่วนแทนนินจะถูกขับออกจากร่างกายผ่านทางลำไส้ใหญ่(Butter et al., 2000; Min and Hart, 2003; Niezen et al., 1995) สอดคล้องกับ เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) พบว่าสิ้นสุดการทดลอง จำนวนไข่พยาธิตัวกลมกลุ่ม strongylids ในแพะลูกผสมพันธ์พื้นเมืองแองโกลโนเบียน ช่วงอายุ1 ปีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับ Netpana et al. (2001) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของแทนนินที่อยู่ในอาหารมีผลทำให้จำนวนไข่พยาธิลดลงภายในตัวสัตว์ (*in vivo*) และรายงานไว้ว่าโคนมและกระบือปลักที่เลี้ยงปล่อยแปลงที่ได้รับอาหารแทนนินจากใบมันแห้งเปรียบเทียบกลุ่มที่ได้รับยา Ivermectin มีจำนวนไข่พยาธิไม่แตกต่างกัน โดยพบว่าจำนวนไข่พยาธิในมูลลดลงเท่ากับ180 ฟอง/มูล 1 กรัม เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ Ivermectin มีจำนวนไข่พยาธิเท่ากับ 200 ฟอง/มูล 1 กรัม เมื่อผ่านไป 5 สัปดาห์ และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบจำนวนไข่พยาธิเท่ากับ 525 ฟอง/มูล 1 กรัม ($P<0.05$) สัมพันธ์กับการทดลองในครั้งนี้ พบว่า จำนวนไข่พยาธิในมูลแพะของกลุ่มที่ไม่ได้รับใบรวมก้านสะเดาสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลอง สอดคล้องกับ Min and Hart (2003) ศึกษาพืช *Medicago sative* (Lucerne) ที่มีปริมาณแทนนินสูง พบว่า โคที่ได้รับการถ่ายพยาธิและได้รับอาหารแทนนินสามารถลดไข่พยาธิ ($P<0.01$) ในมูลโคได้มากกว่าที่ได้รับยาถ่ายพยาธิเพียงอย่างเดียว ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับการถ่ายพยาธิแต่ได้รับอาหารแทนนินก็พบว่าไข่พยาธิต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารแทนนิน ($P<0.01$) เช่นเดียวกับ Niezen et al. (1995) รายงานว่า การเลี้ยงแกะด้วยอาหารที่มีแทนนินสูงสามารถลดจำนวนไข่พยาธิในมูลได้ ($P<0.05$)

และเนื่องจากจำนวนไข่พยาธิที่พบมีปริมาณลดลงตามสัดส่วนของใบรวมก้านสะเดาที่เพิ่มขึ้น แต่จากการพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของกลุ่มที่ 4 (ใบรวมก้านสะเดาที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร) กลับไม่ได้ส่งผลให้ไข่พยาธิลดลงต่ำที่สุดตามสัดส่วนใบรวมก้านสะเดาสูงสุดที่ผสมในอาหาร

อาจเป็นเพราะสูตรอาหารนี้มีปริมาณแทนนินค่อนข้างสูง อาหารจึงมีรสชาดฝาดและขมมาก ทำให้ปริมาณการกินได้ต่ำกว่ากลุ่มอื่น อาจเป็นเพราะสูตรอาหารนี้มีปริมาณแทนนินจากใบรวมก้านสะเดาค่อนข้างสูง อาหารจึงมีรสชาดฝาดและขมมาก ทำให้ความน่ากินของอาหารต่ำกว่ากลุ่มอื่น ใกล้เคียงกับการศึกษาของ สุวิทย์ อโนทัยสินทวี (2538) รายงานว่า เมื่อเลี้ยงแพะช่วงอายุ1 ปี ด้วยอาหารข้นที่มีกระถินในระดับร้อยละ 0, 25, 50 และ 75 ในสูตรอาหารโปรตีนร้อยละ 16 ติดต่อกันเป็นเวลานานมากกว่า6 เดือน พบว่า การใช้สูตรอาหารที่ระดับร้อยละ50 และ 75 อัตราการกินได้ของแพะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและไม่ปรากฏว่ามีผลกระทบต่อสุขภาพแพะ แต่พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของแพะลดลง($P<0.05$) เช่นเดียวกับ Woodward et al. (1999) ให้เหตุผลว่าการใช้คอนเดนซ์แทนนินในระดับสูงกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหารวัตถุแห้ง จะทำให้อาหารมีความน่ากินต่ำ การย่อยได้ในกระเพาะหมักและอัตราการกินได้ของอาหารลดลง(Montossi et al., 2001) สัตว์จึงได้รับแทนนินจากอาหารลดลง ทำให้ประสิทธิภาพของแทนนินต่อจำนวนไข่พยาธิในกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร 30 เปอร์เซ็นต์ ลดลงไม่มากนัก ทั้งนี้ข้อมูลทางการวิจัยส่วนใหญ่รายงานตรงกันว่าปริมาณไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะมีความสัมพันธ์กับปริมาณคอนเดนซ์แทนนินที่สัตว์ได้รับจากการกินได้ของอาหารทดลอง ถึงแม้ว่าปริมาณการกินได้ของอาหารทดลองในการทดลองครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งน่าจะทำให้จำนวนไข่พยาธิตัวกลมในมูลแพะไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกัน แต่เมื่อประเมินจากการปริมาณการกินได้ของแพะในกลุ่มที่ได้รับใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีการกินได้เท่ากับ 185.7 กรัมต่อวัน ซึ่งเท่ากับ 4.40 เปอร์เซ็นต์ของคอนเดนซ์แทนนินที่ได้รับเทียบจากการกินได้จริงต่อวัน ซึ่งเป็นค่าที่สูงเกินกว่าค่าที่เหมาะสมของเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินที่สัตว์ควรได้รับ ถึงแม้ว่าค่าดังกล่าวจะสูงกว่าไม่มาก แต่ในความเป็นจริงอาจสูงหรือต่ำกว่านี้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินที่ได้เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณใบรวมก้านสะเดาในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ไม่ได้มาจากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินจากสูตรอาหารทดลองโดยตรง เนื่องจากทำได้ยาก เพราะมีส่วนผสมของวัตถุดิบชนิดอื่นปนอยู่ด้วย อาจเป็นปัจจัยทำให้ค่าของเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนินคลาดเคลื่อน

เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) รายงานว่า สำหรับกลไกการกำจัดพยาธิของแทนนินนั้น ในปัจจุบันยังไม่เป็นที่แน่ชัด (Molan et al., 2000; Netpana et al., 2001; Pomroy, Hart, and Min, 2002) แต่นักวิจัยหลายคณะ (Butter et al., 2000; Min and Hart, 2003; Niezen et al., 1995) ได้ตั้งสมมุติฐานตรงกันว่า แทนนินจะมีผลต่อพยาธิตัวกลมทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยผลทางตรงต่อตัวอ่อนพยาธิตัวกลม เมื่อแทนนินเข้าสู่ลำไส้ของพยาธิจะมีผลทำให้ค่าความเป็นกรดภายในลำไส้เล็กสูงขึ้น ทำให้ตัวอ่อนของพยาธิไม่สามารถเจริญต่อไปได้ จึงทำให้ไข่พยาธิที่ออกมากับมูลลดลงตาม ไปด้วย สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์ (2531) รายงานว่า ยังมีการนำแทนนินมาใช้ในกรณีที่เกิดบาดแผลในหลอดทางเดินอาหารและใช้ในการตกตะกอนพิษของเชื้อแบคทีเรียในรายที่เกิดอาการเป็นพิษจากแบคทีเรียอีก ซึ่ง

เชื่อว่าแบคทีเรียที่เจริญมากกว่าปกติในลำไส้ เกิดจากความไม่สมบูรณ์ของเยื่อบุทางเดินอาหารและสภาวะระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้บกพร่อง ส่งผลให้แบคทีเรียในลำไส้มีการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ (พิภพ จิรภิญโญ, 2540) โดยสมุนไพรที่ออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสีย ส่วนใหญ่จะมีสารสำคัญเป็นสารกลุ่มแทนนิน ซึ่งมีรสฝาด มีฤทธิ์ฝาดสมาน (astringent) ฉะนั้นขณะท้องเสีย เนื้อเยื่อที่ผนังลำไส้ใหญ่จะมีการระคายเคือง ทำให้ลำไส้ใหญ่บีบตัวมากกว่าปกติ จึงเกิดการถ่ายอุจจาระบ่อย ๆ เมื่อสารกลุ่มแทนนินในสมุนไพรที่ กินเข้าไปสัมผัสกับผนังลำไส้ใหญ่จะรวมตัวกับโปรตีนที่เนื้อเยื่อบุผิวแล้วเปลี่ยนเป็นสารที่สามารถเคลือบเนื้อเยื่อไว้ ทำให้ลดอาการระคายเคือง จึงหยุดถ่ายอุจจาระ และ ยังต่อต้านและทำลายโปรตีนของตัวเชื้อโรคและทำให้เชื้อโรคตาย (กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน, 2549) อาจเป็นเพราะฤทธิ์ของแทนนินที่ไหลผ่านมายังบริเวณลำไส้ใหญ่นั้นออกทำลายเซลล์ผิวชั้นนอกของพยาธิตัวกลมร่วมด้วย นอกจากนั้นหลักฐานที่ Molan et al. (2000) ให้การสนับสนุนถึงผลกระทบโดยตรงของสารสกัดคอนเดนซ์แทนนินจากพืชอาหารสัตว์ เช่น *Lotus pedunculatus*, *Lotus corniculatus*, *Hedysarum coronarium* (sulla) และ *Onobrychis viciifolia* (sainfoin) มีผลยับยั้งพัฒนาการของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 ลดลงถึง 91 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงลดจำนวนไข่พยาธิที่กำลังฟักและยับยั้งการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 ลง 34 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตลอดจนถึงการยับยั้งการวางไข่ของตัวเต็มวัย (oviposition deterrent) (ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2536; Schmutterer, 1990; Schmutterer and Freres, 1990; Schmutterer, 1995; Von Der Heyde, 1985; Warthen, 1989; Sanguanpong and Schmutterer, 1992) สอดคล้องกับผลของสารสกัดแทนนินที่ได้จากกระถินมีผลยับยั้งการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนพยาธิ strongylids ระยะที่ 3 ในการทดลองที่ 2 ของเดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดแทนนินมีผลทำให้ตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 ไม่สามารถไชผ่านเข้าไปในชั้นเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เพื่อที่จะเจริญเป็นพยาธิตัวเต็มวัยได้ นอกจากนั้นแทนนินซึ่งเป็นสารโพลีแทนนิน อาจจะมีความเป็นพิษโดยตรงต่อตัวอ่อนของพยาธิตัวกลม ดังเช่นผลการทดลองภายในห้องทดลอง (*in vitro*) (Niezen et al., 1995; Butter et al., 2000) ซึ่ง Max et al. (2002) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของแทนนินช่วยลดจำนวนไข่ของพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารได้ ซึ่งศึกษาหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดแทนนินจากพืช *Acacia mearnsi* มีผลต่ออัตราการตายของตัวอ่อน (L_3) ของพยาธิ *Haemochus Controtus* โดยใช้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 7 และเมื่อเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมงพบว่าอัตราการรอดตายเท่ากับ 0 ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนกลุ่มควบคุม (0 เปอร์เซ็นต์) พบว่าอัตราการรอดเท่ากับ 100 (ไม่ตายเลย) แสดงให้เห็นถึงผลของแทนนินสามารถฆ่าตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมได้ สอดคล้องกับ Molan, Waghorn, and McNabb (2002) ซึ่งพบว่าสารสกัดแทนนินจาก *Onobrychus viciifolia* ความเข้มข้น 2,000 ug/ml มีผลต่ออัตราการตายของตัวอ่อนพยาธิ *Dictyocaulus vivipurus* ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ

เวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ Butter et al. (2001) ที่รายงานว่าเมื่ออัตราความเข้มข้นของแทนนินสูงขึ้น อัตราการตายของตัวอ่อน*Nippostronglus brasiliensis* ก็สูงขึ้นตาม

นอกจากนั้นมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลของแทนนินต่อการยับยั้งพยาธิ โดย Butter et al. (2001) อ้างโดย เดชภาฑร วงศ์เดชขจร (2550) ทดลองใช้สารสกัดแทนนินและสารสกัดแทนนินผสมสาร polyethylene glycol (PEG) 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งเป็นสารที่ลดประสิทธิภาพของแทนนิน โดย PEG สามารถจับตัวได้ดีกับแทนนิน ทำให้พิษของแทนนินต่อตัวอ่อนพยาธิลดลง โดยพบว่าอัตราการรอดตายของตัวอ่อนที่เวลาผ่านไป 5 ชั่วโมงของกลุ่มสารสกัดแทนนินเท่ากับ 51.6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มสารสกัดแทนนินผสมสาร PEG มีอัตราการรอดตายสูงกว่าเท่ากับ 61.0 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าเมื่อประสิทธิภาพของแทนนินลดลงจากการใช้สาร PEG ทำให้อัตราการรอดตายของตัวอ่อนพยาธิสูงขึ้น สำหรับผลทางอ้อมคือ แทนนินเพิ่มการดูดซึมโปรตีนทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ดีขึ้น สัตว์แข็งแรงขึ้น ทำให้ความต้านทานพยาธิดีขึ้น (Bown et al., 1991; Butter et al., 2001; Min and Hart, 2003; Min, Barry, Attwood, and McNabb, 2003; Niezen, Waghorn, Charleston, and Waghorn., 1994, 2002) อย่างไรก็ตาม การติดตามผลการออกฤทธิ์ของสมุนไพรหรือพืชที่มีฤทธิ์เป็นสารต่อต้านโภชนะอย่างแทนนินต้องใช้ระยะเวลานานหรือยาถ่ายพยาธิอาจต้องใช้เวลาอย่างน้อย 10 วันหลังการให้ยา (Le Jambre, 1996) จึงจะทราบผลแน่ชัด

ผลตอบแทนทางการเงิน เพะเนื้อที่ได้รับ อาหารข้นทดลองที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร และมีข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ ซึ่งใช้เลี้ยงแพะเนื้อได้ดีเท่า ๆ กับแพะเนื้อที่ได้รับอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม เนื่องจากเป็นระดับที่เหมาะสมที่ไม่มีผลกระทบเชิงลบหรือไปลดจำนวนประชากรจุลินทรีย์ลงจนทำลายสมดุลของระบบนิเวศของกระเพาะหมัก ทำให้แพะยังคงสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้ และได้รับโภชนะเพียงพอ ซึ่งให้ผลตอบแทนทางการเงินสูงสุด โดยให้ผลตอบแทนทางการเงินเท่ากับ 1,243.27 บาท หรือมีรายจ่ายค่าอาหารสัตว์ 2.57 บาทต่อตัวต่อวัน ส่วนอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุมให้ผลตอบแทนทางการเงินเท่ากับ 1,026.14 บาท หรือมีรายจ่ายค่าอาหารสัตว์ 3.04 บาทต่อตัวต่อวัน ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร จึงสามารถใช้เป็นส่วนประกอบพืชโปรตีนที่เป็นประโยชน์ในอาหารข้นทดลองที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบได้ และเป็นแนวทางเลือกสำหรับกลุ่มผู้เลี้ยงแพะเนื้อในอนาคตและสามารถใช้ได้ในฤดูแล้งที่ขาดแคนพืชอาหารสัตว์สดของทุก ๆ ปี

5.9 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง พบว่า อาหารผสมทดลองของ แพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา ในสูตรอาหารข้นเป็นส่วนประกอบ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ พบว่า ไม่ส่งผลทำให้การกินได้ของวัตถุ

แห้ง อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ ค่าความเป็นกรด -ด่างของของเหลวในกระเพาะหมักความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด และสมดุลไนโตรเจนเปลี่ยนแปลง ส่วนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ได้แก่ แบคทีเรียและโปรโตซัว พบว่า ณ เวลาชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร การใช้ใบรวมก้านสะเดาที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ส่งผลให้ประชากรโปรโตซัวในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา และอาหารข้นทดลองกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม การใช้ใบรวมก้านสะเดาในระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ส่งผลให้แบคทีเรียในกระเพาะหมักลดลง อาจเป็นเพราะความเป็นพิษของแทนนินในสะเดาเข้าทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยการแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์ ทำหน้าที่ห่อหุ้มส่วนที่อยู่ภายในทั้งหมดและเป็นเยื่อเลือกผ่าน ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเซลล์และสิ่งที่อยู่โดยรอบ เมื่อการแลกเปลี่ยนของสารที่ผิดปกติเข้าไปจะเป็นเหตุให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียสภาพได้ ตลอดจนการขนส่งอิออนต่าง ๆ ระหว่างเซลล์เมมเบรนจะเกิดขึ้นไม่ได้ เซลล์ทั้งเซลล์จะเหี่ยวและเสื่อมสภาพในที่สุด

ผลตอบแทนทางการเงิน แพะทั้ง 4 กลุ่มทดลอง ให้ผลตอบแทนทางการเงินใกล้เคียงกัน และอาหารข้นทดลองที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา และมีข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ สามารถใช้เลี้ยงแพะเนื้อได้ดีเท่า ๆ กับแพะเนื้อที่ได้รับอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ มีผลตอบแทนทางการเงินสูงสุด และเป็นระดับที่เหมาะสมที่ไม่มีผลกระทบเชิงลบหรือไปลดจำนวนประชากรจุลินทรีย์ลงจนทำลายสมดุลของระบบนิเวศของกระเพาะหมัก ทำให้แพะยังคงสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้ และได้รับโภชนะเพียงพอ ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร จึงสามารถใช้เป็นส่วนประกอบพืชโปรตีนที่เป็นประโยชน์ในอาหารข้นทดลองที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบได้ และเป็นแนวทางเลือกสำหรับกลุ่มผู้เลี้ยงแพะเนื้อในอนาคต และสามารถใช้ได้ในฤดูแล้งที่ขาดแคนพืชอาหารสัตว์สดของทุก ๆ ปี

ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้น จึงสามารถใช้ได้ในระดับที่ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำมาประกอบสูตรอาหารเลี้ยงแพะ เป็นแหล่งโปรตีนเสริมในสูตรอาหารข้น ซึ่งไม่ส่งผลกระทบในเชิงลบต่อแพะเนื้อและมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการผลิตสัตว์ สามารถเพิ่มประชากรแบคทีเรียและลดประชากรโปรโตซัวกับจำนวนไข่พยาธิในมูล ซึ่ง ยังคงเป็นปัญหาใหญ่สำหรับการเลี้ยงแพะ แม้ว่าจะมียาถ่ายพยาธิหลายชนิดที่หาซื้อได้ในท้องตลาด แต่ การใช้ยาเพียงชนิดเดียวเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เป็นปัญหาตามมา ในระยะยาว นั่น คือการดื้อยา และต้องเปลี่ยนชนิดยาที่ใช้ไปเรื่อย ๆ ดังนั้นการควบคุมและป้องกันปัญหาจากพยาธิด้วยวิธีการ ใช้พืชอาหารสัตว์ในท้องถิ่นที่มีสารในการออกฤทธิ์ต้านพยาธิน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่ง

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนเสริมในอาหารข้นต่อ ระบบนิเวศในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีการศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะหมักและการย่อยได้ในลำไส้เล็กของอาหาร ทดลองที่มีใบรวมก้านสะเดาเป็นองค์ประกอบและ การวิเคราะห์การแยกปริมาณคอนเดนซ์แทนนินในใบรวมก้านสะเดา

องค์ประกอบทางเคมีที่พบ ใน ใบรวมก้านสะเดามีความแตกต่างกันไปบ้างกับผลการวิจัย อื่น ขึ้นอยู่กับ ความแตกต่างกันของสถานที่และดินที่ใช้ในการปลูก ความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ที่ปลูก สภาพดินฟ้าอากาศ พันธุ์ อายุการเก็ บตัวอย่าง ฤดูกาล และขั้นตอนการสุ่มเก็บตัวอย่างทดลอง หรือการปนเปื้อนของดินในขณะตากแห้ง ตลอดจนขั้นตอนการวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ของสะเดายังส่งผลถึงองค์ประกอบทางโภชนะอีกด้วย

อาหารข้นทดลองที่ ได้รับ ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการย่อยได้วัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้โปรตี นต่ำกว่าทุกกลุ่ม เนื่องจาก คุณสมบัติของ คอนเดนซ์แทนนิน จากใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้นทดลอง (3.0 เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน) ระดับดังกล่าวส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายได้โปรตีนในกระเพาะหมัก โดยขัดขวางการย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ทั้งนี้เพราะมีสารประกอบโปรตีน-แทน นิน ช่วยปกป้องพืชอาหารสัตว์จากการถูกทำลายหรือกระบวนการย่อยในกระเพาะหมัก และช่วยเพิ่มโปรตีนไหลผ่าน ได้ โดยเกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยงของแทนนินกับอาหารโปรตีน สารประกอบโปรตีน-แทนนินไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักในสภาวะความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างเป็นกลาง โปรตีน-แทนนินเมื่อไหลผ่านสู่กระเพาะแท้จะแยกพันธะออกจากกัน เพราะสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะแท้ โปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยโดยน้ำย่อยจากกระเพาะจริงและลำไส้เล็กให้มีอนุภาคเล็กลงเป็นกรดอะมิโน เพื่อให้ร่างกายนำไปใช้ประโยชน์และดูดซึมประกอบกับ มีกากมันสำปะหลังในสูตรอาหา รต่ำ ซึ่ง กากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายสูง มีความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูง อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์การย่อยได้ในลำไส้เล็กของสัตว์เคี้ยวเอื้องถูกจำลองขึ้นในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* การศึกษาอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร ในครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

2. การศึกษาระดับที่เหมาะสมของการใช้ใบรวมก้านสะเดา ต่อระบบนิเวศในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิตของแพะเนื้อ

อาหารข้นผสมทดลองของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา ในสูตรอาหารข้นเป็นส่วนประกอบ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ พบว่า การกินได้ของวัตถุแห้ง อัตราการเจริญเติบโต ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ ความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด และสมดุลไนโตรเจนที่ศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้ใบรวมก้านสะเดาที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ส่งผลให้ประชากรโปรโตซัวในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในเวลาชั่วโมงที่ 2 และ 4 หลังการให้อาหาร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและลดลงต่ำสุดในชั่วโมง ที่ 6 หลังการให้อาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการใช้อาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตรไม่ส่งผลต่อนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ได้แก่ ค่าความเป็นกรด -ด่างของของเหลวในกระเพาะหมัก แอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยได้ ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นแหล่งโปรตีนเสริมในสูตรอาหารข้นของแพะเนื้อจึงไม่ส่งผลกระทบต่อการผลิตแพะเนื้อ ส่วนผลตอบแทนทางการเงิน แพะทั้ง 4 กลุ่มทดลอง ให้ผลตอบแทนทางการเงินใกล้เคียงกัน และอาหารข้นทดลองที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา และมีข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบ สามารถใช้เลี้ยงแพะเนื้อได้ดีเท่า ๆ กับแพะเนื้อที่ได้รับอาหารข้นทดลองกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการใช้ใบรวมก้านสะเดา 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีผลตอบแทนทางการเงิน

ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารข้นที่มีศักยภาพเพียงพอและเหมาะสมที่จะนำมาประกอบสูตรอาหารเลี้ยงแพะ เนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบีย นที่เลี้ยงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับการ ใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนเสริมเพื่อลดการใช้แหล่งโปรตีนอื่นที่มีราคาแพงกว่า โดยไม่ส่งผลกระทบเชิงลบต่อแพะเนื้อ ทำให้แพะยังคงสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้ และได้รับโภชนะเพียงพอ โดยสามารถเพิ่มประชากรแบคทีเรียและลดประชากรโปรโตซัวกับจำนวนไข่พยาธิในมูล ซึ่งการควบคุมและป้องกันปัญหาจากพยาธิด้วยวิธีการใช้พืชอาหารสัตว์ในท้องถิ่นที่มีสารในการออกฤทธิ์ต้านพยาธินั้นน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่ง และให้ผลตอบแทนทางการเงินสูงสุด ดังนั้นการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหาร จึงสามารถใช้เป็นส่วนประกอบพืชโปรตีนที่เป็นประโยชน์ในอาหารข้นทดลองที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบได้ และเป็นแนวทางเลือกสำหรับกลุ่มผู้เลี้ยงแพะเนื้อในอนาคต และสามารถใช้ได้ในฤดูแล้งที่ขาดแคลนพืชอาหารสัตว์สดของทุก ๆ ปี

ทั้งนี้ทั้งนั้นการนำไปใช้จริงต้องคำนึงถึงสัดส่วนของแหล่งโปรตีนและพลังงานในสูตรอาหารควบคู่กันไปด้วย ตลอดจน ความแตกต่างทางโครงสร้าง ส่วนประกอบ แหล่งของแทนนิน

อัตราที่ใช้ ความเข้มข้นของแทนนินในพืชอาหารสัตว์แต่ละชนิด ความแตกต่างของวัตถุดิบอาหารสัตว์ และการให้อาหารซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ด้วย

6.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการใช้ใบรวมก้านสะเดาเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคอนเดนซ์แทนนินเป็นผลพลอยได้นั้น มีผลทำให้อัตราย่อยสลายได้ของโปรตีนต่ำลง ทำให้ การประกอบสูตรอาหารจึงยังคงต้องใช้วัตถุดิบโปรตีนสูงเป็นแหล่งโปรตีนหลัก ซึ่งโปรตีนในกากถั่วเหลืองมีคุณสมบัติในการย่อยสลายในกระเพาะหมักค่อนข้างมาก รวมถึงกากมันสำปะหลังและใบรวมก้านสะเดามีเปอร์เซ็นต์ โปรตีนและไขมันค่อนข้างต่ำ ทำให้การนำไปใช้จริงต้องคำนึงถึงแหล่งโปรตีนและแหล่งพลังงานควบคู่กันไป ดังนั้นหากเกษตรหรือผู้ที่สนใจจะนำไปใช้จึงต้องมี การใช้น้ำมันปาล์มซึ่งมีองค์ประกอบของไขมันและพลังงานสูง นอกจากจะเป็นแหล่งพลังงานแล้ว ยังมีส่วนช่วยเพิ่มความน่ากิ นของอาหารที่มีแทนนิน เพราะใบรวมก้านสะเดามีรสชาดขมและเฝื่อน

ควรมีทำการทดสอบการย่อยได้ของใบพืชโปรตีนในทางเดินอาหารส่วนล่าง โดยใช้เทคนิคการย่อยได้ในลำไส้เล็กในห้องปฏิบัติการต่อไป เพราะ ในใบพืชบางชนิดมีสารประกอบโปรตีน - แทนนินซึ่งจะไม่ถูกย่อยที่ระบบทางเดินอาหารส่วนบน แต่จะมีคุณสมบัติไหลผ่านไปยังทางเดินอาหารส่วนล่างและถูกย่อยที่ทางเดินอาหารส่วนนี้ และควรมีการทำการวิเคราะห์หา โปรตีนและแทนนินที่มีอยู่ในใบพืช หรือเทียบความสัมพันธ์ จากความกว้างรอบลำต้นและอายุสะเดา ตามในภาคผนวก เพราะค่าที่วิเคราะห์ได้สามารถนำมาอธิบายความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักได้ เนื่องจากแทนนินจะจับกับโปรตีนกลายเป็นสารประกอบโปรตีน -แทนนินดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และยังมีประโยชน์มากต่อการตัดสินใจในการเลือกนำใบพืชไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ เนื่องจากแทนนินมีอันตรายต่อตัวสัตว์หากสัตว์ได้รับในปริมาณที่มากเกินไป

อย่างไรก็ตาม คว รศึกษาการใช้ใบรวมก้านสะเดา ในด้านการเจริญเติบโตและคุณภาพซากต่อการให้ผลผลิตในแพะเนื้อเชิงลึก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การใช้ใบรวมก้านสะเดาเลี้ยงแพะ เนื้อในระยะยาว ตลอดจนความถี่ของระดับในการใช้ใบรวมก้านสะเดาในสูตรอาหารแพะเนื้อ

รายการอ้างอิง

กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. (2549). **สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน** [ออนไลน์]. ได้จาก: www.dtam.moph.go.th

ขวัญชัย สมบัติศิริ. (2536). **คำแนะนำการใช้สารสกัดสะดาป้องกันกำจัดแมลง** . อ้างถึงใน การใช้สารสกัดจากพืชทดแทนการใช้เคมีภัณฑ์ทางการเกษตร . **เอกสารทางวิชาการโครงการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ** (หน้า 1-8). สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล กระทรวงศึกษาธิการ.

จรัญ จันทลักขณา. (2527). **ควายในระบบไร่นาไทย.** กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช.

จีรชัย กาญจนพฤฒิพงศ์, อุทัย คันโธ, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ วิไลลักษณ์ ชาวอุทัย. (2542). **การใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดเป็นอาหารข้นในแม่โครีดนม.** รายงานผลการดำเนินงานโครงการส่งเสริมการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 254 2. กรุงเทพฯ.

ฉลอง วชิราภากร. (2541). **โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น** . ขอนแก่น: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ฉลอง วชิราภากร , เมธา วรรณพัฒน์ , นิโรจน์ ศรสูงเนิน และ สุรชัย โค้วเจริญ. (2542). ผลของระดับ มันสำปะหลังในอาหารโคนมต่อการให้ผลผลิตน้ำนม. **ว. วิจัย มข.** 4 (2): 29-36.

ชวนิศนดากร วรวรรณ. (2500). **หลักการอาหารสัตว์.** หนังสือประกอบการบรรยาย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชวนิศนดากร วรวรรณ. (2534). **การเลี้ยงโคนม** (พิมพ์ครั้งที่ 4). สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

ชวลิต สิทธิสมบัติ. (2539). **Aromatic Compounds**. ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

โชคชัย ตรีวิโรจน์. (2536). **ภาวะยูเรียในเลือดของโคนมที่อยู่ระหว่างการให้นม** . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เชาวฤทธิ์ มาปะโท. (2551). **ผลของน้ำมันพืชต่อประสิทธิภาพรูเมนและการผลิตน้ำนมในโครีดนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เดชภาฑร วงศ์เดชขจร. (2550). **ประสิทธิภาพของสารแทนนินจากกระถินต่อพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของแพะ.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อภิชาติสรางกูร, อภิชาติ ศรีภัย, สุรภี ทองหลอม และ ยงยุทธ ศรีวิชัย. (2546). ผลการรักษาแพะและแกะที่ป่วยด้วยโรคพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหาร. **ว. เกษตร.** 19(1): 86-92.

นัยนา บุญทวียุวัฒน์. (2546). **ชีวเคมีทางโภชนการ**. กรุงเทพฯ: ซิกม่า ดีไซน์ กราฟิก.

พรรณิภา ชุมศรี. (2523). การตรวจหาแทนนิน และ polyphenols. ใน **เอกสารการสัมมนาเชิงปฏิบัติการพฤกษเคมี ครั้งที่ 2** (หน้า 160-167). กรุงเทพฯ: ชมรมพฤกษเคมีและคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พิภพ จิรภิญโญ. (2540). โรคท้องเสีย. ใน มนตรี ตู้จินดา, วินัย สุวัตถี , อรุณ วงษ์จิราษฎร์ , ประอร ชวลิตธำรง, พิภพ จิรภิญโญ (บรรณาธิการ). **กุมารเวชศาสตร์ Pediatrics เล่ม 1**. (หน้า 191-194). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เรือนแก้วการพิมพ์.

เมธา วรรณพัฒน์. (2529). **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. ขอนแก่น: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. (2533). **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ฟันนี่พับบลิชชิ่ง.

เมธา วรรณพัฒน์ และ ฉลอง วชิราภากร . (2533). **เทคนิคการให้อาหารโคเนื้อและโคนม** . กรุงเทพฯ: ฟันนี่พับบลิชชิ่ง จำกัด.

ปราโมทย์ แพงคำ. (2545). ความคุ้มค่าจากสารประกอบคอนเดนซ์แทนนินส์ในพืชโปรตีน อาหารสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. **ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์** . 10(1): 20-25.

ปราโมทย์ แพงคำ และ โอภาส พิมพา. (2545) . บทบาทของสารประกอบแทนนินในพืชโปรตีนอาหารสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. **จดหมายข่าวโคนม**. 6(2): 11-12.

ปิตุนาถ หนูเสน. (2547). **การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในอาหารข้นต่อการให้ผลผลิตของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน** . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต . สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วรรณวิภา แก่นอำพัน. (2534). **ผลของการใช้ใบกระถินแช่น้ำที่ผ่านขบวนการกึ่งเอ็กทรุดในอาหารไก่.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วินัย ประลมพ์กาญจน์. (2534). **การผลิตแพะ**. สงขลา: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2531). **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. โอ.เอส. กรุงเทพฯ: พริ้นติ้เฮ้าส์.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2538). **เอกสารประกอบการสอน โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. นครราชสีมา: สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2540). ชานอ้อย: อาหารหยาบผสมสำหรับโคนม (1) การปรับปรุงคุณภาพชานอ้อยด้วยวิธีต่าง ๆ. **วารสารโคนม.** 16(6): 6-9.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2541). การประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน. **วาสารเทคโนโลยีสุรนารี.** 5(1). 38-48.

เวียงสกุล นาประเสริฐ , กฤตพล สมมาตย์ และ สุรเดช พลเสน. (2548). ผลของแหล่งอาหารพลังงานในสูตรอาหารข้นต่อปริมาณการกินได้ รูปแบบกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก ความสามารถในการย่อยได้ และอัตราการไหลผ่านของอาหารในโคเนื้อ . **การประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิทยานิพนธ์ ครั้งที่ 7 (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ).**

สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์. (2531). **พฤกษแทนนิน**. เชียงใหม่: ภาควิชาเภสัชเวท. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ .

สถาบันวิจัยโภชนาการ . (2541). **มหัศจรรย์ผัก 108** (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพมหานคร : ภาควิชา พฤกษศาสตร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันวิจัยโภชนาการ. (2545). **คู่มือสมุนไพรประจำตู้ยา**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุภรณ์ โพธิ์เงิน. (2525). **หนอนพยาธิวิทยา.** กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภาณี พิมพ์สมาน. (2536). ชนิดของสะเดาในประเทศไทย. **ว. แก่นเกษตร**. 21(2): 61-63.

สุภาณี พิมพ์สมาน และ สังวาล สมบูรณ์. (2541). ผลกระทบของสารสกัดจากสะเดาต่อมวนเขียวดูดไข่. **รายงานการวิจัย**. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุวิทย์ อโนทัยสินทวี. (2538). **ผลของการใช้ฟางข้าวราดสารละลายยูเรีย -กากน้ำตาลและเสริมอาหารข้นที่มีใบกระถินระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยงแพะรุ่น**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรศักดิ์ คชภักดี และ วินัย ประลมพ์กาญจน์. (2529). **ปฏิบัติการการผลิตแพะ** . สงขลา: ภาควิชาสัตวศาตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

ศศิธร ถิ่นนคร กานดา นาคมณี และ ฉายแสง ไผ่แก้ว. (2539). **การศึกษากระถินพันธุ์ต้านเพลี้ยไก่ฟ้าในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา.** โครงการวิจัยลำดับที่ 39-(1/39)-0514-090. กลุ่มวัจัยพืชอาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ.

ศูนย์ส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้และปลูกป่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ 4 (นครราชสีมา). (2546a). ส่วนส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้ สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้นครราชสีมา.

ศูนย์ส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้และปลูกป่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ 4 (นครราชสีมา). (2546b). **โครงการส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้และปลูกป่าภาคตะวันออกฉียงเหนือ** . นครราชสีมา : ส่วนส่งเสริมการเพาะชำกล้าไม้ สำนักส่งเสริมการปลูกป่า กรมป่าไม้ร่วมกับองค์กรความร่วมมือระหว่างประเทศญี่ปุ่น (JICA).

อัญชลี สงวนพงษ์. (2537). น้ำมันสะเดาช้าง-อินเดีย. ใน **การประชุมทางวิชาการประจำปีครั้งที่ 32.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โอภาส พิมพา. (2542). **การนำใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง.** ขอนแก่น : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

โอภาส พิมพา, กฤตพล สมมาตย์ และพิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์. (2539). ผลของอาหารอัดเม็ดคุณภาพสูงต่อปริมาณการกินได้ของฟางข้าว และอัตราการเจริญเติบโตในโคพื้นเมือง. **วารสารวาริชศาสตร์.** 2(2): 117-130.

Abreu, A, Carulla, J. E., Lascano, C. E., Dlaz, T. E., Kreuzer, M., and Hess, H. D. (2004). Effects Sapindus saponaria fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen of flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. **J. Anim. Sci.** 82: 1392-1400.

Akin, D. E., Gordon, G. L. R., and Hogan, J. P. (1983). Rumen bacterial and fungal degradation of *Digetarian pentzii* grown with or without sulphur. **Appl. Envi. Microb.** 46: 738-748.

Amal, K. G., Cheng, W. J., Bimal, K. G., and Dong, H. C. (2009). Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta Indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. **African J. Biotech.** 8(13): 3084-3091,

Andrew, C. (1995). *Leucaena* toxicosis and its control in ruminant. **J. Anim. Sci.** 73: 1487-1492.

Association of Official Analytical Chemists. (1980). **Official Method of Analysis** (13th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C.:Arlington.

Association of Official Analytical Chemists. (1990). **Official Method of Analysis** (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C.: Arlington.

Barry, T. N., and Forss, D. A. (1983). The condensed tannin content of vegetative *Lotus peduculatus* and effect on protein solubility. **J. Sci. Food Agric.** 34: 1047-1056.

Barry, T. N., and Manley, T. R. (1984). The role of condensed tannins in the nutritional value of

Lotus peduculatus for sheep 2. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. **Br. J. Nutr**. 51: 493-504.

Bate-Smith, E. C., and Swain, T. (1962). Flavonoid compounds. In: M FLORKIN-H.S. Mason (eds.). **Comparative biochemistry Vol. III**. New York: Acad. Press.

Bate-Smith, E. C., and Swain, T. (1967). New Leuco-anthocyanins in Grasses. **Publ. Nature**. 213: 1033-1034.

Bate-Smith, E. C. (1973). **Phytochemistry**. 12: 1809-1812.

Beever, D. E., Thomson, D. J., and Cammell, S. B. (1976). The digestion of frozen and dried grass by sheep. **J. Agric. Sci.Camb**. 86: 443-452.

Blaney, W. M., Simmonds, M. S. J., Ley, S. V., Anderson, J. C., and Toogood, P. L. (1990). Antifeedant effects of azadirachtin and atructurally related compounds on lepidoterous larvae. **Entomol. Exp. Appl**. 55: 149-160.

Boadhurst, R. B., and Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **J. Sci. Food and Tech.** 29: 788-794.

Boniface, A. M., Murray, R. M., and Hogan, J. P. (1986). Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay**. Aust. Society Anim. Prod**. 16: 151-154.

Bown, M. D., Poppi, D. P., and Sykes, A. R. (1991). Nitrogen transactions along the digestive tract of lambs concurrently infected with *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta*. **Br. J. Nutr.** 66: 237-249.

Bromner, J. M., and Keeney. (1965). Stream distillation methods of determination of ammonia, nitrate and nitrite. **Anal. Chem. Acta**. 32: 485.

Bunting, L. D., Boiling, J. A., Mackown, C. T., and Devenport, G. M. (1989). Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in the growing bovine: II Diffusion into and utilization of endogenous urea nitrogen in the rumen. **J. Anim. Sci.** 67: 820.

Burring, D. G., and Britton, R. A. (1986). Response to monensin in cattle during subacute acidosis. **J. Anim. Sci**. 63(3): 888-893.

Butter, N. L., Dawson, J. M., and Buttery P. J. (2000). Dietary Tanins Help Reduce Parasits in sheep. **Feed Mix**. 8(2): 32-34.

Butter, N. L., Dawson, J. M., Wakelin, D., and Buttery, P. J. (2001). Effect of dietary condensed tannins on gastrointestinal nematodes. **J. Agric. Sci.** 137: 461-469.

Calsamiglia, S., and Stern, M. D. (1995). A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminant. **J. Anim. Sci**. 73: 1459-1465.

Chen, X. B. (1996). **An Excel Application Programme for Processing Feed Digestibility Data, User Manual**. Aberdeen UK: Rowett Research Institute Bucksburn.

Church, D. C. (1979). **Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Vol.I.** Oregon, USA: O&B Book, Corvallis.

Cobbina, J. (1998). Forage Productivity and Quality of *Leucaena* as Influenced by Tree Density and Cutting Interval in the Humid Tropics. In **ACIAR Proceedings No. 86, Proceeding of a Workshop Hanoi, Vietnam.**

Coleman, G. S., (1975). The inter-relationship between rumen ciliate protozoa and bacteria. In McDonald, I. W., and Warner, A. C. (eds.). **Digestion and Metabolism in the Ruminant**. Armidale, Australia: Univ. of New England Pubishing Unit.

Coleman, G. S., and Sanford, D. C. (1979). Engulfment and digestion of mixed rumen bacteria and individual bacterial species by single and mixed species of rumen ciliate protozoa grown in vivo. **J. Agric. Sci., Camb**. 92: 729.

Coley, P. D. (1983). Herbivory and defensive characteristics of tree species in a low land tropical forest. **Ecol. Monogr.** 53: 209-233.

Cunningham, D. G. (1990). Vegetation: Vegetation Communities. In **OMNR. July 21, Aug. 20, Sept 9 and Oct 1, 1990** (25 pp).

Czerkawski, J. W. (1986). **An Introduction to Rumen Studies**. New York: Pergamon Press.

Dalzell, S. A., Stewart, J. L., Tolera, A., and McNeil, D. M. (1998). Chemical Composition of *Leucaena* and Implication for Forage Quality. In Shelton, H. M., Gutteridge, R. C., Mullen, B. F. ,and Bray, R. A. (eds.). **Leucaena- Adaptation, Quality and Farming Systems** (pp 227-246). Canberra, Australia: ACIAR Proceedings.

Dalzell, S. A., Stewart, J. L., Tolera, A., and McNeil, D. M. (1998). Chemical Composition of *Leucaena* and Implication for forage quality. In *Leucaena*-Adaptation, Quality and Farming System (pp 227-246). **ACIAR Proceedings No.86. Proceeding of a workshop held Hanoi, Vietnam.**

Dalzell, S. A., Stewart, J. L., Tolera, A., and McNeil, D. M. (1998). Chemical Composition of *Leucaena* and Implication for Forage Quality. *In Leucaena* - Adaptation, Quality and

Farming Systems. **ACIAR Proceedings No. 86, proceeding of a workshop held Hanoi, Vietnam.**

Dehority, B. A. (2004). **Rumen Microbiology.** Nottingham.

Dennis, F. W. N., Pim, F. B., and Timothy, R. F. (2005). **SOM formation in relation to soil acidification in Dutch forest ecosystems** [On-line]. Available: http://remote.science.uva.nl/~knierop/research.html

Deshpande, S. S., Cheryan, M., and Salunkhe, D. K. (1986). Tannin analysis of food products. **CRC Crit. Rev Food Sci Nutr**. 24: 401-449.

Devendra, C., (1992). **Non-conventional Feed Resources in Asia and the Pacific** (4th revised ed.). Thailand: Fao Bangkok.

Doyle, P. T., Devendra, C. and Pearce, G. R. (1986). **Rice Straw as a Feed for Ruminants**. International Development Programme: Canberra.

Driedger, A., and Hatfield, E. E. (1977). Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. **J. Anim. Sci**. 34: 465-468.

EL Hag, H. M. A., and Greennalgh, J. F. D. (1982). Intake and digestibility in sheep fed on alkali treated straw and concentrates as complete diets of separate feeds. **Anim. Feed Sci. Tech.** 7: 271.

Era, A., Seyoum, M, and Sundstol. (1988). **Nutritive Evaluation of *Leucaena leucocephala , L. diversifolia and L. pallida* in AWASSA** [On-line]. Available: http://www.neemfoundation.org/neem-articles/about-neem-tree/chemistry-of-neem.html

Erfle, J. D., Boila R. J., Teather, R. M., Mahadevan, S., and Sauer, F. D. (1982). Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. **J. Dairy Sci.** 65: 1457–1464.

Eryavuz, S. D. and Dehority, A. (2004). Effect of *Yucca schidigera* extract on ruminal microbial concentration in sheep. **Anim. Feed Sci. Tech.** 117: 215-222.

FAO. (2002). **Statistical Databases** [online]. Available. http://www.apps.fao.org/default.html.

Foo, L. Y., Newman, R., Waghorn, G., McNabb, W. C., and Ulyatt, M. J. (1996). Proanthocyanidins from *Lotus corniculatus*. **Phyt. Chem.** 41: 617-624.

Foo, L. Y., Lu, Y., McNabb, W. C., Waghorn, G. C., and Ulyatt, M. J. (1997). Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. **Phyt. Chem.** 45: 1689-1695.

Freer, M., and Dove, H. (1984). Rumen degradation of protein in sunflower meal, rapeseed meal an lupin seed placed in nylon bags. **Anim. Feed Sci. Tech.** 11: 87-101.

Frutos, P., Raso, M., Hervás, G., Mantecón, Á. R., Pérez, V., and Giráldez, F. J. (2004). Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs. **Anim. Res**. 53: 127–136.

Galyean, M. (1989). **Laboratory Procedure in Animal Nutrition Research**. Department of Animal and Life Science. U.S.A.: New Mexico state University.

Garnworthy. P. C. and Brown, H. M. 1983. A comparison of dairy cows and sheep for assessing protein degradability. *I*n The IVth International Symposium on Protein in the paunch of the ruminant. **J. Nutr**. Clermont-Ferrand, France. **INRA** Public. No.16. pp. 247-250.

Goering, H. K., and Van Soest, P. J. (1970). **Forage Fiber Analysis (apparatus, reagent, procedures and some application)**. Washington. D.C. Agric: New Mexico State University.

González, S., Pabón, M. L., and Carulla, J. (2002). Effects of tannins on *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. **Arch. Latinoam. Prod. Anim**. 10(2): 97-101.

Gupta, R. K., and Haslam, E. (1979). Vegatable tannins. Structurre and biosynthesis. In HULSE J.H. (ed.). **Polyphenols in Cereal and Legumes**. CAN-Ottawa: St. Loise Missouri.

Hamlin, L. H., and Ashes, R. E. (1956). Cultures and physiology of a starch-digesting bacterium (*Bacteriods amylophilus* n. sp.) from the bovine rumen. **J. Bact**. 72: 548.

Handerick, H., and Martin, J. (1963). *In vitro* study of the nitrogen metabolism in the rumen. **IRSIA comptes rendus de recherches.** 31.

Haslam, E. (1966). **Chemistry of Vegetable Tannins**. UK: Academic Press Inc. (London) Ltd.

Haslam, E. (1979). Vegetable tannins; Biochemistry of Plant Phenolics. In T. Swain; J.B. Harborne and C.F. Van Sumere (eds.). **Recent Advances in Phytochemistry** (pp 475-524) New York: Plenum Press

Haslam, E. (1989). **Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revised**. Cambridge: Cambridge University Press.

Hegarty, M. P., and Peterson, P. J. (1973). Free amino acids, bound amino acids, amines and ureides. In Butter, G. W., and Bailey, R.W, (eds.). **Chemistry and Biochemistry of**

Herbage (pp 2-62). New York: Academic Press.

Helmer, L. G., Bartley, E. E., and Deyoe, C. W. (1970). Feed processing VI. Comparative of starea, urea and soybean meal as protein source for lactating dairy cow. **J. Dairy Sci**. 53: 883.

Herve, H., Frank J., Spiridoula, A., Stig, M. T., and Simons O. H. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **TRENDS in Parasitology.** 22(6): 253-261.

Hess, H. D., Monsalve, L. M., Lascano, C. E., Carulla, J. E., Diaz, T. E., and Kreuzer, M. (2003). Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. **Aust. J. Agric. Res.** 54: 703-713.

Higginbotham, G. E., Huber, J. J., Wallentine, M. V., Johnson, N. P., and Andri, D. (1989). Influence of protein percentage and degradability on performance of lactating cows during moderate temperature. **J. Dairy Sci.** 72: 1818.

Himmi, E. H., Bories, A., Boussaid, A., and Hassani, L. (2000). Propionic acid fermentation of glycerol and glucose by *Propionibacterium acidipropionici* and *Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermannii*. **Appl. Microb Biotechnol.** 53: 435-440.

Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S. (1988a). Penetrating structures of anaerobic rumen fungi ino cattle and swamp buffaloes. **J. Gen. Microbiol.** 134: 177.

Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S. (1988b). Colonization of guinea grass by anaerobic rumen fungi in swamp buffaloes and cattle. **Anim. Feed Sci. Technol.** 22: 161.

Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S. (1991). Fungal colonization of rice straw and palm press fiber in rumen of swamp buffaloes and cattle. **Anim. Feed Sci. Technol.** 22: 161.

Holmes, J. H. G. (1976). Growth of Brahman crossbreeds heifers grazing *Leucaena*. **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod**. 11: 453-456.

Horigome, T., Kumar, R., and Okamoto, K. (1988). Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes in vitro and in the intestine of rats. **Br. J. Nutr. (England)**. 60(2): 275-285.

Hoskin, S. O., Wilson, P. R., Barry, T. N., Charleston, W. A. G., and Waghorn, G. C. (2000). Effect of forage legumes containing condensed tannins on lungworm (*Dictyocaulus* sp.)

and gastrointestinal parasitism in young red deer (*Cervus elaphus*). **Res. Vet. Sci.** 68(3): 223-230.

Hristov, A. N., McAllister, T. A., Van Herk, F. H., Cheng, K. J., Newbold, C. J., and Cheeke, P. R. (1999). Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **J. Anim. Sci.** 77: 2554-2563.

Hu, C. H., and Xia, M. S. (2006). Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K_{88}. **Appl. Clay Sci**. 3: 180–184.

Hu, C. H., Xia, M. S., Xiong, L., and Xu, Z. R. (2005). Effects of Cu bearing montmorillonite on *Aeromonas hydrophila* adhesion to epithelial cells of Nile tilapia. **J. Fisheries of China.** 29: 619-623.

Hu, W. L., Liu, J. X., Ye, J. A., Wu, Y. M., Guo, Y. Q. (2005). Effect of tea saponins on rumen fermentation in vitro. **Anim. Feed Sci. Technol.** 120: 333-339.

Huber, J. T., and Limin-Kung, J. R. (1980). Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 64: 1170.

Hungate, R.E. (1966). The rumen and it microbes. In R.E. Hungate (ed.). New York: Academic Press.

Hutjents, M. F. (1995). **Feeding applications for the high producing cow** [On-line]. Available: www.ebook.mifaff.go.kr/src/viewer/download.

IAEA-TECDOC-945. (1997). **Estimation of rumen microbial protein production from purine derivatives in urine**. Vienna: IAEA, Publication.

Ivan, M., Mir, P. S., Koening, K. M., Rode, L. M., Neil, L., Entz, T., and Mir, Z. (2001). Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissues concentration of conjugated linoleic acid in the rumen. **Small Rum. Res.** 41: 215.

Jackson, F., Barry, T. N., Lascano, C., and Palmer, B. (1996). The extractable and bound tannin content from tropical tree, shrub and foliage legumes. **J. Sci. Food. Agric.** 71: 103–110.

Jackson, F. S., McNabb, W. C., Barry, T. N., Foo, Y. L., and Peters, J. S. (1996). The condensed tannin content of a rang of subtropical and temperate forage and the reactivity of condensed tannin with Ribulose-1, 5-bis-phosphate carboxylase (Rubisco) protein. **J. Sci. Food. Agric.** 72: 483-492.

Jones, R. J., and Megarrity, R. G. (1986). Successful transfer of dihy-roxypyridine-degrading

bacteria from Hawaiian (USA) goats Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. **Aust Vet. J.** 63: 259-262.

Jones, R. J., and Palmer, B. (2000). In vitro digestion studies using 14C-labelled Polyethylene glycol (PEG) 4000: Comparison of six tanninferous shrub legumes and the grass panicum maximum. J**. Anim. Feed Sci. Technol.** 85: 215-221.

Jones, G. A., McAllister, T. A., Muir A. D., and Cheng, K. J. (1994). Effects of sainfoin (*Onyobrychis viciifolia Scop*.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 60: 1374-1378.

Jones, W. T., Anderson, L. B., and Ross, M. D. (1973). Bloat in cattle. 29. Detection of protein precipitants (flavolans) in legumes. **N.Z.J. Agric. Res.** 16: 441-446.

Jones, W. T., Broadhurst, R. B. and Lyttleton, J. W. (1976). The condensed tannins of pasture legume species. **Phyt. Chem.** 15: 1407- 1409.

Jones, G. A., and Mangan, W. T. (1977). Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. **J. Sci. Food Agric.** 28: 126-136.

Kamra, D. N., Neeta Agarwal, and Chaudhary, L. C. (2006). Inhibition of Ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. **Proceedings of the 2nd International Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture.** 1293: 156-163.

Kanjanapruthipong, J., and Leng, R. A. (1998). A comparison of ammonia and preformed protein as a source of nitrogen for microbial growth in the rumen of sheep given oaten chaff. Asian-Australian. **J. Anim. Sci.** 11: 351-362.

Kearl, L. C. (1982). **Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries.** Logan, U.S.A., UtahState University: Int. Feedstuffs Institute.

Kebreab, E., France, J., Mills, J. A. N., Allison, R., and Dijkstra, J. (2002). A dynamic model of N metabolism in the lactating dairy cow and an assessment of impact of N excretion on the environment. **J. Anim. Sci.** 80: 248-259.

Kendall, W. A. (1966). Factors affecting foams with forage legumes. **Crop Sci.** 6: 487489.

Kennedy, L. P., and Nolan, J. V. (1992). Prediction of microbial yield from the rumen using

urinary excretion of purine derivatives and studies of the kinetics of labeled purines. In **Proc. Feeding Strategies for Improving Ruminant Productivity in Areas of Fluctuating Nutrient Supply. IAEA/FAO, Vienna, Austria.**

Khamseekhiew, B., Liang, J. B., Wong, C. C., and Jalan, Z. A. (2000). Ruminal and intestinal digestibility of *Leucaena leucocephala* and *Arachis pintoi* in zebu cattle. **J. Anim. Sci.** 13: 333-334.

Khajarern, J. M., Khajarern, S., Bunsiddhi, K., and Sakiya, P. (1979). Chemical composition of Thai cassava root products in 1979. **KKU-IDRC CASSAVA/ NUTRITION Project annual report 1979** (pp. 19-30).

Kibria, S. S., Nahar, T. N., and Mia, M. M. (1994). Tree leaves as alternative feed resource for Black Bengal goats under stall-fed conditions. **Small Rum. Res.** 13: 217-222.

Kirtikar, K. R., and Basu, B. D. (1980). Indian Medicinal Plants; plates, Part I, The Panin Office, Bahadurganj, Allahabad, India, Plate. No. 102.

Klita, P. T., Mathison, G. W., Fenton, T. W., and Hardin, R. T. (1996). Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. **J. Anim. Sci.** 74: 1144-1156.

Krause, D. O., Denman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T., and McSweeney, C. S. (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. **FEMS Microb Rev.** 27: 663-693.

Krebs, G., and Leng, R. A. (1984). The effect of supplementation with molasses/urea blocks on ruminal digestion. **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** 15: 704.

Kunju, P. J. G. (1986). Urea-molasses block licks: a feed supplement for ruminants. In: Rice straw and Related Feeds in Ruminant Rations, **Proceedings of an International Workshop Kandy** (pp. 261-274). Sri Lanka : Ser Langor.

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

Le Jambre, L. F. (1996). Anthelmintics and preserving their effectiveness. In Le Jambre, L.F. and Knox, M.R. (eds.). **Sustainable Parasite Control in Small Ruminants** (pp 151-159). Indonesia: Bogor.

Leedle, J. A., Bryant, M. P., and Hespell, R. B. (1982). Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high-forage diets. **Appl. Environ. Microbiol.** 44: 402.

Leinmuller, E., Steingass, H., and Menke, K. H. (1991). Tannins in ruminant feedstuffs in animal research and development. **Numerous Members of German Universities and Research by Instuitions for Scientific Co-operation**. 321: 1-56.

Leng, R.A. (1991). Factors affecting the utilization of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutr. Res. Rev**. 3: 277-303.

Leng R. A. (1999). Duckweed: A tiny aquatic plant with high potential for agriculture and evironment. **Animal Production and Health Series.** FAO, Rome No: 143.

Leng, R. A., and Nolan, J. V. (1984). Symposium: Protein nutrition of the lactating nitrogen metabolism in the rumen. **J. Dairy Sci**. 67: 1072.

Li, Y., Tanner, G., and Larkin, G. P. (1996). The DMCA-HCL Protocal and the theshold of proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. **J. Sci. Food. Agric.** 70: 89-101.

Lila, Z. A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., and Itabashi, H. (2003). Effect of sarsaponin on rumen fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. **J. Dairy Sci.** 86: 3330-3336.

Lindberg, J. E. (1985). Estimation of rumen degradability of feed proteins. A Review. **Acta Agric. Scandin.** Supplement 25: 65-97

Lindberg, J. E., and Knutsson, P. G. (1981). Effect of bag pore size on the loss of particulate matter and on the degradation of cell wall fiber. **Agric. Envi.** 6: 171-182.

Lindberg, J. E., and Varvikko, T. (1982). The effect of bag pore size on the ruminal degradation of dry matter, nitrogous compounds and cell wall in nylon bags. **Swedish J. Agric. Res.** 12: 163-171.

Lowery, D. T., and Isman, M. B. (1994). Insect growth regulating effects of neem extract and azadirachtin on aphids. **Entomol. Exp. Appl.** 72: 77-84.

Lowry , J. B., Petheram, J. R., and Tangendjaja, B. (1992). **Plant Fed to Village Ruminants in Indonesia.** Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research.

Luque, A., Barry, T. N., McNabb, W. C., Kemp, P. D., and McDonald, M. F. (2000). The effect of grazing *Lotus corniculatus* during late summer-autumn on reproductive efficiency and wool production in ewes. **Aust. J. Agric. Res.** 51(3): 385-391.

Lyttleton, J. W. (1973). Proteins and nucleic acids. In Butler, G. W., and Bailey, R.W. (eds.). **Chemistry and Biochemistry of Herbage** (pp 63-103). London: Academic Press.

Machmuller, A., Ossowski, D. A., Wanner, M., and Kreozer, M. (1998). Potential of various fatty feed to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Resitec). **Anim. Feed Sci. Technol.** 71: 117.

Mackay, E. M., and Mackay, L. L. (1972). Estimation sugar and nitrogen compounds by enzymatic colorimetric test in serum and plasma**. J. Clini. Invest**. 4: 295.

Makkar, H. P. S. (2000). Evaluation and enhancement of feeding value of tanniniferous feeds. In: Brooker, J. D. (ed.). **Proc. International Workshop on Tannins in Livestock and Human Nutrition ACIAR Proceedings No.92** (pp 171).

Makkar, H. P. S. (2003 a). **Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage-A Laboratory Manual.** Dor-drecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Makkar, H. P. S. (2003b). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Rum. Res.** 49: 241-256.

Makkar, H. P. S. and Becker, K. (1994). Some problems in the determination of tannins and possible solutions. In: Geibel, M., Treutter, D., and Feucht, W. (eds.). **International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance** (pp 782-800). Weihenstephan, Germany: International Society for Horticultural Science.

Makkar, H. P. S., Bluemmel, M., and Becker, K. (1995a). Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. **Brit. J. Nutr.** 73: 897-913.

Makkar, H. P. S., Bluemmel, M., and Becker, K. (1995b). *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. **J. Sci. Food. Agric.** 69: 48-93.

Makkar, H. P. S., Bluemmel, M., and Becker, K. (1997). *In vitro* rumen apparent and true digestibility of tannin-rich forages. **Anim. Feed Sci. Technol.** 67: 245-251.

Makkar, H. P. S., Singh, B., and Kamra, D. N. (1994). Biodegradation of tannins in oak (*Quercus incana*) leaves by *Sporotrichum pulverulentum*. **Appl. Microb.** 18: 39-41.

Mangan, J. L. (1982). The nitrogenous constituents of fresh forages. In: Thomas, D.J., Beever,

D.E., Gunn, R.G. (eds.), **Forage Protein in Ruminant Animal Production, Occasional Publication No. 6** (pp. 25-40).

Mansour, F. A., and Ascher, K. R. S. (1995). Acarina, mites. In Schmutterer, H. (ed.). **The Neem tree *Azadirachta indica* A.Juss. and other Meliaceous Plants** (pp 161-166). New York, USA: VCH Publishers Inc.

Mathieu, F., Senaud, J., Jouany, J. P., Bohatier, J., Bertin, B., and Mercier, M. (1997). Effect of *Saccromyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the digestion of nitrogen in the rumen of defaunated and faunated sheep. **Anim. Feed Sci. Technol.** 75: 1.

Max, R. A., Wakelin, D., Buuttery, P. J., Kinambo, A. E., Kassuku, A. A., and Mtengor, L. A. (2002). **Potential of controlling internal parasitics infection in small ruminant with extracts of plant high in tannins.** University of Nottingham, School of bioscience. Loughborough.

McDowell, L. R. (1992). Minerals in nimal and human nutrition. **J. Anim. Sci.** 75: 139-145.

McGinty, D. D. (1969). **Factors affecting the digestibility of varieties of sorghum grain by cattle.** Ph.D. Dissertation, Texas A&M Univ., College Station.

McLeod, M. N. (1974). Plant-tannins. Theirs Role in Forage Quality. Nutr. Abstr. Rev. 11:803-815. McSweeney, C. S., Palmer, B., Bunch, R., and Krause, D. O. (1999). *In vitr*o quality assessment of tannin-containing tropical shrub legumes: protein and fibre digestion. **Anim. Feed Sci. Technol.** 82: 227-241.

McNabb, W. C., Waghorn, G. C., Peters, J. S., and Barry, T. N. (1996). The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* upon the solubilization and degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase protein in the rumen and on sites of digestion. **Br. J.Nutr.** 76: 535-549.

McNeill, D. M., Osborne, N., Osborne, N., Komolong, M. K., and Nankervis, D. (1998). Condensed tannins in the genus *Leucaena* and their nutritional significance for ruminants. In **Leucaena: Adaptation, availability and farming system, Proceedings** (pp. 205-214). Hanoi: ACIAR Proceedings.

McSweeney, C. S., Palmer, B., Krause, D. O., and Brooker, J. D. (1999). Rumen microbial ecology and physiology in sheep and goats fed a tannin containing diet. In: **Tannins in Livestock and Human Nutrition.** Proc. International Workshop, Adelaide, Australia.

McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D.M., and Krause, D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Anim. Feed Sci. Technol.** 91: 83-93.

Meagher, L. P., Lane, G. A., Sivakumaran, S., Tavendale, M. T., and Fraser, K. (2004). Characterization of condensed tannins from Lotus species by thiolytic degradation and electrospray mass spectrometry. **Anim. Feed Sci. Technol.** 117: 151-163.

Mehrez, A. Z. and Orskov, E. R. (1977). A study of articial bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **J. Agric. Sci. Camb.** 88: 645-650.

Michael, H., Tavendale, Lucy, P., Meagher, David, P., Nicola W., Graeme, Attwood, T., and Subathira, S. (2005). Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*,and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Anim.Feed Sci.Technol.** 24: 403-419.

Minn, B.R., McNabb, W.C. Barry, T.N., and Peters, J.S.. 1999. Solubilisation and degradation of protein from white clover and *Lotus comiculatus* by rumen micro-organisms and effect of condensed tannins in these processes. **J. Agric. Sci. Camb.** 49: 241-256.

Minn, B. R., McNabb, W. C., Barry, T. N., and Peters, J. S. (2000). Solubilisation and degradation of protein from white clover and *L. comiculatus* by rumen micro-organisms and effect of condensed tannins in these processes. **J. Agric. Sci. Camb.** 49: 241-256.

Min, B. R., Attwood, G. T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J. S., Barry, T. N., and McNabb, W. C. (2002a). *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease *in vivo* populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. **Can. J. Microb.** 48: 911-921.

Min, B. R., and Hart, S. P. (2003). Tannin for Suppression of Intestinal Parasites. **J. Anim. Sci.** 81(E Suppl.2): E102-E109

Min, B. R., Barry, T. N., Attwood, G. T., and McNabb, W. C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. **Anim. Feed Sci. Technol.** 106: 3-19.

Minato, K., S., Yusuf, M., Imamura, Y., and Takahash, M. (1993). Hygroscopic vibrational and biodeterioration characteristics of medium-density fiberboard treated with formaldehyde. Mokuzai Gakkaishi. **J. Japan Wood Res Soc.** 39: 190-197.

Mlambo, V., and Makkar, H. P. S. (2005). Calibration and validation of the ^{14}C-labelled polyethyleneglycol-binding assay for tannins in tropical browse. **Anim. Feed Sci. Technol.** 122: 29-40.

Mohammed, O.E. and Smith, R.H. (1977). Measurement of protein degration in the rumen. **Proc. Nutr. Soc.** 36:152A.

Molan, A. L., Hoskin, S. O., Barry, N. T., and McNabb, W. C. (2000). Effect of condensed tannins extracted from foor forage on the viability of the larvae of deer lunguorms and gastrointestinal nematodes. **Vet. Rec.** 147: 44-48.

Molan, A. L., Attwood, G. T., Min, B. R., and McNabb, W. C. (2001). The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria *in vitro* and their possible mode of action. **Can. J. Microbiol.** 47: 626-633.

Molan,A. L., Waghorn, G. C., and McNabb, W. C. (2002). The impact of condensed tannins on egg hatching and larval development of *Trichostrongylus colubriformis* in vitro. **Vet. Rec.** 65-69.

Mole, S., and Waterman, P. G. (1985). Stimulatory hydrolysis of proteins. **J. Chem Ecol.** 11: 1323-1332.

Mole, S., and Waterman, P. G. (1987a). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies I. techniques for chemically defining tannins. **Oecologia (Belgium)** 72: 137-147.

Montossi, F., Liu, F., Morris, J. S. T., Barry, T. N., and Risso, D. F. (2001). Influence of low level condensed tannins concentration in temperate forages on sheep performance. Proc. 17th international Grasslands Congress . **J. Agric. Sci. Camb.** 136: 241-251.

Mordue, A. J., and Blackwell, A. (1993). Azadirachtin : an Update. **J. Insect Physiol.** 39: 903-924.

Moss, A. R., and Givens, D. I. (2002). The effect of supplementating grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. **Anim. Feed Sci. and Technol.** 97: 127-134.

National Research Council. (1992). **Neem : A Tree Solving Global Problems.** Washington, D.C.National: Academy Press.

Neem Foundation, Mumbai, India. (1980-2008). **All Rights Reserved** [On-line]. Availabla: http://www.neemfoundation.org/neem-articles/about-neem-tree/chemistry-of-neem.html

Neem Association. (2006). Neem Oil Resources. Toxic insecticides Oakhurst Avenue Winter Park Publication 2. vp: CorelVentura 7.0 Ethnobotanical Leaflets. 39-80.

Netpana, N., Wanapat, M., Poungchompu, O., and Toburan, W. (2001). Effect of Condensed Tanin in Cassava Hay on Fecal Parasitic Egg Counts in Swamp Buffaloes and Cattle. **International Workshop on Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed.** 41-43.

Niezen, J. H. (2002). The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. **Vet. Parasitol.** 105: 229-245.

Nielson, C. K., and Ward, L. A. (1999). Enhanced detection of *Cryptosporidium parvum* in the acid-fast stain. **J. Vet. Diagn. Invest.** 11: 567-569.

Niezen, J. H., Niezen, T. S., Waghorn, W. A. G., Charleston, and Waghorn, G. C. (1994). Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contain condensed tannins. **J. Agric. Sci. (Camb.).** 125: 281-289.

Niezen, J. H., Waghorn, T. S., Charleston, W. A. G., and Waghorn, G. C. (1995). Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either Lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronoarium*) which contains condensed tannins. **J. Agric. Sci. (Camb)**. 131: 77-87.

Neizen, J. H., Robertson, H. A., Waghorn, G. C., and Charleston, W. A. G. (1998). Production, faecal egg counts and worm burdens of ewe lambs which grazed six contrasting forages. **Vet. Parasitol.** 80: 15-27.

Norton, B. W. (2000). The significance of tannins in tropical animal production. In Brooker, J. D. (ed.). **Tannins in livestock and human nutrition.** Proceedings of an International Workshop.

Norton, B. W., and Ahn, J. H. (1997). Comparison of fresh and dried *Calliandra calothyrsus* level for sheep given a basal diet of barley straw**. J. Agric. Sci. (Camb).** 129: 485-494.

Norton, B. W., Lowry, B., and McSweeney, C. (1995). The nutritive value of Leucaena species.

Proceeding of a workshop held in Bogor, Indonesia. ACIAR Proceeding. 57: 103-111.

NRC. (2001). **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** USA: NASW, DC.

O' Connell, J. E. (2000). **Food Chemistry**. University College, Cork, Ireland: Product Technology Department, NIZO Food Research.

Onifade, K. R. (1997). Effect of Operating Variables on the Production of Oxalic Acid from the Bark of *Eucalyptus camadulensis*. **4 Annual Conference of Kaduna Polytechnic College of Engineering Conference Series, Kaduna, Nigeria.**

Onwuka. (1992). C.F.I. Onwuka, Tannin and saponin contents of some tropical browse species fed to goats. **Trop. Agri. (Trinidad).** 69: 176-180.

Orpin, C. G., and Joblin, K. N. (1988). The rumen anaerobic fungi. In Hobson, P. N. (ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem** (pp 129-150). London, U.K.: Elsevier Applied Science Publishers.

Orpin, C. G., and Joblin, K. N. (1997). The rumen anaerobic fungi. In Hobson, P. N., Stewart, C. S. (eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem, Second Edition** (pp. 129-151). New York: Chapman & Hall.

∅rskov, E. R., Deb Hovell, F. D., and Mould, F. (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feed stuffs. **Trop. Prod.** 5: 195.

∅rskov, E. R., and McDonald, I. (1979). The estimate of protein degrabolity in the rumen from Incubation measurements weighted according to rate of passage. **J. Agric. Sci**. **Camb**. 92: 499-503.

Paengkoum, P., and Liang, J. B. (2003). Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of protein foliages measured by mobile bags incubated with and without pepsin-HCl and a three-step *in vitro* technique. **Malaysian J. Anim. Sci.** 8(1): 93-98.

Paengkoum, P., Liang, J. B., Jelan, Z. A., and Basery, M. (2006). Utilization of steam-treated oil palm fronds in growing Saanen goats II. Supplementation with energy and urea. **Asian-Aus. J. Anim. Sci.** 19(11): 1623-1631.

Pradham, K. (1994). Rumen ecosystem in relation to cattle and buffaloe nutrition. In M. Wanapat and K. Sommart (eds.). **Proc. The First Asian Buffalo Association Congress. Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.**

Perdok, H. B., and Leng, R. A. (1990). Effect of supplementation with protein meal on the growth of cattle given a basal diet of untreated ammoniated rice straw. **Asian-Aus. J. Anim. Sci.** 3: 269.

Perdok, H. B., Leng, R. A., Bird, S. H., Habib, G., and Van houtert, M. (1988). In Thomson, E. F., and Thomson, F. S. (eds.). **Increasing Small Ruminant Productivity in Semi-arid Areas** (pp 81-91). Syria: ICARDA.

Perez-Maldonado, R. A., and Norton, B. W. (1996). The effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. **Brit. J. Nutr.** 76: 515-533.

Perry, L. M. (1980). **Medicinal Plants of East and Southeast Asia; Attributed properties and uses.** USA.: The Massachusetts Institute of Technology.

Playne, M. J., Khumnualthong, W., and Echevevarria, H. I. (1978). Factors affecting the digestion of oesophageal fistula samples and hay samples in nylon bag in the rumen of cattle. **J. Agric. Sci. Camb.** 90: 193-204.

Plumb, D. C. (1999). **Veterinary Drug Handbook** [On-line]. Available: http://www.saanendoah.com/bloodvalues.html

Pomroy, W. E., Hart, S. P., and Min, B. R. (2002). Titration of efficacy of ivermectin and moxidectin against an ivermectin-resistant *Haemonchus contortus* derived from goats in the field. **J. Anim. Sci.** 80(2): 30. (Abstr.)

Poncet, C., and Remond, D. (2002). Rumen digestion and intestinal nutrient flows in sheep consuming pea seeds: the effect of extrusion or chestnut tannin addition. **Anim. Res.** 51: 201-216.

Preston, T. R., and Leng, R. A. (1984). Supplementation of diets based on fibrous residues and by-products. In: **Straw and other Fibrous By-products as Feed** (pp 373-413). Amsterdam: Elsevier Press.

Prigge, E. C., Fox, J. T., Jacquemet, N. A., and Russell, R. W. (1993). Influence of forage species and diet particle size on the passage of digesta and nylon particles from the reticulorumen of steers. **J. Anim. Sci.** 71: 2760-2769.

Prins, R. A. (1971). Isolation, culture, and fermention characteristics *of Selenomonas ruminantium* var. *bryanti* var. n. from the rumen of sheep. **J. Bacteriol.** 105: 820.

Pritchard, D. A., Stocks, D. C., O'Sullivan, B. M., Martin, P. R., Hurwood, I. S., and O'Rourke, P. K. (1988). The effect of polyethylene glycol (PEG) on wool growth and liveweight of sheep consuming a mulga (*Acacia aneura*) diet. **Aust. Society Anim. Prod.** 17: 290-293.

Puchala, R., Min, B. R., Goetsch, A. L., and Sahlu, T. (2005). The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **J. Anim. Sci.** 83: 182-186.

Quin, J. I., Van der Wath, J. G. and Myburgh, S. (1938). Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. IV. Description of experimental technique. **Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Indust.** 11(2): 341-360.

Rajasri, M., Reddy, G. P. V., Krishanamurthy, M. M., and Prasad, V. D. (1991). Bioefficacy of certain newer insectiicides including neem products against chilly pest complex. **Indian Cacao Arecanut and Spices J.** 15: 42-44.

Ramu, A., Reddy, T. J., and Raghavan, G. V. (1997). Proteolytic activity in rumen of sheep and goatsfed complete feeds containing water washed neem seed-cake. **Indian J. Anim. Sci.** 67: 930.

Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J. Anim. Sci.** 73: 1516-1528.

Reed, J. D., McDowell, R. E., Van Soest, P. J., and Horvath, P. J. (1982). Condensed tannins a factor limiting the use of cassava forage. **J. Sci. Food Agric.** 33: 2131.

Reed, J. D., Horvath, P. J., Allen, M. S., and Van Soest, P. J. (1985). Gravimetric Determination of Soluble Phenolics Including Tannins from Leaves by Precipitation with Trivalent Ytterbium. **J. Sci. Food Agric.** 36: 255-61.

Resines, J. A., Arin, M. J., and Diez, M. T. (1992). Determination of creatinine and purine derivatives in ruminants urine by reserved phase high-performance liquid chromatography. **J. Chromatography.** 607: 199-202.

Robert, P. B. (1971). Method for estimation of tannin in grain sorghum. **Agron. J.** 63: 511-512.

Robinson, T. (1980). **Flavonoids and Related Compounds; The Organic Constituents of Higher Plants, 3rd Edn.** USA: Cordus Press.

Rojas, D. K., Lopez, J., Tejada I., Vazquez, Shimada, A., Sanchez, D., and Ibarra, F. (2005). Impact of condensed tannins from tropical forages on *Haemonchus contortus* burdens in

Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) and Pelibuey lambs. **J. Anim. Sci. Technol.** 128: 218-228.

Ross, M. D., and Jones, W. T. (1974). The tannins act to reduce the level of soluble proteins in ingested legume forage. **N.Z.J. Agric. Res.** 17: 191-195.

Russell, J. B. (1998). The importance of pH on the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. **J. Dairy Sci.** 81: 3222-3230.

Saithanoo, S. (1996). Internal Parasits in Goats in Southern Thailand. In: L.F. Le Jambre and M.R. Knox (eds.). **ACIAR Proceedings No 74; Sustainable Parasit Control in Small Ruminants** (pp 119-122). Indonesia: Bogor.

Sanguanpong, U., and Schmutterer, H. (1992). Laboratory trials on the effects of neem oil and neem-seed based extracts against the two-spotted spider mite Tetranychus urticae Koch (Acari:Tetranychidae**). J. Plant Diseases Prot.** 99(6): 637-646.

Santos, G. T., Oliveira, R. L., Petit, H. V., Cecato, U., Zeoula, L. M., Rigolon, L. P., Damasceno, J. C., Branco, A. F., and Bett, V. (2000). Short communication: Effect of tannic acid on composition and ruminal degradability of Bermuda grass and alfalfa silages. **J. Dairy Sci.** 83: 2016-2020.

SAS. (1985). **User'Guide: Statistics.** SAS Institute Inc., North Carolina. 231p.

Satter, L. D., and Slyter, R. E. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **Brit. J. Nutr.** 32: 199.

Schauer, M. (1980). **Wirkung von Extrakten aus *Azadirachta indica* und *Ajuga spp*. Aufdie Gemeine Spinnmilbe Tetranychus urticae Koch**. Diplomarbeit, Justus-Liebig Universitaet: Giessen.

Schauer, M., and Schmutterer, H. (1981). **Effects of neem kernel extracts on the two spotted spider mite Tetranychus urticae.** Rottach-Egern, Germany: Proc. 1 Int. Neem Conf.

Schmutterer, H. (1988). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annu. Rev. Entomol.** 35: 271-297.

Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. **Annu. Rev. Entomology.** 35: 271-297.

Schmutterer, H. (1995). The neem tree: Source of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes. VCH, Weinheim.

Schmutterer, H., and Freres, T. (1990). Influence of neem-seed oil on metamorphosis, color and behavior of the desert locust, Schistocerca gregaria (Forsk), and the African migratory locust, Locusta migratoria migratariodes (R.&F.). **Zeitschriftfuer Pflanzenkrahkheiten and Pflanzenschutz.** 97(4): 431-438

Schneider, B. H., and Flatt, W. P. (1975). **The evaluation of food though digestibility experiments.** Georgia, USA.: The University of Georgia Press.

Siddons, R. C. and Paradine, J. (1983). Protein degradation in the rumen of sheep cattle. **J. Sci, Food and Agric**. 34: 701-708.

Sliwinski, B. J., Soliva, C. R., Machmüller, A., and Kreuzer, M. (2002). Efficacy of plant extracts in secondary constituents to modify rumen fermentation. **Anim. Feed Sci. Technol.** 101: 101-104.

Slyter, L. L. (1976). Influence of acidosis on rumen function. **J. Anim. Sci.** 43: 910.

Sommart, K., Wanapat, M., Parke, D. S., Rowlinson, P., Climee, P., and Panishying, S. (2000). The use of cassava chips as an energy source for lactating dairy cows fed with rice straw. **Asian Aust. J. Sci.** 13: 1094-1101.

Song, M. K., and Kenelly, J. J. (1990). Ruminal fermentation pattern, bacterial population and ruminal degradation of feed ingredients as influenced by ruminal concentration. **J. Anim. Sci.** 68: 1110-1120.

Soulsby, E. J. L. (1982). **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.** London: Bailliere Tindall.

Stewart, C. S., Flint, H. J., and Bryant, M. P. (1997). The rumen bacteria. In Hobson, P. N., and Stewart, C. S. (eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem** (pp. 10-72). London: Chapman & Hall.

Stiles, D. A., Bartley, E. E., Meyer, R. M., Deyoe, C. W., and Pfost, H. B. (1970). Feed processing VII. Effect of an expansion-processed mixture of grain and urea (starea) on rumen metabolism in cattle and on urea toxicity. **J. Dairy Sci.** 53: 1436.

Subbaraman, R. B., and Brucker, B. R. (2001). Method for using neem extracts and derivatives for protecting wood and other cellulosic composites. United States Patent 6294571. Patents in Class 424/413 US Patent Issued on September 25, 2001

Susanne, R., Steinga, H., and Drochner, W. (2001). **Topic: Reducing the methane emission**

and optimisation of N-supply in ruminants by treating feeds with tannins. Projects of the Graduiertenkolleg, Department of Animal Nutrition, University of Hohenheim.

Swain, T. (1965). The tannins. In Bonner, J., and Varner, J. (eds.). **Plant biochem** (pp 552-580). New York: Acad. Press.

Tagari, H., Henis, Y., Tamir, M., and Volcani, R. (1965). Effect of carob pod extract on cellulolysis, proteolysis, deamination and protein biosynthesis in an artificial rumen. **Appl. Microb.** 13: 437-442.

Tamminga, S. (1996). A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. **J. Anim. Sci.** 74: 3112-3124.

Teferedegne, B., McIntosh, F., Osuji, P. O., Odenyo, A., Wallace, R. J., and Newbold, C. J. (1999). Influence of foliage from different accessions of the sub tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopia and Scottish sheep**. Anim. Feed Sci. Technol.** 78: 11–20.

Terrill, T. H., Rowan, A. M., Douglas, G. B., and Barry, T. N. (1992b). Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. **J. Sci. Food Agric.** 58: 321-329.

The *Appalachian* Farming System Research Center. (1990). **The *Appalachian* Sustainable Agriculture Project (ASAP).** New York: Orchard Books.

Thompson, L. H., Wise, M. B., Harvey, R. W., and Barrick, E. R. (1972). Starea, urea and sulfer in beef cattle rations. **J. Anim. Sci.** 35(2): 474.

Tolera, A., Seyoum, M., and Sundstol, F. (1998). Nutritive Evaluation of *Leucaena leucocephala*, L. diversifolia and *L. pallida* in Awassa, Southern Ethiopia. *In Leucaena* - Aadaptation, Quality and Farming Systems. **ACIAR Proceedings No 86, Proceeding of a workshop held in Hanoi, Vietnam.**

Trease, G. E., and Evans, W. C. (1983). **Tannins; Pharmacognosy, 12th Edn**. William Clowes and Sons Limitted, London: Colchester and Beccles.

Turner, B. L. (1990). As part of a wider systematic study of Lucaena the comparative morphology pubmens. **Lucaena Res Rep.** 7(2): 6-20.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., and Lewis, B. A. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation of animal nutrition. **J. Dairy**

Sci. 74: 3583-3597.

Van Vessel, J. S., and Russell, J. B. (1996). The Effect of Amino Nitrogen on the Energetics of Ruminal Bacteria and Its Impact on Energy Spilling. **J. Dairy Sci.** 79: 1237-1243.

Vearasilp, T., and Mikled, C. (2001). **Sites and extent of starch digestion in ruminants.** In International Workshop Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed. Khon Kaen, Thailand. 73-76.

Verbic, J. J., Chen, X. B., Macleod, N. A., and Ørskov, E. R. (1990). Excretion of purine derivatives by ruminant: Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative sexcretion by steerf. **J. Agric. Sci. Camb.** 144: 243-256.

Vickery, M. L., and Vickery, B. (1981). **Secondary Plant Metabolism.** London and Basingstoke: The Macmillan Press Ltd.

Von der Heyde, J. (1985). Neem oil and neem extracts as potential insecticides for control hemipterous rice pests. **Proc. 2 Int. Neem Conf. Rauischholzhausen, Germany.**

Waghorn, C. G., and Shelton, I. D. (1997). Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. **J. Agric. Sci.** 128: 365-372.

Waghorn, G. C., Ulyatt, M. J., John, A., and Fischer, M. T. (1987). The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotuscorniculatus* L. **Brit. J. Nut.** 57: 115-126.

Waghorn, G. C., Shelton, I. D., McNabb, W. C., McCutcheon, S. N. (1994). Effects of condensed tanninin *Lotus Pedunculatus* on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **J. Agric. Sci. (Cambridge)** 123: 109-119.

Wallace, R. J. (1979). The rumen microbial ecosystem. **J. Appl. Bact.** 47: 443-445.

Waller, P. J. (1996). Worm Control of Livestock-The biological alternative. In L.F. Le Jambre, and M.R. Knox (eds.). **ACIAR Proceedings No 74; Sustainable Parasit Control in Small Ruminants** (pp 160-164). Indonesia: Bogor.

Waller, P. J. (1997). Nematode parasite control in livestock in topic/subtropics. **J. Para.** 27: 1193-1201.

Wanapat, M. (1985). Improving rice straw quality as ruminat feed by urea treatment in Thailand. In M. Wanapat and C. Devendra (eds.). **Relevance of Crop Residues as Animal Feeds in Developing Countries** (pp. 147-175). Proceedings of an International Workshop held

in Khon Kaen Thailand, November 29-December 2, 1984.

Wanapat, M. (1990). **Nutirional Aspects of Ruminant Production in Southeast Asia with Special Refernece to Thailand.** Khon Khan University. Thailand.

Wanapat, M. (1999). **Feeding of Ruminants in the Tropics Based on Local Feed Resources.** Khon Kaen, Thailand: Khon Kaen Publ. Comp. Ltd.

Wanapat, M. (2001). **Role of cassava hay as animal feed in the tropics**. International Workshop on Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed. MEKARN (SAREC) and Khon Kaen University. Thailand.

Wanapat, M., Polthanee, A., Wachirapakorn, C., Anekuit, T., and Mattarat, S. (2001). **Crop-animal system research network (CASREN)**. Progess Report Report-Thailand, ILRI Paper.

Wanapat, M., Petum, A, and Pimpa, O. (1999). Strategic supplementation with a high-quality-feed block on roughage intake, milk yield and composition, and economic return in lactating dairy cows. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 6: 901-903.

Wanapat, M., Petlum, A., and Pimpa, O. (2000). Supplementation of cassava hay to replace concentrate use in lactating Holstein Friesian crossbreds. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 13: 600-604.

Wanapat, M., and Devendra, C. (1995). Relevant of Crop Residues as Animal Feed in Developing Countries. In Proc. of An International Workshop held in Khon Kean University. Khon Kaen, Thailand.

Wanapat, M., and Pimpa, O. (1999). Effect of ruminal NH_3-N levels on ruminal fermentation purine derivatives, digestibility and rice straw intake in swamp buffaloes. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 12: 904-907.

Wanapat, M., Pimpa, O., Petlum, A., and Boontao, U. (1997). Cassava hay: A new strategies feed for ruminants during the dry season. In Proc. (Regional Seminar-Workshop "Better Use of Locally Available Feed Resources in Sustrainable Livestock-Based Agricultural System in Asia). FAO and Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Kampuchia.

Wanapat, M., Pimpa, O., Sripuek, W., Puramongkol, T., Petlum, A., Boontao, U., Wachirapakorn, C., and Sommart, K. (2000c). Cassava hay: an important on-farm feed for ruminants. In J. D. Brooker (ed.). **Proc. International Workshop on Tannins in**

Livestock and Human Nurition (pp 71-74). ACIAR Proc.

Wanapat, M., Puramongkon, T., and Siphuak, W. (2000b). Feeding of cassava hay for lactating dairy cows. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 13: 478-482.

Waniska, R. D., and Gomez, M. H. (1992). Dispersion behavior of starch. **Food Technol.** 14(5): 44.

Wang, Y., McAllister, T. A., Newbold, C. J., Rode, L. M., Cheeke, P. R., and Cheng, K. J. (1998). Effects of *Yucca schidegera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). **Anim. Feed Sci. Technol.** 74: 143-153.

Wanghorn, G. C., John, A., Jones, W.T., and Shelton, I. D. (1987). Nutritive value of *Lotus corniculatus* containing low and medium concentrations for sheep. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** 47: 25-30.

Wanghorn, G. C., Shelton, I. D., McNabb, W. C., and McCutcheon, S. N. (1994). Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **J. Agric. Sci.** 123: 109-119.

Warner, A. C. I. (1966). Periodic changes in the concentrations of micro-organisms in the rumen of a sheep fed a limited ration every three hours. **J. Gen. Microbiol**. 45: 237-241.

Warner, A. C. I. (1996). Periodic changes in the concentrations of microorganisms in the rumens of sheep fed to appetite in pens or on pasture. **J. Gen. Microb.** 45: 237-242.

Warthen, Jr., J. D. (1989). Neem (*Azadirachta indica* A. Juss): Organisms affected and reference list update. **Proc. Entomolgical Society of Washington.** 91(3): 367-388.

Waterman, P. G., Mbi, C. N., Mckey, D. B., and Gartlan, J. S. (1980). African rainforest vegetation and rumen microbes. **Oecologia (Berlin)** 47: 22-33.

Williams,. A. G. (1988). Interactions between the methanoglen. Methanosarcina barkeri and rumen holotrich ciliate protozoa. **Appl. Microb. [PubMed] Microbiol Rev.** 54(9): 2293-2299.

Williams, A. G., and Coleman, G. S. (1997). The rumen protozoa. In P. N. Hobson and C. S. Stewart (eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem, Second edition** (pp 73-139). London: Blackie Academic and Professional.

Williams, A. G., and Strachan, N. H. (1984). The distribution of polysaccharide-degrading

enzymes in the bovine rumen digesta ecosystem. **Curr. Microbiol.** 10: 215.

Willian, C. E., (1996). **Trease and Evans'Pharmacognosy.** Britain: WB Saunders Company Ltd.

Wina, E., Muetzel, S., and Becker, K. (2005). The dynamics of major fibrolytic microbes and enzyme activity in the rumen in response to short and long term feeding of *Sapindus rarak* saponins. **J. Appl. Microbiol.** 100**:** 114-122.

Wiseman, B. R., and Wilson, R. L. (1988). Field and laboratory evaluation of selected maize plant introductions for corn earworm responses at two locations. **Maydica.** 33: 179-187.

Woodward, S. L., Auldist, M. J., Laboyrie, P. J., Janse E. B. L., and Cottle, D. (1999). Effect of *Lotus corniculatus* and condensed tannins on milk yield and milk composition of dairy cows. **Proc. NZ. Soc. Anim. Prod.** 13: 152-155.

Zimmer, N., and Cordesse, R. (1996). Digestibility and ruminal digestion of non-nitrogenous compounds in adult sheep and goats: effect of chestnut tannin. **Anim. Feed. Sci. Tech.** 61: 259-273.

ภาคผนวก ก

วิธีการทดลองทางห้องปฏิบัติการ

1. การศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็ก Three-step *in vitro* procedure

Three step พัฒนามาจากกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก การย่อยของเปปซินและการย่อยในลำไส้เล็ก มาประยุกต์เป็น 3 ขั้นตอน

Step 1 Ruminal incubation บ่มที่กระเพาะรูเมน 12 - 16 ชั่วโมง ใน Dacron polyester bag

Step 2 Pepsin-HCl โดยใช้เอนไซม์ pepsin-HCl เพื่อจำลองลักษณะให้คล้ายคลึงกับกระเพาะจริง หรือ abomasum

Step 3 Intestinal digestions by pancreatin จำลองสภาพให้คล้ายคลึงกับส่วนของลำไส้เล็ก โดยใช้สารละลาย pancreatin

สำหรับการใส่ Trichloroacetic a solution (TCA) นั้น เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ไม่ให้เกิดการย่อยต่อไป และแยกส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อย สุดท้ายนำมาวัดค่าโปรตีนส่วนที่หายไป เพื่อไปวิเคราะห์หาส่วนที่ย่อยได้ในลำไส้เล็ก ตามวิธีการของ Calsamiglia and Stern (1995)

<u>สารเคมี</u>

1. 0.1 N HCl containing : 1 กรัมต่อลิตร of pepsin (Sigma p-7012, Sigma)
2. 1 N NaOH
3. pancreatin solution containing:
   - 0.5 M KH_2PO_4 buffer standardized at pH 7.8
   - 50 ppm Thymol
   - 3 กรัมต่อลิตร pancreatin (Sigma p-7545, Sigma)
4. 100 เปอร์เซ็นต์ (wt/vol) trichloroacetic acid

<u>อุปกรณ์</u>

1. Centrifugation tube
2. pH meter
3. Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร -200 มิลลิลิตร
4. Shaker water bath
5. Micropipet, pipet
6. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge machine)
8. เครื่อง Vortex

<u>วิธีการเตรียมสารละลาย</u>

ยกตัวอย่างเช่น จำนวนตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง

1. **0.1 N HCl 1 กรัมต่อลิตรของ pepsin (Sigma p-7012, Sigma) pH 1.9 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร**

   ปริมาณที่ใช้ 10 มิลลิลิตร/sample ใช้ทั้งหมด 40 มิลลิลิตร

   จาก N1V1 = N2V2

   N1 = 12 N HCl V1 = Volume 12 N HCl

   N2 = 0.1 N HCl V2 = 40 มิลลิลิตรของ 0.1 N HCl

   แทนค่า

   12 x V1 = 0.1 x 40

   V1 = (0.1 x 40)/12

   = 0.33 มิลลิลิตร

   เพราะฉะนั้นใช้ 12 N HCl = 0.4 มิลลิลิตรน้ำกลั่น = 39.6 มิลลิลิตร

   เนื่องจากมี 1 กรัมต่อลิตร pepsin เป็นองค์ประกอบ

   นั่นคือ สารละลาย 1000 มิลลิลิตร ที่ pepsin 1 กรัม

   ดังนั้น สารละลาย 40 มิลลิลิตร มี pepsin = (1 x 40)/1000 กรัม

   = 0.04 กรัม

2. **1 N NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร**

   กรัมสมมูลย์ของ NaOH = 40 กรัม

   1 N NaOH ใช้ NaOH 40 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนั้นใช้ NaOH 0.08 กรัมในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร

3. **Pancreatin solution (0.5 M KH_2PO_4 buffer standardized at pH 7.8 + 50 ppm thymol + 3 กรัมต่อลิตรของ pancreatin (Sigma p-7545, Sigma)**

   น้ำหนักอะตอม K=39, H=1, P=31, O=16

   มวลโมเลกุลของ KH_2PO_4 = 1(39) + 2(1) + 1(31) + 4(16)

   = 136

   นั่นคือ 1 M KH_2PO_4 ใช้ KH_2PO_4 = 136 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

   0.5 M KH_2PO_4 ใช้ KH_2PO_4 = 136 x 0.5

   = 68 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

   เพราะฉะนั้นใช้ 0.5 M KH_2PO_4 ปริมาตร 54 มิลลิลิตร ใช้ KH_2PO_4 = (68 x 54)/1000 = 3.7 กรัม ในสารละลาย 54 มิลลิลิตร และประกอบด้วย 50 ppm thymol

เตรียม Stock 0.1 กรัม/ 10 มิลลิลิตร

1 กรัมในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (0.1เปอร์เซ็นต์) เช่น 50 ppm:

สารละลาย 1×10^6 มิลลิลิตร มีเนื้อสาร 50 กรัม

สารละลาย 54 มิลลิลิตร มีเนื้อสาร $= (50 \times 54)/1 \times 10^6$

$= 2.7 \times 10^{-3}$ (5×10^{-3}เปอร์เซ็นต์)

จาก N1V1 = N2V2

แทนค่า

(10 เปอร์เซ็นต์) V1 = (5×10^{-3} เปอร์เซ็นต์) (54)

$$V1 = \frac{(5 \times 10^{-3} \text{ เปอร์เซ็นต์})(54)}{10}$$

$= 270 \times 10^{-4}$

$= 2.7 \times 10^{-2}$ = 0.027 มิลลิลิตร

Pancreatin 3 กรัม/ลิตร:

1000 มิลลิลิตร ของสารละลาย มี pancreatin 3 กรัม

54 มิลลิลิตร ของสารละลายมี pancreatin = (3 x 54)/1000

= 0.162 กรัม

ดังนั้น Pancreatin solution มีส่วนประกอบดังนี้ คือ

KH_2PO_4	= 3.7 กรัม
Thymol (solution)	= 0.027 มิลลิลิตร
Pancreatin	= 0.162 กรัม
น้ำกลั่น	= 53.973 มิลลิลิตร

4. 100 เปอร์เซ็นต์ (Wt/Vol) trichloroacetic (TCA) solution ปริมาตร 12 มิลลิลิตร

Thymol 12 กรัม ในน้ำกลั่น 12 มิลลิลิตร

วิธีการศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็ก

มีวิธีการดังนี้คือ

ชั่งอาหาร 1.5 กรัม (กรองผ่านตะแกรงขนาด 2 มม.)

↓

นำมาใส่ใน 6 ซม. X 10 ซม. Dacron polyester bag

↓

นำไปบ่มที่กระเพาะหมัก 12 - 16 ชั่วโมง

↓

เมื่อครบเวลาให้นำถุงมาล้างโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านจนกระทั่งน้ำใส

↓

นำไปอบแห้งที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ใช้ force-air oven)

↓

นำอาหารที่เหลือจากการบ่มมารวมกันโดยให้มีไม่ต่ำกว่า 60 มิลลิกรัมของ residual N/อาหาร

↓

ชั่งอาหารมา 15 มก. ใส่ใน 50 มล. Centrifugation tube

↓

เติม 10 มล. ของสารละลาย pH 1.9 ของ 0.1 N HCl ซึ่งประกอบด้วย 1 กรัมต่อลิตรของ pepsin (Sigma p-7012, Sigma)

↓

เขย่าด้วย Vortex

↓

Incubate ที่ 38 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ใน shaker waterbath

↓

เติม 0.5 มิลลิลิตร ของ 1 N NaOH solution และ 13.5 มิลลิลิตร ของ pancreatin solution (ประกอบด้วย 0.5M KH_2PO_4 buffer stardized ที่ pH 7.8 ซึ่งมี 50 ppm ของ thymol (ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์) และ 3 กรัมต่อลิตร ของ pancreatin (Sigma p-7545, Sigma))

↓

เขย่าด้วย Vortex

Incubate ที่ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน shaker waterbath

และนำไปเขย่าด้วย vortex ทุก 8 ชั่วโมง

↓

เติม 3 มิลลิลิตร ของ 100 เปอร์เซ็นต์ (wt./vol) ของ trichloroacetic acid (TCA) solution เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์และแยกส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อย

↓

เขย่าด้วย Vortex

↓

ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

↓

Centrifuge ที่ 10,000xg ตัดg ออก 15 นาที (เคาะระหว่าง 15 กับนาทีด้วยจ้า)
นำ Supernatant ไปวิเคราะห์ โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC,1980)

↓

การคำนวณการย่อยได้ของโปรตีนโดย Pepsin-pancreatin จาก TCA soluble - N/N ทั้งหมดของตัวอย่างที่ใช้ (Dacron bag residue)

2. การวิเคราะห์การแยกปริมาณสารแทนนินในใบและก้านสะเดา ดัดแปลงจาก

การวิเคราะห์การแยกปริมาณสารแทนนินในใบและก้านสะเดา ดัดแปลงจากวิธีของ (Horigome et al. 1988; Perez-Maldonado et al. 1995; Dazell and Kervin, 1998; Robert, 1971)

<u>สารเคมี</u>

1. Stock 0.1 เปอร์เซ็นต์ ascorbic acid ใน 70 เปอร์เซ็นต์ acetone solution (70 เปอร์เซ็นต์ ACT) ละลาย ascorbic 0.1 กรัม ใน acetone 700 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร (เตรียม 1 ลิตรของ 70 เปอร์เซ็นต์ acetone โดยปริมาตร โดยผสมอะซิโตนต่อน้ำ เท่ากับ 70 ต่อ 30 (เพื่อช่วยไม่ให้แทนนินอ๊อกซิไดซ์กับอากาศ)
2. Stock 95 butanol in HCL (95:5 by V/V) (95 เปอร์เซ็นต์ BUT) ละลาย HCL 5 มิลลิลิตรใน butanol 95 มิลลิลิตร
3. Stock ferric reagent (2 เปอร์เซ็นต์ ferric ammonium sulfate in 2N HCL) (2 เปอร์เซ็นต์ FER) เตรียม 2N HCL 1 ลิตร แล้วดูดสารละลายดังกล่าวมา 100 มิลลิลิตร เติม ferric 2 กรัม

<u>อุปกรณ์</u>

1. Black plastic bag และ Ice box
2. Tube
3. Beaker ขนาด 10 มิลลิลิตร -100 มิลลิลิตร

4. ขวดสีชา
5. Micropipet, pipet
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge machine)
7. เครื่อง Freeze drier
8. เครื่อง Spectrophotometer
9. เครื่อง Ultrasonic water bath
10. เครื่อง Vortex

<u>วิธีการ</u>

1. เก็บตัวอย่างใบและก้านสะเดาสดจากต้นแล้ว ให้นำมาที่ห้องแลปโดยเร็ว วิธีการที่ใช้ คือ บรรจุใส่กล่องมืดและปิดสนิทหรือใส่ถังพลาสติกที่มีน้ำแข็งแห้ง เพื่อ fix สภาพทางชีววิทยาและลดกิจกรรมการสูญเสียสารคอนเดนซ์แทนนิน และเพื่อไม่ให้เกิดความร้อนจากการคายใบ ระหว่างการนำมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ
2. เนื่องจากข้อเท็จจริงที่ว่าแทนนินสามารถเปลี่ยนคุณสมบัติหรือสลายตัวได้ง่ายเมื่อผ่านอุณหภูมิสูง (มากกว่า 60 องศาเซลเซียส) ดังนั้นการเก็บตัวอย่างและการอบแห้งตัวอย่างพืชเพื่อรักษาสภาพและคุณสมบัติของแทนนินไม่ให้ถูกทำลายก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์หรือเพื่อที่จะการสกัดแทนนินบริสุทธิ์ จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง การทำแห้งตัวอย่างพืชที่อุณหภูมิติดลบในสภาวะสูญญากาศ (lyophilization) ด้วยเครื่องทำแห้งสูญญากาศหรือฟริซดายเออร์ (freeze-dryer) ค่อนข้างได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามเครื่องพริซดายเออร์มีราคาและค่าบำรุงรักษาที่ค่อนข้างแพงและอาจจะหายาก เพื่อเป็นอีกหนึ่งแนวทางเลือกที่เป็นไปได้ในการลดการพึ่งพาการใช้เครื่องพริซดายเออร์ สามารถใช้การอบในตู้อบอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 4 8-96 ชั่วโมง จะทำให้ตัวอย่างแห้งได้ ซึ่งขึ้นกับตัวอย่างพืชด้วย (การทำให้เป็นชิ้นเล็กเช่นการตัดด้วยกรรไกร หรือหั่นด้วยมีดอาจจะช่วยได้) ถ้าการสกัดแทนนินที่ขั้นตอนขั้นตอนหนึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส เราก็จะได้แทนนินที่ตายแล้วหรือหมดสภาพ และอาจจะเสียคุณสมบัติ nature ต่าง ๆ เช่น biological activity ได้ การต้มเพื่อให้ได้แทนนิน เช่น ในการชงชา เราได้แทนนินแต่คุณสมบัติทางธรรมชาติขาดหายไป
3. เมื่อได้ตัวอย่างพืชที่แห้งจากการอบแล้ว นำมาบดด้วยเครื่องบดที่มีขนาดตะแกรงไม่เกิน 0.5 มิลลิเมตร เป็นผงขนาดละเอียด ตัวอย่างพืชที่บดเรียบร้อยแล้วจะถูกเก็บในภาชนะพลาสติกและปิดให้มิดชิดไม่ให้อากาศเข้า จดบันทึกรายละเอียดต่า ง ๆ และจัดเก็บในตู้แช่เย็น (freezer) จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หรือสกัดต่อไป ซึ่งเราอาจจะเตรียม 1 หรือ 5 กก. แล้วแต่จำนวนที่ต้องการ หากเลือกอีกวิธีการหนึ่ง คือหั่นตัวอย่าง

ขนาด 1 นิ้ว บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ลงในขวดสีชาและเก็บส่วนที่ไม่ได้ใช้ในตู้แช่แข็งโดยเร็ว แช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ก่อนนำเข้าเครื่อง freeze drier จนแห้ง

4. จากนั้นนำเอาตัวอย่างของพืชที่บดและเก็บไว้ข้างต้นไป ชั่งตัวอย่าง 200 มิลลิกรัมลงในบีกเกอร์ สกัดด้วย 70-act โดยเทลงในบีกเกอร์ และแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง ปิดปากบีกเกอร์ให้แน่นสนิท เท 70-act ให้ท่วมตัวอย่างพืชบดสูงประมาณ 1-2 เท่าของตัวอย่างพืชบด หรือประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปคนและเขย่าอย่างแรง (สกัดแบบใช้แรงคนแทนการใช้ sonicator) ประมาณ 10-15 นาที หรือเข้าเครื่อง Ultrasonic water bath 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง โดยพักครั้งละ 5 นาที
5. เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงสารตกตะกอนที่ความเร็วประมาณ 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที หากไม่มีเครื่องปั่นเหวี่ยง อาจใช้การกรองด้วยกระดาษกรอง what man วางบนกรวยกรอง funnel filter เพื่อเอาสารละลายสกัด ส่วนที่เป็นของเหลวสีใส (supernatant) ให้ได้เป็น <u>สารละลายสกัดขั้นที่ 1</u> จากนั้นนำกากที่เหลือกลับไปสกัดใน 70-act อีก 2 ครั้ง ตามข้างต้น โดยเติม 70 เปอร์เซ็นต์ ACT 5 มิลลิลิตร ทั้งหมดประมาณ 3 ครั้ง แล้วนำ supernatant ที่ได้ทั้ง 3 ครั้งเทรวมกันใส่ขวดลงในขวดสีชา เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันปิดด้วยฝาจุกเกลียวมิดชิด เพื่อป้องกันอะซิโตนซึ่งระเหยได้ง่าย แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
6. จากนั้นนำสารที่ได้จากข้อ 5 ไปสกัด เพื่อล้างเอาคลอโรฟิลล์ เม็ดสี ยางและองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ที่ไม่ใช่แทนนินออกด้วยไดเอทธิลอีเธอร์ หรือปิโตเลียมอีเธอร์ โดยขั้นตอนแรกเท <u>สารละลายสกัดขั้นที่ 1</u> ลงในกรวยแยกสาร (separating funnel) แล้วเทไดเอทธิลอีเธอร์ หรือปิโตเลียมอีเธอร์ อย่างใดอย่างหนึ่ง ประมาณ 1 ส่วน 4 ของปริมาตร <u>สารละลายสกัดขั้นที่ 1</u> ต่อไดเอทธิลอีเธอร์ โดยเขย่าแบบเทกลับบนกลับล่าง เบา ๆ 4-5 ครั้ง ให้สารทั้งหมดเข้ากันดีที่สุด แล้วปล่อยให้สารผสมแยกชั้นเอง ประมาณ 15-30 นาที เก็บส่วนที่อยู่ด้านล่าง ทิ้งสารละลายด้านบน
7. ทำซ้ำตามข้อ 6 อีก 1 ครั้ง เพื่อให้ ล้างเอาคลอโรฟิลล์ เม็ดสี ยางและองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ออกให้หมด ทิ้งสารละลายด้านบน ส่วนที่อยู่ด้านล่างที่เก็บไว้ในภาชนะปิดฝามิดชิด ได้ <u>สารละลายสกัดขั้นที่ 2</u>
8. <u>เอาสารละลายสกัดขั้นที่ 2</u> ไปแยกสกัดเอาแทนนินออกจากสารสกัดต่าง ๆ เช่น อะซิโตน ไดเอทธิลอีเธอร์และหรือปิโตเลียมอีเธอร์ โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยภายใต้ความดันสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียสที่ต่อเข้าเครื่องปั๊ม (ถ้า pump ตัวใหญ่ใช้เวลาประมาณ 1ชม.) เพื่อให้เหลือได้เป็น <u>สารละลายสกัดขั้นที่ 3</u>

9. เตรียมหลอด 11 หลอด ทำการ dilute ส่วนใสกับ 70 เปอร์เซ็นต์ ACT ที่อัตราส่วน 1, 5, 10, 20, 50 หรือ 100 เท่า โดยระดับความเข้มข้นดังกล่าวนี้ใช้วิธี Trial and error (วิธีลองผิดลองถูก) และปรับอัตราส่วนต่อหลอดเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร
10. เติม 95 เปอร์เซ็นต์ BUT 3 มิลลิลิตรและ 2 เปอร์เซ็นต์ FER 0.1 มิลลิลิตร ทุกหลอด และปิดปากหลอดด้วย glass marble ก่อนเข้าเครื่อง Vortex 1 นาที
11. นำหลอดทั้งหมดเข้าเครื่อง Water bath ที่ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
12. นำไปอ่านด้วยเครื่อง colorimeter หรือ spectrophotometer ที่ wave length 550 nm เพื่อนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน:เปอร์เซ็นต์คอนเดนซ์แทนนิน = Absorbance value 550 nm X 78.26 X dilution factor)/(เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)
    * dilution factor = 0.5 มิลลิลิตร/(volume of extract taken)

3. การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก ขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย formaldehyde 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ (total direct count) ได้แก่ แบคทีเรีย และโปรโตซัว โดยใช้ Haemacytometer ทำการนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่าสำหรับแบคทีเรีย และ 100 เท่าสำหรับโปรโตซัว หรือศึกษาเกี่ยวกับ Microscopic direct count (Galyean, 1989) ซึ่งได้แก่

1. bacteria count
2. protozoa count

<u>สารเคมี</u>

1. Normal Saline (0.85 เปอร์เซ็นต์ w/v)
2. Formaline (10 เปอร์เซ็นต์ v/v)
3. น้ำกลั่น

<u>อุปกรณ์</u>

1. Haemacytometer ขนาด กว้าง 1 มม. ยาว 1 มม. และ ลึก 0.1 มม. pH meter
2. ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
3. สไลด์ พร้อม clover grass
4. Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร
5. กระดาษทิชชู
6. หลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร
7. ปิเปต

8. กล้องจุลทรรศน์ (Model Olympus BX50)

<u>วิธีการเตรียมสารละลาย:</u>

1. การเตรียม Formaline 10 เปอร์เซ็นต์ ใน **normal saline (fixing solution)**

1. เตรียม normal saline ให้มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์(w/v)

2. เตรียม Formaline ให้มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) โดยใช้ normal saline (0.85 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวทำละลาย เช่น ถ้าต้องการเตรียม Fixing solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จะใช้ Normal saline 90 มิลลิลิตร

Formaline 10 มิลลิลิตร

<u>การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา</u>

1. ทำการสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักในช่วงเวลาต่าง ๆ โดยสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักมาประมาณ 1 มิลลิลิตร และเติมด้วยฟอร์มาลีน 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ทันที หลังจากนั้นก็เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิห้อง เพื่อรอการนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ต่อไป

2 นำตัวอย่างที่ได้มาตรวจนับจำนวนของแบคทีเรีย และโปรโตซัวด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

<u>แบคทีเรีย</u> (bacteria count)

- ทำการเจือจาง (dilute) ความเข้มข้นของตัวอย่างอีกครั้ง จากเดิม 10 เท่า เป็น 100 เท่า โดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (autoclave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) 9 มิลลิลิตร

- ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากหลอด หยดลงบน Haemacytometer แล้วทำการนับ โดยนับจำนวน 20 ช่องเล็ก ใช้กำลังขยาย 400 เท่า ในแนวทะแยงมุม โดยนับจำนวน 2 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากร แบคทีเรีย โดยใช้สูตร Y = X x F x D

Y = จำนวนประชากรแบคทีเรีย

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor มีค่าเท่ากับ 4×10^6

<u>โปรโตซัว</u> (protozoa count)

- ทำการนับจากการเก็บตัวอย่างได้เลย โดยไม่ต้องมาทำการเจือจางอีก โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า โดยนับทั้งหมด 400 ช่องเล็ก (1 ช่องใหญ่) และทำการนับ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการคำนวณประชากรโปรโตซัวโดยใช้สูตร Y = X x F x D

Y = จำนวนประชากรโปรโตซัว

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor มีค่าเท่ากับ 1×10^4

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสัตว์ทดลองตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ใส่ในหลอดเก็บเลือดชนิดมีฝาจุก เก็บไว้ในความเย็นก่อนนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง เพื่อไปวัดหาค่าปริมาณไนโตรเจนในกระแสเลือด ตามวิธีการของ Mackay and Mackay (1972)

<u>สารเคมี</u>

1. Normal Saline (0.85 เปอร์เซ็นต์ w/v)
2. Formaline (10 เปอร์เซ็นต์ v/v)
3. น้ำกลั่น

<u>อุปกรณ์</u>

1. ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างเลือด (พร้อมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด)ขนาด 5 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
2. ถังน้ำแข็ง
3. Steam bath
4. Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร - 100 มิลลิลิตร
5. น้ำกลั่น
6. หลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร - 10 มิลลิลิตร
7. ปิเปต
8. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge machine)
9. เครื่อง Spectrophotometer
10. เครื่อง Vortex

<u>วิธีการเตรียมสารละลาย:</u>

1. กรดซัลฟูริค 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรเจือจางกรดซัลฟูริค (H_2So_4) เข้มข้นประมาณ 97 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7.5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จนได้สารละลาย ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

2. Stock solution Thiosemicarbazide ละลาย 5.0 กรัม Thiosemicarbazide ในน้ำ แล้วปรับปริมาตร 1 ลิตร ก่อน

3. Stock solution Diacetyl monxime ละลาย 2.5 กรัม Diacetyl monxime ในน้ำ แล้วปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. Stock solution Ferric chlorides phosphoric acid ละลาย 15 กรัม $FeCl_3$ $6H_20$ ในกรด H_3PO_4 (85 เปอร์เซ็นต์) 300 มิลลิลิตร แล้วเจือจางให้เป็น 450 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ

5. Stock solution Urea-Nitrogen Standard (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ชั่ง 21.433 กรัม ยูเรียใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมน้ำเจือจางมาตรฐานจนละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วย Standard diluents

6. Working acid $FeCl_3$ เจือจาง 1 มิลลิลิตร ของ Stock solution Ferric chlorides ให้เป็น 1 ลิตรด้วยสารละลาย 7.5 เปอร์เซ็นต์ H_2So_4

7. Working diacetyl monoxime ผสม 67 มิลลิลิตร Stock diacetyl monxime กับ 67 มิลลิลิตร Stock thiosemicarbazide แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำ

8. Working Urea-Nitrogen Standard เจือจาง Stock standard เป็น 1:10 เท่า แล้วเตรียมชุดสารละลายให้มีความเข้มข้นมาตรฐาน ดังนี้: 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม Urea-Nitrogen/ 10 มิลลิลิตรโดยการเจือจางสารละลายมาตรฐานที่เจือจางแล้ว (1:10) จำนวน 1, 2, 3, 5, 7 และ 10 ให้เป็น 200 มิลลิลิตร ด้วย standard diluents

9. Standard diluents ประกอบด้วย 0.01 N H_2SO_4 ซึ่งมี 40 มิลลิกรัม/liter phenyl mercuric acetate โดยการชั่ง 0.2 กรัม phenyl mercuric acetate ลงใน บีกเกอร์ เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร อุ่นให้ร้อนบนอ่าง น้ำร้อน (steam bath) จนกระทั่งละลายหมด ปล่อยให้เย็นลงแล้วถ่ายลงในพลาสติกขนาด 5 ลิตร และเติม 1.4 มิลลิลิตร H_2SO_4 เข้มข้น 97 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 ลิตร ด้วยน้ำ

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่น 0.75 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่แห้งและสะอาด จากนั้นเติมสารตัวอย่าง (ซีรั่มหรือพลาสม่า) ที่เตรียมไว้แล้ว ควรจะมีลักษณะใสไม่มีสีและไม่มีตะกอนจำนวน 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและเติมสารละลายไธโอเซมิคาร์บาไซด์ ไดอะซิทิล โมโนซิม (Thiosemicar bazide diacetyl monxime) 0.4 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายกรดของเกลือเฟอริคลอไรด์ (ferric chloride) 4.0 มิลลิลิตร ลงใน

ส่วนผสมดังกล่าว แล้วปั่นหลอดทดลองนี้ให้มีส่วนผสมเข้าดีโดยใช้เครื่องเขย่า (mixer)

3. เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร รวมกับ สารละลายในข้อ 1 และ 2 อย่างละ 4.0 มิลลิลิตร

4. เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานยูเรียไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร แทนสารตัวอย่างทำเหมือนข้อ 5 และนำหลอดทดลองลงแช่ในอ่างน้ำเดือด (boiling bath) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นสักครู่ 2-3 นาที ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำ

5. วัดค่า BUN ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 550 nm

ตารางที่ ก.1 ค่าแสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายวัตถุแห้งและการย่อยสลายโปรตีนของอาหารข้นทดลองทั้ง 4 สูตร (ในบทที่ 5)

DM. dograddintoin Parameter(%)	**ระดับการใช้ใบรวมก้านสะเดาในอาหาร**			
	0%	**10%**	**20%**	**30%**
DM disappearance (%)				
A	34.4	37.9	36.0	32.9
B	59.4	52.6	52.3	44.9
C	0.04	0.019	0.015	0.050
A+B	93.7	90.4	88.3	77.1
Effective degradability (%)	60.4	50.2	46.6	54.1
CP disappearance (%)				
A	20.5	18.0	10.9	18.0
B	66.3	64.9	55.4	69.1
C	0.108	0.98	0.120	0.110
A+B	88.8	82.9	73.4	80
Effective degradability (%)	51.9	50.1	43.5	49.2

หมายเหตุ E = Effective degradability at an out flow rate (fraction/h) = 0.08

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวสุปรีณา ศรีใสคำ เกิดเมื่อวันที่ 22 มิถุนายน พ.ศ. 2526 ณ จังหวัดนครราชสีมา บิดาชื่อ นายดุสิต ศรีใสคำ มารดาชื่อ นางสุปราณี ศรีใสคำ เป็นบุตรสาวคนเดียว เริ่มเข้ารับการศึกษาประถมศึกษาที่โรงเรียนมารีย์วิทยา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนสุรนารีวิทยา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2547

เมื่อจบการศึกษาระดับปริญญาตรี มีความสนใจในด้านโภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโทในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2548 โดยมีผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ระหว่างระยะเวลาทำการศึกษา ในปี พ.ศ. 2548-2549 มีโอกาสได้ทำงานในตำแหน่งผู้ช่วยวิจัย (research assistance) และผู้ช่วยสอนปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ (teacher assistance) สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกจากนี้ระหว่างการศึกษาได้มีโอกาส เข้าร่วมการประชุมและนำเสนอผลงาน (Oral presentation) ทางวิชาการในระดับนานาชาติในการประชุม AHAT/BSAS International Conference 14th–18th November 2005, Khon Kaen University, Thailand, XIIth AAAP Animal Science Congress 2006 Bexco, Busan, Korea 18th–22th September 2006, The First International Conference on SAADC 2007 Conference 27th-30th September 2007 Kunming, Yunnan Province, Hosted by Yunnan Agricultural University, China และ THE 15TH Tri-University International Joint Seminar and Symposium 2008 โดยได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สกว.) อาจารย์ที่ปรึกษาและคณะกรรมการจัดการประชุมของประเทศเจ้าภาพ