รหัสโครงการ SUT3-305-47-12-55

รายงานการวิจัย

ระดับของอุณหภูมิและเวลาในการทรีทต์เมล็ดและกากทานตะวัน ที่มีผลต่อการเกิด conjugated linoleic acid (CLA) ในรูเมน และระดับโปรตีนไหล ผ่าน โดยใช้เทคนิคการย่อยในถุงไนลอน และในห้องปฏิบัติการ

(Temperature and time treatments affect conjugated lenoleic acid (CLA) in rumen and by-pass protein of sunflower seed and sunflower meal using nylon bag and *in vitro* techniques)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ

สาขาวิชา เทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นายสมนึก สอนนอก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณประจำปี 2547

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มิถุนายน 2552

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2547 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูงยิ่งต่อ ศาสตราจารย์ ดร. เมธา วรรณพัฒน์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (F3) และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้การสนับสนุนในด้านวัสดุ อุปกรณ์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านสถานที่ ที่ใช้ในการทดลอง

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับความช่วยเหลือและความร่วมมือจากหลายฝ่าย ทั้งคณาจารย์สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร นักศึกษาผู้ช่วยวิจัย นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ตลอดจนเจ้าหน้าที่ มทส. ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการวิจัย คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง ณ โอกาสนี้ ที่ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ)

หัวหน้าโครงการ

มิถุนายน 2552

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของการทรีทต์เมล็ดธัญพืช คือเมล็ดและกากเมล็ดทานตะวันต่อความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของโคเจาะกระเพาะ และการเปลี่ยนแปลงของ CLA เมื่อบ่มในรูเมนที่เวลาต่าง ๆ การศึกษาใช้เมล็ดและกากเมล็ดทานตะวันทรีทต์ที่อุณหภูมิ 3 ระดับคือ 100, 120 และ 140 °C และใช้เวลาในการทรีทต์นาน 3 ระดับคือ 30, 60 และ 90 นาที การศึกษาความสามารถในย่อยได้ในรูเมน ใช้โคนมเจาะกระเพาะแบบถาวร จำนวน 3 ตัว ผลการทดลอง พบว่าความสามารถในการย่อยได้ที่เวลา 24 ชั่วโมงในการบ่ม ของวัตถุแห้ง และโปรตีนของกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทรีทต์ สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120 และ 140°C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทรีทต์ที่อุณหภูมิสูงคือ 140 °C และใช้เวลานานคือ 90 นาที ทำให้การย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่ม เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120 °C นาน 30 ถึง 60 นาที สามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็ก หรือโปรตีนไหลผ่านที่ใช้ประโยชน์ได้จริง และยังพบว่าอาหารส่วนที่ย่อยไม่ได้น้อยกว่ากลุ่มอื่น แสดงให้เห็นว่าสัตว์สามารถที่จะนำเอาโภชนะโดยเฉพาะโปรตีน ไปใช้ประโยชน์ได้ดีทั้งในรูเมน กระเพาะจริง และลำไส้เล็ก

เป็นผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันต่อระดับ conjugated linoleic acid (CLA) ผลการศึกษาพบว่า ก่อนการบ่มในรูเมน เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ทั้งหมดมี CLA สูงกว่ากลุ่มไม่ทรีทต์ การทรีทต์ที่ทำให้ระดับ CLA สูงสุดและสูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือการทรีทต์ที่อุณหภูมิ 140°C ใช้เวลา 60 นาที เมื่อบ่มเมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่า ทำให้ค่า CLA เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้บ่มจนมีระดับสูงสุด ที่เวลาบ่ม 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นลดลงเมื่อบ่มนานขึ้น ระดับ CLA สูงสุด (90.7 mg/ 100 g sample) ในกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 60 นาที แต่เมื่อใช้เวลา 90 นาทีกลับทำให้ CLA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of high temperature treated of sunflower seed (SS) and sunflower seed meal (SSM) on ruminal degradability and the changed of conjugated linoleic acid (CLA) before and after incubation. Three Holstein cows each fitted with permanent rumen fistula using for nylon bags technique study. The intestinal digestibility was measured by the three-step technique. Sunflower seed and SSM were treated with high temperature at 100, 120 and 140°C , each group treated for 30, 60 and 90 min.

Dry matter and crude protein degradability of SS, and SSM in the rumen with treated 120 °C for 30 and 60 min were significantly higher ($p<0.05$) than those SS, except SS treated with 100° C for 90 min. Intestinal and total digestibility of SS and SSM with treated 120°C for 60 min were also significantly higher ($p<0.05$) than those SS.

The effect of various temperature and time treated SS on CLA content before and after incubated in the rumen of cattle. Results shown that the level of CLA increased with increasing temperature up to treated with 120°C for 60 min., and significantly higher ($p<0.05$) than the control SS. Moreover, SS and SS treated with all temperature increased with increasing time incubation in the rumen up to 12 to 24 hr, thereafter decreased (after 48 hr). It is concluded that heat treatment of SS at about 120°C for 30-60 min can be improved intestinal digestibility (by-pass protein available), and reduced undigested residues. Conjugated linoleic acid was highest in SS treated with 140°C for 60 min, when incubated in the rumen for 12 hr. The results reveal that high temperature treated SS could improve CLA synthesis in the rumen when incubated about 12 to 24 hr.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อ.....	ข
Abstract.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช

บทที่

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	2
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3

2. การตรวจเอกสาร

2.1 บทนำ.....	4
2.2 ระบบการย่อยหมักในรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง.....	6
2.3 การทำงานของจุลินทรีย์ในรูเมน	7
2.4 นิเวศวิทยารูเมนและกระบวนการหมักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	9
2.5 บทบาทของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	10
2.6 การปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยารูเมนโดยกลยุทธ์การเสริมอาหาร	10
2.7 เทคโนโลยีการปรับเปลี่ยนการใช้ประโยชน์ของอาหารโดยจุลินทรีย์ในรูเมน..	11

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
3.	**วิธีดำเนินการวิจัย**	
	3.1 บทนำ.....	13
	3.2 วิธีการรวบรวมการเก็บข้อมูล.....	13
	3.3 สัตว์ทดลอง.....	13
	3.4 อาหารและการให้อาหารสัตว์ทดลอง.....	14
	3.5 เทคนิค nylon bag.....	14
	3.6 เทคนิค mobile bag	15
	3.7 Three-step in vitro procedure.....	15
	3.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี.....	19
	3.9 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล	19
4.	**ผลการวิเคราะห์ข้อมูล และข้อวิจารณ์**	
	ผลการทดลองและข้อวิจารณ์.....	20
5.	**สรุปผลและข้อเสนอแนะ**	
	สรุปผลการวิจัย.....	32
	ข้อเสนอแนะ.....	33
บรรณานุกรม.....		34
ภาคผนวก		
	ภาคผนวก ก : ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์จากการวิจัยในครั้งนี้.....	38
ประวัติผู้วิจัย.....		39

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดทานตะวันที่ใช้ในการทดลอง 20
ตารางที่ 2 ความสามารถในการย่อยได้ของน้ำหนักแห้งของเมล็ดทานตะวัน..... 21
ในการบ่มหมัก ในกระเพาะรูเมน
ตารางที่ 3 ความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนของเมล็ดทานตะวันในการบ่มหมักใน... 23
กระเพาะรูเมนในการทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน
ตารางที่ 4 แสดงการย่อยได้โปรตีนในลำไส้เล็กโดยวิธี Three-step ของ..... 24
เมล็ดทานตะวันเมื่อทำการอบในระดับอุณหภูมิที่ แตกต่างกัน
ตารางที่ 5 แสดงการย่อยได้โปรตีนในลำไส้เล็กโดยวิธี Three-step ของ..... 25
กากเมล็ดทานตะวันเมื่อการอบในระดับอุณหภูมิที่ แตกต่างกัน
ตารางที่ 6 ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของโปรตีนและอินทรียวัตถุ, ... 29
ค่าประเมินการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในรูเมน และโปรตีนทั้งหมดที่ย่อยได้
ในรูเมน และลำไส้เล็กของเมล็ดธัญพืชที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน
ตารางที่ 7 ผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันต่อระดับ..... 30
conjugated linoleic acid (CLA, mg/ 100 g sample)

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 การสังเคราะห์ conjugated linoleic acid ในรูเมน 5
รูปที่ 2 เมทธาโบลิซึมของโปรตีนและไนโตรเจนในรูเมน 12
รูปที่ 3 สัดส่วนการย่อยได้โปรตีนของเมล็ดทานตะวันในส่วนของกระเพาะรูเมน, ... 26
ลำไส้เล็ก และส่วนที่ย่อยไม่ได้ เมื่อทำการอบในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน
รูปที่ 4 ผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิต่างๆ กันต่อระดับ conjugated 31
linoleic acid (CLA) ในการบ่มในรูเมนที่เวลาต่างๆ

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

ปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญในด้านอาหาร หรือโภชนะในอาหารต่อสุขภาพมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีสื่อสารถึงกันอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกับการพัฒนาด้านอาหารและการให้อาหารสัตว์ เพื่อให้ได้คุณภาพของผลผลิตตรงตามความต้องการของผู้บริโภคมากที่สุด โดยคำนึงถึงโภชนะที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ปัจจุบันได้ให้ความสำคัญกับให้ความสำคัญกับอาหารสุขภาพ (functional food) หรือส่วนประกอบปลีกย่อยอื่นของอาหารที่ไม่ใช่เฉพาะโภชนะ แต่ยังมีบทบาทอย่างอื่น เช่น การป้องกันโรค ซึ่งนักวิจัยพบว่า ส่วนประกอบของผลผลิตจากสัตว์ เช่น เนื้อ และน้ำนมสามารถจัดการได้ด้วยอาหารและการให้อาหาร โปรตีนเป็นโภชนะที่มีความสำคัญในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการเมแทโบลิซึมต่าง ๆ โดยเฉพาะผลผลิตสุดท้ายที่ใช้ในการผลิตน้ำนมและคุณภาพของน้ำนม รวมทั้งส่วนประกอบของเนื้อ เช่นเดียวกับไขมันสัตว์ใช้เป็นแหล่งพลังงานและใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์กรดไขมันในน้ำนม และในเนื้อสัตว์ นอกจากนี้นักวิจัยยังพบว่า ผลผลิตคือเนื้อและน้ำนมจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ประกอบด้วยกรดไขมันชนิด conjugated linoleic acids (CLAs) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ (Belury, 1995) สามารถป้องกันการเกิดออกซิแดนซ์ (antioxidant) และต่อต้านการเกิดมะเร็ง (Pariza and Hargraves, 1985; Ha et al., 1987) ลดการเกาะกันของไขมันตามผนังเส้นเลือด เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของแร่ธาตุของกระดูก (Li et al., 1999) และเกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Sugano et al., 1998)

นักวิจัยพบว่า CLA เป็นกรดไขมันที่เกิดในรูเมนระหว่างกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวไปเป็นกรดไขมันอิ่มตัว โดยการทำงานของจุลินทรีย์ในรูเมน โดยพบว่า CLA จากผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมอาหารที่มีไขมันจากธัญพืช หรือพืชน้ำมันต่างๆ เช่น ข้าวโพด ทานตะวันถั่วต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ในเมล็ดธัญพืชหรือกากธัญพืชยังประกอบไปด้วย ส่วนที่เรียกโปรตีนไหลผ่าน (by-pass protein หรือ undegraded protein) และไขมันไหลผ่าน (by-pass fat) โดยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ผ่านกระบวนการที่ผ่านความร้อน หรือการทรีทต์ด้วยความร้อนจะมีโปรตีนและไขมันดังกล่าวสูง (Schwab, 1995) รวมทั้ง CLA จะไม่ถูกย่อยในรูเมน และถูกย่อยในอะโบมาซัม (abomasum) และดูดซึมที่ลำไส้เล็ก เพื่อกระบวนการเมทธาโบลิซึมและสังเคราะห์เป็นส่วนประกอบของผลผลิตต่อไป

ความเข้มข้นของ CLA ในน้ำนมของสัตว์เคี้ยวเอื้องขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมัน คือกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ที่เสริมในอาหาร (Griinari et al., 1996) โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารที่มีกรดไขมันลิโนเลอิค (linoleic acid) เป็นองค์ประกอบซึ่ง Kelly et al. (1998) พบว่าน้ำนมของโคที่ได้รับการเสริมไขมันจากเมล็ดถั่วลิสง ลินซีด (linseed) และเมล็ดทานตะวัน

ประกอบด้วย CLA 1.33, 1.67 และ 2.44 กรัม/ 100 กรัมของไขมัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมล็ดทานตะวันทำให้ในน้ำนมมี CLA สูงกว่าเมล็ดถั่วลิสง และลินซีด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาข้อมูลพื้นฐานในการนำเมล็ดและกากทานตะวันมาใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยการนำมาทรีทต์ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาการเกิด CLA ในรูเมน การเกิดโปรตีนไหลผ่าน และไขมันไหลผ่าน โดยใช้เทคนิคถุงไนลอน (nylon bag technique) และการศึกษาระดับของโปรตีนไหลผ่านที่ย่อยได้ในลำไส้เล็กโดยใช้เทคนิคการย่อยในห้องปฏิบัติการ (in vitro technique) เพื่อที่จะได้นำผลการทดลองที่ได้ไปประยุกต์ในการเสริมกากทานตะวันเพื่อเพิ่มระดับของ CLA ในผลผลิตน้ำนม หรือเนื้อสัตว์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเกิด CLA ในถุงไนลอน ที่บ่มในรูเมน ของเมล็ดและกากทานตะวันที่ผ่านการทรีทต์ด้วยอุณหภูมิแตกต่างกัน

1.2.2 เพื่อศึกษาระดับการเกิดโปรตีนไหลผ่าน และไขมันไหลผ่าน โดยการใช้ nylon bag technique

1.2.3 เพื่อพัฒนาเทคนิควิธีการในการศึกษาการย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็ก โดยการศึกษาในห้อง ปฏิบัติการ (in vitro technique) ของเมล็ดและกากทานตะวัน เพื่อความรวดเร็ว สะดวก และศึกษาพืชโปรตีนอาหารสัตว์ได้ทีละมากๆ ในลำดับต่อไป

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

จะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดและกากทานตะวัน จากบริษัทผู้ผลิตน้ำมันทานตะวัน ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ทำการทรีทต์ด้วยอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน แล้ววัดความสามารถในการย่อยได้ (DM, CP, NDF, Fat) และวัดระดับ CLA ในรูเมนที่เวลาต่างๆของเมล็ดและกากทานตะวันในรูเมนด้วยเทคนิคการย่อยในถุงไนล่อน หลังจากนั้นทำการวัดการย่อยได้ในลำไส้เล็กโดยใช้เทคนิคในห้องปฏิบัติการ

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

ศึกษาการย่อยได้ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยใช้โคนมเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว และศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กโดยใช้เทคนิคการย่อยได้จำลองในห้องปฏิบัติการ (in vitro technique)

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ คาดว่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้ประโยชน์ ดังนี้

1.5.1 ผลการศึกษาวิจัย สามารถทราบชนิด และปริมาณของกรดไขมันในเมล็ด และกากทานตะวันก่อนการทรีทต์ด้วยความร้อนและหลังทรีทต์

1.5.2 ผลการศึกษาวิจัย สามารถทราบปริมาณของกรดไขมัน CLA ในเมล็ด และกากทานตะวันหลังการบ่มในรูเมนที่เวลาแตกต่างกัน

1.5.3 ผลการพัฒนาเทคนิคการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ สามารถนำมาพัฒนาการเรียนการสอน และ
ทดสอบอาหารโปรตีนอื่นๆได้รวดเร็ว และลดความเสี่ยงในการใช้สัตว์ทดลองผ่าตัดลำไส้เล็ก

1.5.4 ผลการศึกษาวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลในการเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้แก่ เนื้อและน้ำนม จากการประกอบสูตรอาหาร

บทที่ 2

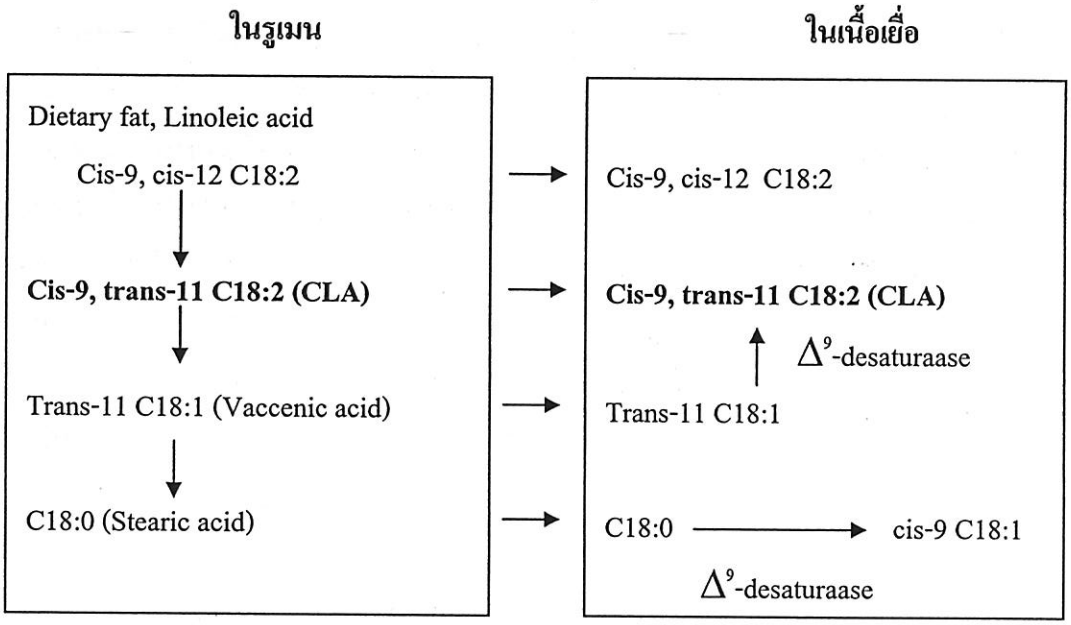
การตรวจเอกสาร

2.1 บทนำ

อาหารและผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมักในกระเพาะส่วนรูเมน มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพทั้งเนื้อและน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยปกติแล้วโปรตีนในน้ำนมส่วนใหญ่ได้มาจากจุลินทรีย์โปรตีน (microbial protein) ที่ผ่านมาจากส่วนรูเมนและโปรตีนจากอาหารที่ไม่ถูกย่อยในรูเมน (by-pass protein) การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์อาหารโปรตีนเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดสามารถทำได้สองส่วน ได้แก่ส่วนแรกเป็นการให้อาหารโปรตีนสามารถใช้ประโยชน์ได้ในรูเมน (ruminally degradable protein, RDP) ซึ่งเป็นการให้ N เพื่อให้ได้จุลินทรีย์โปรตีนในรูเมนสูงสุด ส่วนที่สองเป็นการให้อาหารโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในรูเมน (by-pass protein, UDP) โดยเฉพาะในสัตว์ที่ให้ผลผลิตสูงตัวสัตว์จะได้รับแหล่งโปรตีนจากจุลินทรีย์โปรตีนไม่เพียงพอ นักวิจัยพบว่าการเสริมอาหารโปรตีนไหลผ่านสามารถปรับปรุงผลผลิตและคุณภาพของน้ำนมได้ (Schwab, 1995) และยังพบว่าในกากเมล็ดธัญพืชประกอบด้วยส่วนที่เป็นโปรตีนไหลผ่านและไขมันไหลผ่านสูง โดยเฉพาะกากหรือเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการทรีทต์ด้วยความร้อน สามารถทำได้โดยการนึ่งด้วยความดัน โดย Parsons et al. (1992) ได้ศึกษากากถั่วเหลืองโดยการนึ่งด้วยอุณหภูมิ 121 $^{\circ}C$ และความดัน 1.1 kg cm^{-2} ที่เวลาแตกต่างกัน พบว่า โปรตีนไหลผ่านเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้นึ่งแต่ระดับกรดอมิโนที่ใช้ประโยชน์ได้สูงสุดในลำไส้เล็กคือ 60 นาที ในขณะที่การทรีทต์ด้วยความร้อนแบบไม่นึ่งต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น โดย Faldet et al. (1992) ได้ศึกษากากถั่วเหลืองโดยการทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าระดับ by-pass protein เพิ่มขึ้นตามระดับอุณหภูมิที่เพิ่ม แต่กรดอมิโนที่ใช้ประโยชน์ได้ลดลง โดยหากใช้อุณหภูมิสูงไม่ควรทรีทต์เกิน 30 นาทีหรืออุณหภูมิปานกลางไม่ควรเกิน 90 นาที ในเมล็ดหรือกากเมล็ดธัญพืชเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนอาหารสัตว์ ควรที่จะต้องศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ (nutritive value) อย่างละเอียด รวมทั้งความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน (ruminal degradability) และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนที่ผ่านไปยังลำไส้เล็ก อย่างไรก็ตามการศึกษาการย่อยได้ในลำไส้เล็กจำเป็นที่จะต้อง ศึกษาในสัตว์ที่ผ่าตัดลำไส้เล็ก ซึ่งการผ่าตัดลำไส้เล็กสามารถติดเชื้อได้ง่าย ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคการย่อยได้ในลำไส้เล็กในห้องปฏิบัติการ (in vitro technique) จึงเป็นเทคนิคที่ควรจะนำมาใช้เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวและยังเป็นวิธีที่สามารถทดสอบโปรตีนชนิดอื่นๆ ในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในขณะที่ไขมันในน้ำนมส่วนใหญ่ได้จากผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมักคือ อซิเตท (acetate) และบิวทีเรท (butyrate) และได้จากไขมันในอาหาร และบางส่วนได้จากการดึงเอาไขมันที่สะสมในร่างกาย นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังพบว่า ในเนื้อสัตว์และน้ำนมจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ประกอบด้วย conjugated linoleic acid (CLA) สูง และเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และยังช่วยในการป้องกันโรคต่างๆ ซึ่ง CLA เป็นสารตัวกลาง (intermediates) ของกระบวนการ biohydrogenation ในการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวไปเป็นกรดไขมันอิ่มตัว โดยจุลินทรีย์ในรูเมน และ CLA ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับ CLA ในเนื้อเยื่อไขมัน และ CLA ในน้ำนม (Bauman et al., 2000) การเกิด CLA ในรูเมนต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมาจากอาหาร โดย CLA ที่พบในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีโครงสร้างเป็น cis-9, trans-11 CLA และพบในน้ำนมโคถึง 80-90 % ของ CLA ในน้ำนม (Sehat et al., 1998)



รูปที่ 1 การสังเคราะห์ conjugated linoleic acid ในรูเมน (Bauman et al., 2000)

กระบวนการเกิด CLA ในรูเมนเริ่มจากอาหารที่มี linoleic acid (cis-9, trans-12) และถูกเปลี่ยนเป็น CLA (cis-9, trans-11 CLA), vanccenic acid (trans-11) และกรดไขมันอิ่มตัว stearic acid ตามลำดับ (ดังแสดงในรูป) โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ในรูเมนหลายชนิด ถูกยับยั้งการทำงานโดยกรดไขมันสายยาว (Henderson, 1973) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการ biohydrogenation ของไขมันในรูเมน คือ *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler et al., 1966) นอกจากนี้ CLA ยังสามารถสังเคราะห์ได้ในเนื้อเยื่อโดยมี trans-11 $C_{18:1}$ เป็นสารตั้งต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวพบมากในธัญพืชหรือพืชน้ำมัน เช่น ลินซีด (linseed) ซัฟฟลาวเวอร์ (safflower) เมล็ดทานตะวัน เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดข้าวโพด และเมล็ดฝ้าย เป็นต้น Kelly et al. (1998) พบว่า น้ำนมของโคที่ได้รับการเสริมไขมันจากเมล็ดถั่วลิสง ลินซีด (linseed) และเมล็ดทานตะวัน ประกอบด้วย CLA 1.33, 1.67 และ 2.44 กรัม/ 100

กรัมของไขมัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมล็ดทานตะวันทำให้ในน้ำนมมี CLA สูงกว่าเมล็ดถั่วลิสง และลินซีด

ในการศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นการศึกษาการเกิด CLA ในรูเมน การเพิ่มระดับ By-pass protein และ by-pass fat โดยการทรีทต์ด้วยอุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน รวมทั้งศึกษาการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในลำไส้เล็กโดยการศึกษาข้อมูลในด้านลึก ซึ่งเป็นการสร้างองค์ความรู้เพื่อนำเอาความรู้พื้นฐานดังกล่าวไปประยุกต์ ในการผลิตน้ำนม หรือเนื้อสัตว์ที่มีคุณภาพดี ตรงตามความนิยมของผู้บริโภค และยังเป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2 ระบบการย่อยหมักในรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

เทคโนโลยีชีวภาพรูเมน หมายถึง การประยุกต์ใช้ประโยชน์ (application) ขององค์ความรู้ของกระบวนการหมักในรูเมน โดยการปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยารูเมนให้เหมาะสม สามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย) โดยหลักการจุลินทรีย์วิทยาโมเลกุลรูเมน (rumen microbial molecular) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักของอาหารหยาบใน รูเมนและผลผลิตในสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป ซึ่งแหล่งอาหารหยาบมีอยู่จำนวนมากในระบบการเกษตรในประเทศที่กำลังพัฒนาหรืออยู่ในเขตร้อน และจากรายงานของ Devendra (2001) ได้เน้นย้ำถึงความจำเป็นและความสำคัญในการใช้ประโยชน์ของเทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตสัตว์ เพื่อเพิ่มปริมาณอาหารโดยเฉพาะอาหารโปรตีนเพื่อเลี้ยงประชากรโลกซึ่งอาศัยอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนาไม่ใช่ในประเทศที่พัฒนาแล้ว ดังนั้นมีความจำเป็นและท้าทายในการศึกษาวิจัยถึงแนวทางการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในรูเมน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักและความสามารถในการลดสารพิษในพืชอาหารสัตว์ ในการผลิตอาหารโปรตีนจากสัตว์ทั้งในรูปเนื้อและน้ำนมที่มีคุณภาพต่อไป

นิเวศวิทยาจุลินทรีย์รูเมน ประกอบไปด้วยชนิดของแบคทีเรียที่สำคัญหลักอย่างน้อย 30 ชนิด (species) และมีความเข้มข้น 10^{10}-10^{12} เซล/มล ของของเหลวในรูเมน มีโปรโตซัว 40 ชนิด (species) มีความเข้มข้น 10^{5}-10^{7} เซล/มล ของของเหลวรูเมน และมีเชื้อรา 5 ชนิด (sapecies) และมีเชื้อรา 5 ชนิด (species) และมีความเข้มข้นน้อยกว่า 10^{5} เซล/มล ของของเหลวในรูเมน ชื่อแบคทีเรียนับว่ามีบทบาทและความสำคัญมากกว่าโปรโตซัวและเชื้อราต่ออัตราและขอบเขตของการย่อยสลายของอาหาร การผลิตกรด VFAs และจุลินทรีย์โปรตีน กรด VFAs จะถูกดูดซึมผ่านพนังของรูเมนเป็นส่วนใหญ่ (~85%) เพื่อใช้เป็นแหล่งหลักของ พลังงาน ส่วนจุลินทรีย์โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรทของจุลินทรีย์ตลอดจนส่วนของโภชนะของอาหารที่เหลือ จะไหลผ่านออกจากรูเมนเข้าสู่กระเพาะอาหารส่วนล่าง โดยเฉพาะที่ลำไส้เล็กเพื่อการย่อยสลายและการดูดซึมใช้ในตัวสัตว์ต่อไป (Czerkawski and Cheng, 1988)

แบคทีเรียในรูเมนสามารถแบ่งตามลักษณะของการเป็นอยู่ในนิเวศวิทยารูเมนได้ 5 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มแบคทีเรียที่อาศัยอย่างอิสระในของเหลวในรูเมน
2. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอย่างหลวม ๆ กับอนุภาคของอาหารในรูเมน
3. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอย่างติดแน่น กับอนุภาคของอาหารในรูเมน
4. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดอยู่กับผนังด้านในของรูเมน
5. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะติดผนังลำตัวของโปรโตซัวและเชื้อรา (sporangia)

ในสภาวะการให้อาหารปกติ แบคทีเรียในกลุ่มที่ 2 และ 3 จะมีมากที่สุดคือ 75% และจะสามารถผลิตน้ำย่อยในรูเมนชนิด endoglucanase (88%), xylanase (91%), amylase (70%), protease (75%) ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่ 1 จะมีประชากรน้อยและผลิตน้ำย่อยได้ประมาณ 20-30% และแบคทีเรียกลุ่มที่ 4 และ 5 นั้นจะมีประชากรน้อยมากและผลิตน้ำย่อยได้ประมาณ 1% ของประชากรทั้งหมด (Williams and Coleman, 1992)

2.3 การทำงานของจุลินทรีย์ในรูเมน

รูเมนมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญในการเกิดกระบวนการหมักอาหารเพื่อสังเคราะห์ผลผลิตสุดท้ายให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการเมทธาโบลิซึมในร่างกายและการให้ผลผลิตต่างๆ ดังนั้นรูเมนจะต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างในรูเมน (rumen pH) และความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) จะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรีย, โปรโตซัว และเชื้อรา โดยผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญที่ได้จากกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยได้ (VFAs) , แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N), จุลินทรีย์โปรตีน กรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ อะซิเตรท (C_2), โพรพิออเนท (C_3), และบิวทีเรท (C_4) เป็นแหล่งของสารตั้งต้นที่สำคัญที่ร่างกายสัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อสังเคราะห์พลังงานในรูปกลูโคสโดยอาศัยกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีส และกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป ในขณะที่ NH3-N นับได้ว่าเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนเพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการดูดซึมสารประกอบเหล่านี้จากรูเมนเพื่อไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ ชนิดของอาหาร ตลอดจนสัดส่วนระหว่างอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่สัตว์ได้รับ พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์และรูปแบบของกระบวนการหมักในรูเมน โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ในเขตร้อนและเขตอบอุ่น จะมีความแตกต่างกันมากในเรื่องของคุณภาพส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และกระบวนการหมักโภชนะต่าง ๆ ด้วย มากไปกว่านั้นระบบการจัดการในด้านการให้อาหารสัตว์ที่แตกต่างกันยังมีผลต่อการ

พัฒนาการของนิเวศวิทยารูเมนด้วย ในเขตอบอุ่นนั้นส่วนใหญ่สัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารข้นในระดับสูงซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสภาวะ rumen pH เป็นกรดมากยิ่งขึ้น และอาจส่งผลให้เกิดภาวะอะซิโดซีสได้ (Slyter, 1976) ซึ่งกรดไขมันที่ระเหยได้ก็มีส่วนในการทำให้ rumen pH ลดลง แต่กรดแลคติกจะมีผลต่อความเป็นกรดในรูเมนมากกว่า ซึ่งปัจจัยจากชนิดอาหารที่สัตว์ได้รับนั้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ rumen pH มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่สัตว์ได้รับอันจะส่งผลต่อปริมาณการหลั่งน้ำลายและการเคี้ยวเอื้องของสัตว์ รวมทั้งการสังเคราะห์ TVFAs และจำนวนประชากรจุลินทรีย์ด้วย นอกจากนี้ Wallace (1996) และ Lana et al. (1998) รายงานว่าในแกะที่ได้รับ Timothy hay ในระดับต่ำมีผลทำให้ความเป็นกรด-ด่าง (rumen pH) ลดลงจากระดับ 6.5 เป็น 5.7 และการสังเคราะห์ TVFAs, C_2, C_3, C_4 และการสังเคราะห์เมทเธน (CH_4) รวมทั้งประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนก็แตกต่างกันไปด้วย สำหรับแกะที่ได้รับเฮย์เป็นอาหารเพียงอย่างเดียว พบว่า มีความเข้มข้นของ TVFAs เท่ากับ 78 mM และสัดส่วน C_2, C_3 และ C_4 มีค่าเท่ากับ 59, 13, 6 mM ตามลำดับ สภาวะ rumen pH เท่ากับ 6.5 และความเข้มข้นของ NH_3-N เท่ากับ 8 μM ซึ่งสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่เหมาะสมคือ 60: 40

สำหรับค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficients, r^2) ระหว่างสภาวะ rumen pH และ TVFAs, สัดส่วนระหว่าง C_2:C_3 และ NH_3-N เท่ากับ 0.73, 0.82 และ 0.65 ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าเมื่อสภาวะ rumen pH ลดต่ำลงอันเนื่องมาจากการเพิ่มระดับอาหารข้น ส่งผลต่อการสังเคราะห์ CH4 ลดลง แต่ในขณะเดียวกันพบว่า ประสิทธิภาพย่อยได้ของเยื่อใยอยู่ในระดับต่ำ จะเห็นได้ว่าสภาวะ rumen pH มีผลกระทบโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูเมน การศึกษาถึงบทบาทการทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถทำได้หลายวิธี เช่น pure culture หรือ mixed culture เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่าง ๆ (Wallace , 1979; 1996)

นอกจากนี้แล้วระดับของ NH_3-N ก็มีความสำคัญต่อจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน โดย Satter and Slyter (1974) ได้ทำการศึกษาโดยในระบบปิดโดย In vitro technique พบว่าจุลินทรีย์มีความต้องการ NH_3-N เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตที่ระดับ 4-5 mg/dl ในขณะที่ Wallace (1979) รายงานว่า pectinolytic bacteria มีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเสริมยูเรีย โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถนำแอมโมเนียเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ประโยชน์โดยอาศัยกระบวนการ NAD-linked glutamate dehydrogenase ซึ่งถือได้ว่ากระบวนการหลักสำหรับจุลินทรีย์ทุกชนิดในการนำแอมโมเนียไปใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ อย่างไรก็ตาม Erdman et al. (1986) และ Odle and Schaefer (1987) พบว่าระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ที่เหมาะสมนั้นจะมีผลต่อประสิทธิ-ภาพการย่อยอาหารหยาบมากกว่าการย่อยสลายอาหารพวกธัญพืช โดยความเข้มข้นของ HN_3-N ภายในเซลล์จุลินทรีย์จะมีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ภายในกระเพาะหมัก และส่งผลถึงประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนที่ลดลงถ้าหาก

NH_3-N ในรูเมนต่ำกว่า 5 mg/dl และคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยสลายได้ในรูเมนลดต่ำลง และพบว่าระดับของ NH_3-N ภายในเซลล์จะสูงกว่าภายนอกเซลล์อย่างน้อย 1.6 mg/dl (Russell and Strobe, 1987)

Song and Kennelly (1990) รายงานว่าโคนมแห้งที่ได้รับอาหารหยาบหมักมีผลทำให้ระดับของ NH3-N ในของเหลวรูเมนเพิ่มขึ้น 15.7 mg/dl ส่งผลถึงจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพของกระบวนการหมักด้วย นอกจากนี้ในแกะที่ได้รับ Citrus Pulp และ Italian ryegrass hay ที่มีระดับเยื่อใย neutral-detergent fiber (NDF) ประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ระดับของ NH_3-N ในรูเมนเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ ความเข้มข้นของ VFAs และประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนเพิ่มขึ้น (Rihani et al ., 1993) ส่วนโคนมที่อยู่ในช่วงการให้ผลผลิต และได้รับถั่วอัลฟัลฟ่าหมัก พบว่าระดับของ NH_3-N อยู่ในช่วง 18.7-22.9 mg/dl และยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN) อยู่ในช่วง 15.0-20.4 mg/dl ส่วนปริมาณผลผลิตน้ำนมอยู่ในช่วง 31.1 - 32.7 kg/hd/d (Robinson et al., 1991)

2.4 นิเวศวิทยารูเมนและกระบวนการหมักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

สัตว์เคี้ยวเอื้องโดยทั่วไปในเขตร้อนได้รับอาหารหยาบที่มีคุณภาพต่ำ และผลพลอยได้ทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟางข้าว (Wanapat, 1985; Devendra, 1992; Wanapat, 1999) โดย Preston and Leng (1987) พยายามที่จะนำแหล่งวัตถุดิบเหล่านี้มาใช้ในระบบการผลิตสัตว์เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการผลิต Leng (1990) กล่าวว่ากลยุทธ์ที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมขึ้นอยู่กับการนำใช้วัตถุดิบที่มีอยู่ภายในท้องถิ่น และเกษตรกรรายย่อยสามารถนำมาใช้ได้ ดังนั้นกลยุทธ์ในการปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยารูเมนจึงเป็นเรื่องที่สำคัญมาก เช่น การนำใช้ non-protein nitrogen (NPN) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในรูเมน (rumen by-pass protein) ตลอดจนการสังเคราะห์ VFAs เพื่อเป็นการเพิ่มสัดส่วน P/E ในระดับที่เหมาะสม

ในสภาวะที่โคและกระบือที่ได้รับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบอย่างเต็มที่ พบว่าปริมาณการกินได้เฉลี่ยประมาณ 1.5–2.5 %BW (Wanapat, 1985) ในฟางข้าวมีคาร์โบไฮเดรทชนิดที่เป็นโครงสร้างเป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีเยื่อใย NDF, ADF, ADL ประมาณ 70-75, 50-55 และ 5-10 ตามลำดับ ส่วนโปรตีนหยาบ (CP) จะมีอยู่ในระดับต่ำประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์และมีอัตราการย่อยสลายในรูเมนได้ต่ำทำให้ retention time ในรูเมนนานขึ้น (Wanapat, 1985; Wanapat, 1999; Hart and Wanapat, 1992) ส่งผลถึงปริมาณการกินได้ทั้งหมด มากไปกว่านั้นประสิทธิภาพการสังเคราะห์ C2, C3 และ C4 ก็มีแนวโน้มต่ำเช่นเดียวกันมีค่าประมาณ 50, 12, และ 4 mole/100 mole ตามลำดับ ในขณะที่ระดับของ NH_3-N ใน รูเมนมีค่าต่ำกว่า 3 mg/dl และ rumen pH เท่ากับ 6.5 (Hart and Wanapat, 1992)

2.5 บทบาทของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับอาหารหยาบคุณภาพต่ำมีระดับ NH_3-N อยู่ในช่วง 5-20 mg% (Boniface et al., 1986; Perdok and Leng, 1990) ในขณะที่ Chanthai et al. (1989) รายงานว่าในโคเนื้อและกระบือปลักที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลักมีระดับ NH_3-N เท่ากับ 2 mg% แต่จะเพิ่มสูงขึ้นถึง 9 mg% เมื่อได้รับฟางข้าวหมักยูเรียเป็นอาหารหยาบหลัก นอกจากนี้แล้วได้มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อ ประสิทธิภาพของกระบวนการหมักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง พบว่า จะมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของประชากรจุลินทรีย์ ตลอดจนปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการย่อยได้ และประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน โดย Perdok and Leng (1990) พบว่า เมื่อระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 15-30 mg% ทำให้ปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารเพิ่มขึ้น และหากมีการเพิ่มขึ้นของระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสูงถึง 30 mg% มีผลต่อการลดลงของสัดส่วนระหว่าง C_2+C_4/C_3 จำนวนประชากรซูโอสปอร์เพิ่มขึ้น และยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน จาก 17 เป็น 47 เปอร์เซ็นต์ (Kanjanapruthipong and Leng, 1998) นอกจากนี้ Wanapat and Pimpa (1999) รายงานว่า เมื่อระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระบือปลักที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลัก พบว่า เมื่อระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในช่วง 13.6-33.4 mg/dl มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของนิเวศน์วิทยาของกระเพาะหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มขึ้นของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ประชากรโปรโตซัว และปริมาณของอนุพันธ์พิวรีนที่ขับออกมากับปัสสาวะ ตลอดจนปริมาณการกินได้ทั้งหมด และประสิทธิภาพการย่อยได้ แสดงให้เห็นว่าระดับ NH_3-N ที่เหมาะสมนั้นควรมีค่าตั้งแต่ 15 mg/dl ขึ้นไป

นอกจากนี้แล้ว Nguyen and Preston (1999) พบว่า ในกระบือปลักที่ได้รับฟางข้าว และหญ้าสดเป็นอาหารหยาบมีค่า NH_3-N ประมาณ 5-6 mg/dl และเพิ่มขึ้นประมาณ 8-18 mg/dl เมื่อมีการเสริมด้วย ฟางหมักยูเรีย, urea-molasses cake และ Sesbania leaf และส่งผลต่อจำนวนประชากรแบคทีเรียโปรโตซัว และ ปริมาณการกินได้ที่เพิ่มขึ้นด้วย

2.6 การปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยารูเมนโดยกลยุทธ์การเสริมอาหาร

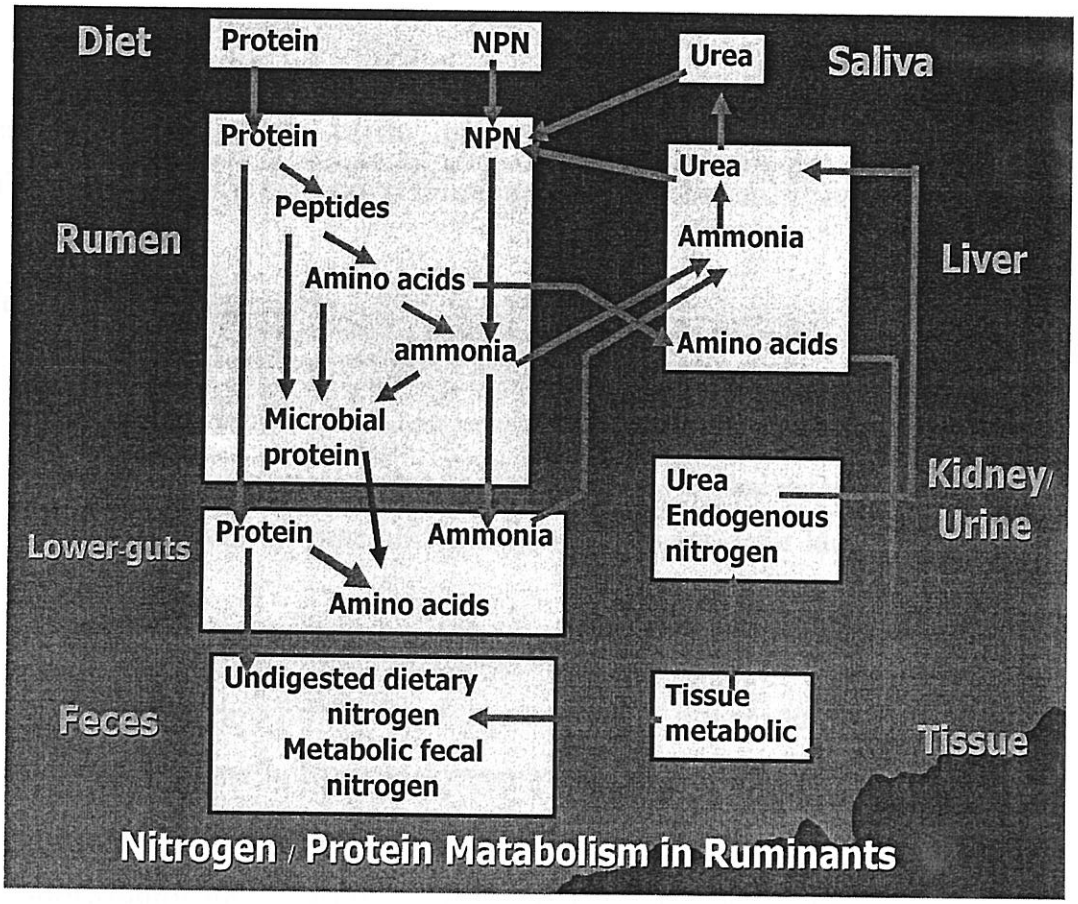
โคที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลักมีผลทำให้สัดส่วนโปรตีนและพลังงาน (P/E) มีค่าต่ำ การเสริมด้วยวัตถุดิบอาหารที่มีในท้องถิ่น เช่น มันเส้น และกากเมล็ดฝ้ายร่วมกับการให้ฟางข้าว พบว่าสามารถทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และสัดส่วนโปรตีนต่อพลังงาน (P/E) เพิ่มขึ้น และเมื่อทำการเสริมอาหารก้อนที่มีองค์ประกอบของกากน้ำตาลและยูเรียก็เป็นอีกกลยุทธ์หนึ่งที่มีการนำใช้ในเขตร้อน Leng (1993) รายงานว่า การเสริม urea-molasses block สามารถเพิ่มประสิทธิภาพรูเมน และผลผลิตน้ำนมในกระบือพันธุ์ Murrah ที่ได้รับผลพลอยได้ทางการเกษตร มากไปกว่านั้นสามารถลดปริมาณการใช้อาหารข้นเสริมได้

นอกจากนี้ได้มีการปรับปรุงอาหารที่มีคุณภาพสูงที่เรียกว่าอาหารก้อนและ/หรืออัดเม็ดคุณภาพสูง (HQFB/ P) โดยมีส่วนประกอบที่เป็นวัตถุดิบที่มีในท้องถิ่น แหล่งพลังงานที่สำคัญได้แก่ กากน้ำตาล, รำอ่อน, มันเส้น แหล่งของ NPN ได้แก่ ยูเรีย แหล่งของ rumen-by pass protein ได้แก่ กากเมล็ดฝ้าย, กากเบียร์, มันเฮย์สับ และแหล่งแร่ธาตุที่สำคัญต่างๆ ได้แก่ กำมะถัน โซเดียม และฟอสฟอรัส การให้เสริมสามารถทำได้หลายลักษณะเช่น การให้เสริมตามปริมาณที่จะจัดหาได้ และอาจจะให้ในลักษณะเลียกิน ที่เรียกว่า on-top supplementation นอกจากนี้ ยัง พบว่าเมื่อเสริม HQFB/P ร่วมกับฟางหมักยูเรียในโครีดนมทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ดีขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำนมเพิ่มขึ้นด้วย และสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตค่าอาหารข้นได้ลดลง

2.7 เทคโนโลยีการปรับเปลี่ยนการใช้ประโยชน์ของอาหารโดยจุลินทรีย์ในรูเมน

สัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีวิวัฒนาการและพัฒนาการที่มีความเฉพาะตัว ในการที่มีระบบการหมักของพืชอาหารสัตว์ในกระเพาะหมัก หรือรูเมน โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัวและเชื้อรา ภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสม ซึ่งจะผลิตผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญให้กับสัตว์คือ กรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids, VFAs) จุลินทรีย์โปรตีนและไวตามินรวม โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ในรูเมนมีความสามารถในการใช้อาหารหยาบคุณภาพต่ำได้ดี ซึ่งอาหารเหล่านี้สัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนั้นแล้วสัตว์เคี้ยวเอื้องยังสามารถลดพิษจากสารพิษในอาหาร โดยอาศัยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์ในรูเมน กระบวนการโบลิซึมในร่างกายและการให้ผลผลิตต่างๆ ดังนั้นรูเมนจะต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างในรูเมน และความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) จะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์โดยผลผลิตสุดท้ายที่สำคัญที่ได้จากกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยได้ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน จุลินทรีย์โปรตีน กรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ อะซิเตรท โพรพิออเนท และบิวทีเรท เป็นแหล่งของสารตั้งต้นที่สำคัญที่ร่างกายสัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อสังเคราะห์พลังงานในรูปกลูโคสโดยอาศัยกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีส และกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป นอกจากนี้กรดไขมันเหล่านี้ยังเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการนำไปสังเคราะห์เป็นน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม เช่น ไขมัน น้ำตาลแลคโตส เป็นต้น ในขณะที่ NH_3-N นับได้ว่าเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนเพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนหลักที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ดังแสดงในรูปที่ 1) โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการดูดซึมสารประกอบเหล่านี้จากรูเมนเพื่อไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ ชนิดของอาหาร คุณภาพของอาหาร ตลอดจนสัดส่วนระหว่างอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่สัตว์ได้รับ พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์และรูปแบบของกระบวนการหมักในรูเมน โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ในเขตร้อน จะมี

ความแตกต่างกันมากในเรื่องของคุณภาพส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และกระบวนการหมักโภชนะต่าง ๆ ด้วย และส่งผลถึงปริมาณและคุณภาพของผลผลิตในที่สุด



รูปที่ 2 เมทธาโบลิซึมของโปรตีนและไนโตรเจนในรูเมน (Russell et al., 1992)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 บทนำ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการทรีทต์เมล็ดและกากเมล็ดธัญพืช และวัดหาค่าการย่อยได้ในรูเมน ของวัตถุแห้ง โปรตีน และผลของการทรีทต์ต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันเปรียบเทียบก่อนและหลังการทรีทต์ เพื่อจะได้นำข้อมูลดังกล่าว ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงสัตว์ต่อไป

3.2 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดและกากเมล็ดทานตะวัน ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM), เถ้า (ash), โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) โดยวิธีการของ AOAC (1985), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) ตามวิธีการของ (Goering and Van Soest ,1970)

การทรีทต์เมล็ดและกากทานตะวันด้วยอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เมล็ดทานตะวันไม่ทำการอบ (control)
กลุ่มที่ 2 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 100 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที
กลุ่มที่ 3 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 100 ^{o}C เป็นเวลา 60 นาที
กลุ่มที่ 4 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 100 ^{o}C เป็นเวลา 90 นาที
กลุ่มที่ 5 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 120 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที
กลุ่มที่ 6 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 120 ^{o}C เป็นเวลา 60 นาที
กลุ่มที่ 7 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 120 ^{o}C เป็นเวลา 90 นาที
กลุ่มที่ 8 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 140 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที
กลุ่มที่ 9 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 140 ^{o}C เป็นเวลา 60 นาที
กลุ่มที่ 10 เมล็ดทานตะวันที่ทำการอบด้วยอุณหภูมิ 140 ^{o}C เป็นเวลา 90 นาที

3.3 สัตว์ทดลอง

ลักษณะทางโภชนาการ ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน ของเมล็ดและกากทานตะวัน ใช้โคเจาะกระเพาะแบบถาวร (permanent rumen fistulae) จำนวน 3 ตัว ชั่งน้ำหนักสัตว์ทุกตัวก่อนเข้างานทดลอง เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ปรับอาหารด้วยพื้นฐานอาหารหยาบด้วยหญ้าสดและเสริมอาหารข้นเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และวัดความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบอาหารที่จะทดสอบ

3.4 อาหารและการให้อาหารสัตว์ทดลอง

โคทุกตัวได้รับอาหารในระดับเพื่อการดำรงชีพ (maintenance) โดยให้อาหารหยาบ ได้แก่ ฟางข้าว 70 เปอร์เซ็นต์ และอาหารข้น 30% โดยให้อาหารวันละ 2 เวลา (8.00 และ 16.00 น.) มีน้ำสะอาดให้ดื่มตลอดเวลา ปรับสัตว์ด้วยอาหารสัดส่วนดังข้างบนใช้เวลา 14 วัน ก่อนการนำถุง nylon และ mobile bag ลงบ่ม

3.5 เทคนิค nylon bag

ถุงที่ใช้ในการทดลองทำจาก polyester cloth โดยมีรูขนาด 45 ไมครอน และมีขนาด 6 x 12 cm ชั่งน้ำหนักอาหารตัวอย่างใส่ถุง ๆ ละประมาณ 5 กรัม ช่วงเวลาละ 2 ซ้ำต่อสัตว์ 1 ตัว มัดปากถุงให้แน่น และผูกถุงใส่เชือก นำลงบ่มในกระเพาะรูเมนพร้อมๆ กัน และทำการเก็บออก หลังการบ่มที่เวลา 2, 4, 8, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ยกเว้นถุงที่เวลา 0 ไม่ต้องบ่มในรูเมน แต่ทำการล้างเหมือนกับกลุ่มอื่น ถุงที่นำออก จากกระเพาะรูเมนทำการล้างด้วยเครื่องซักผ้าที่ความเร็วในการปั่นในระดับปกติเป็นเวลา 15 นาที ต่อจากนั้นอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และ คำนวณตามสมการของ Ørskov and McDonald (1979) และนำมาคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (Chen, 1996);

$$P = A + B\,(1\text{-}e^{-ct})$$

เมื่อ, P = degradation rate an time t (%),

A = the intercept of the degradation curve at time zero (%),

B = the fraction of DM and CP which will be degraded when given sufficient time for digestion in the rumen (%),

c = a rate constant of disappearance of fraction B (h^{-1}), and

t = time of incubation (h).

ประสิทธิภาพในการย่อยได้ (the effective degradability, E) ของ DM, OM และ CP คำนวณได้จากสมการข้างล่าง ดังนี้

$$\mathbf{E = A + (B)\,(c) / (c + k)}$$

เมื่อ k = the solid outflow rate from the rumen obtained from the previous experiment

3.6 เทคนิค mobile bag

ถุงทำจาก polyester cloth โดยมีรูขนาด 45 ไมครอน โดยมีขนาด 3.5 x 5 cm นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยใน กระเพาะรูเมน ที่มีการย่อยได้สูงสุด ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้อยู่ระหว่างชั่วโมงที่ 12 ถึง 24 จากการทดลอง จึงใช้ทั้ง 2 เวลาดังกล่าว โดยตัวอย่างจากดังกล่าวทำการบดผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ชั่งน้ำหนัก ประมาณ 0.5 กรัม และนำลงบ่มในลำไส้เล็ก ต่อจากนั้นรอเก็บ mobile bag ที่ขับถ่ายออกมากับมูล ทำการล้างและอบ เพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เช่นเดียวกับตัวอย่างอาหารจากรูเมนอาหารที่ผ่านการย่อยในรูเมน (residues) นำมาศึกษาต่อเพื่อวัดการย่อยได้ในลำไส้เล็กโดยใช้เทคนิคการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ (in vitro) ตามวิธีการของ Calsamiglia and Stern (1995)

3.7 Three-step in vitro procedure (Calsamiglia and Stern, 1995)

<u>สารเคมี:</u>

1. 0.1 N HCl containing : 1 g/l 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 g/l pancreatin (Sigma p-7545, Sigma)
4. 100 % (wt/vol) trichloroacetic acid

<u>วิธีการเตรียมสารละลาย:</u>

ยกตัวอย่างเช่น จำนวนตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง

1. 0.1 N HCl 1 g/l of pepsin (Sigma p-7012, Sigma) pH 1.9 ปริมาตร 40 ml

ปริมาณที่ใช้ 10 ml/sample ใช้ทั้งหมด 40 ml

จาก N1V1 = N2V2

N1 = 12 N HCl

V1 = Volume 12 N HCl

N2 = 0.1 N HCl

V2 = 40 ml of 0.1 N HCl

แทนค่า

12 x V1 = 0.1 x 40

V1 = (0.1 x 40)/12

= 0.33 ml

เพราะฉะนั้น ใช้ 12 N HCl = 0.4 ml น้ำกลั่น = 39.6 ml

เนื่องจากมี 1 g/l pepsin เป็นองค์ประกอบ

นั่นคือ สารละลาย 1000 ml ที่ pepsin 1 g

ดังนั้น สารละลาย 40 ml มี pepsin = (1 x 40)/1000 g

= 0.04 g

2. 1 N NaOH ปริมาตร 2 ml

กรัมสมมูลย์ของ NaOH = 40 g

1 N NaOH ใช้ NaOH 40 g ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

ดังนั้น ใช้ NaOH 0.08 g ในน้ำกลั่น 2 ml

3. pancreatin solution (0.5 M KH_2PO_4 buffer standardized at pH 7.8 + 50 ppm thymol + 3 g/l of pancreatin) (Sigma p-7545, Sigma)

น้ำหนักอะตอม K = 39 H = 1 P = 31 O = 16

มวลโมเลกุล ของ KH_2PO_4 = 1(39) + 2(1) + 1(31) + 4(16)

= 136

นั่นคือ 1 M KH_2PO_4 ใช้ KH_2PO_4 = 136 g ในน้ำกลั่น 1000 ml

0.5 M KH_2PO_4 ใช้ KH_2PO_4 = 136 x 0.5

= 68 g ในน้ำกลั่น 1000 ml

เพราะฉะนั้น ใช้ 0.5 M KH_2PO_4 ปริมาตร 54 ml ใช้ KH_2PO_4 = (68 x 54)/1000

= 3.7 g ในสารละลาย 54 ml

และประกอบด้วย 50 ppm thymol

เตรียม stock 0.1 g/ 10 ml

<u>เตรียม stock solutions:</u>

1 g ในน้ำกลั่น 10 ml (0.1%)

เช่น 50 ppm:

สารละลาย 1 x 10^6 ml มีเนื้อสาร 50 g

สารละลาย 54 ml มีเนื้อสาร = (50 x 54)/1 x 10^6

= 2.7 x 10^{-3} (5 x 10^{-3}%)

จาก N1V1 = N2V2

แทนค่า

$(10\%)\ V1 = (5 \times 10^{-3}\%)\ (54)$

$V1 = \dfrac{(5 \times 10^{-3}\%)(54)}{10}$

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

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

Pancreatin 3 g/l:

1000 ml ของสารละลาย มี pancreatin 3 g

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

= 0.162 g

ดังนั้น pancreatin solution มีส่วนประกอบดังนี้ คือ

KH_2PO_4= 3.7 g

Thymol (solution) = 0.027 ml

Pancreatin = 0.162 g

น้ำกลั่น = 53.973 ml

4. 100% (Wt/Vol) trichloroacetic (TCA) solution ปริมาตร 12 ml

thymol 12 g ในน้ำกลั่น 12 ml

ขั้นตอนในการวิเคราะห์:

Three step พัฒนามาจากการหมักในกระเพาะหมัก การย่อยของเปปซิน และการย่อยในลำไส้เล็ก มาประยุกต์เป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

step 1 ruminal incubation

step 2 pepsin - HCl

step 3 intestinal digestion by pancreatin

มีวิธีการดังนี้คือ

ชั่งอาหาร 1.5 กรัม (กรองผ่านตะแกรงขนาด 2 มม.)

นำมาใส่ใน 6 ซม. X 10 ซม. Dacron polyester bag

นำไปบ่มที่กระเพาะหมัก 12 - 16 ชั่วโมง

↓

เมื่อครบเวลาให้นำถุงมาล้างโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านจนกระทั่งน้ำใส

↓

นำไปอบแห้งที่ 55° c เป็นเวลา 48 ชั่วโมง(ใช้ force-air oven)

↓

นำอาหารที่เหลือจากการบ่มมารวมกันโดยให้มีไม่ต่ำกว่า 60 mg of 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 g/L of pepsin (Sigma p-7012,Sigma)

↓

เขย่าด้วย vortex

↓

incubate ที่ 38°C 1 ชั่วโมง ใน shaker waterbath

↓

เติม 0.5 ml ของ 1 N NaOH solution และ 13.5 mj ของ pancreatin solution(ประกอบด้วย 0.5M KH2PO4 buffer stardized at pH 7.8 ซึ่งมี 50 ppm ของ thymol (ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์) และ 3 g/L ของ pancreatin(Sigma p-7545,Sigma))

↓

เขย่าด้วย vortex

incubate ที่ 38 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน shaker waterbath และนำไปเขย่าด้วย vortex ทุก 8 ชั่วโมง

↓

เติม 3 ml ของ 100% (wt./vol) ของ trichloroacetic acid (TCA) solution เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์และแยกส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อย

↓

เขย่าด้วย vortex

↓

ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

↓

centrifuge ที่ 10,000g 15นาที

นำ supernatant ไปวิเคราะห์ โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC,1980)

การคำนวณการย่อยได้ของโปรตีนโดย pepsin-pancreatin จาก TCA soluble - N/N ทั้งหมดของตัวอย่างที่ใช้ (dacron bag residue)

3.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ตัวอย่างอาหารก่อนการบ่ม และตัวอย่างอาหารที่ผ่านการย่อยในกระเพาะรูเมนและในลำไส้เล็ก วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM), เถ้า (ash) และ โปรตีน (Kjeldahl-N) ตามวิธีการของ AOAC (1985)

3.9 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดทำการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและข้อวิจารณ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

เมล็ดทานตะวันที่ใช้ในการทดลอง กลุ่มที่ไม่ได้ทรีทต์ ประกอบด้วยวัตถุแห้ง 92.6 % ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่ทรีทต์ มีค่าระหว่าง 95-96 % ส่วนโปรตีน อินทรียวัตถุ และเถ้าของเมล็ดทานตะวันที่ไม่ทรีทต์ หรือทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติดังแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดทานตะวันที่ใช้ในการทดลอง

รายการ	กลุ่มควบคุม	100 °C			120 °C			140 °C		
		30m	60m	90m	30m	60m	90m	30m	60m	90m
วัตถุแห้ง, %	92.6	95.3	95.5	95.8	95.0	95.9	96.0	95.9	95.8	95.5
		% วัตถุแห้ง								
โปรตีนหยาบ	23.0	22.3	21.3	22.3	23.9	22.6	23.4	23.3	22.4	22.3
อินทรียวัตถุ	96.4	96.3	95.8	95.9	96.2	96.3	96.0	96.3	96.1	96.2
เถ้า	3.6	3.7	4.2	4.1	3.8	3.7	4.0	3.7	3.9	3.8

จากผลการทดลองพบว่า การทรีทต์เมล็ดทานตะวัน ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีหลัก ๆ คือโปรตีน และอินทรียวัตถุ อย่างไรก็ตาม ความร้อนอาจจะมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีน หรือไขมันได้ ซึ่งได้มีการนำไปศึกษาผลเชิงลึกในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 2 ความสามารถในการย่อยได้ของน้ำหนักแห้งของเมล็ดทานตะวันในการบ่มหมักในกระเพาะรูเมน

เวลาในการบ่ม (ชั่วโมง)	กลุ่มทดลอง										SEM
	ควบคุม	100 °C			120 °C			140 °C			
		30m	60m	90m	30m	60m	90m	30m	60m	90m	
0	8.2	8.9	9.2	6.2	8.6	9.6	8.1	7.9	8.3	9.7	0.57
2	17.0	17.2	17.7	16.0	17.5	15.1	14.8	15.4	12.0	12.6	0.19
4	18.2	19.4	17.5	17.8	16.2	15.5	17.2	16.6	17.8	17.2	0.25
8	39.4^{a}	33.6^{b}	39.2^{a}	30.4^{b}	28.3^{bc}	27.2^{c}	30.2^{bc}	26.0^{c}	21.1^{d}	28.1^{c}	3.02
12	50.9^{a}	40.1^{b}	43.6^{b}	32.8^{c}	38.3^{bc}	$37.8b^{c}$	37.6^{bc}	35.5^{c}	34.8^{c}	33.3^{c}	3.49
24	58.4^{a}	57.6^{a}	50.4^{ab}	42.6^{c}	48.8^{b}	45.8^{c}	44.4^{c}	47.4^{b}	44.8^{c}	40.0^{d}	2.11
48	71.0^{a}	64.2^{b}	60.3^{b}	61.3^{b}	57.8^{ab}	52.7^{c}	51.3^{c}	49.4^{cd}	51.2^{cd}	46.0^{d}	1.55
72	82.5^{a}	76.8^{b}	75.6^{b}	58.8^{c}	59.6^{c}	$54.2c^{d}$	53.4^{cd}	55.6^{cd}	53.5^{cd}	49.6^{d}	2.71
ค่าคงที่ของการย่อยได้ของวัตถุแห้ง											
a	9.0	8.5	7.8	4.8	9.2	7.8	6.4	9.0	3.3	1.0	
b	72.0	67.8	61.3	63.4	57.0	58.6	57.9	49.9	54.6	55.1	
c	0.039	0.043	0.144	0.056	0.036	0.037	0.050	0.056	0.071	0.001	
a+b	81.0	71.3	69.1	68.2	66.2	66.4	63.3	58.9	57.9	56.1	
ประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุแห้งที่อัตราการไหลผ่าน (flow rate) ที่แตกต่างกัน											
0.02	49.7	49.8	75.9	44.0	45.8	45.8	44.5	45.8	44.6	23.3	
0.05	35.8	34.8	70.8	32.9	33.1	32.6	30.5	35.4	32.8	10.2	

$^{a, b, c, d,}$ อักษรที่แตกต่างกันในบรรทัดเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 2 ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของเมล็ดทานตะวัน ที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ (100, 120, 140 °C) และเวลา (30, 60 , 90 นาที) ต่างๆ กัน การทดลองพบว่าที่เวลา 0, 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการบ่มในรูเมนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังจากนั้นพบว่าที่ชั่วโมงที่ 8 หลังการบ่มเมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด และสูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120°C และ 140 °C ที่ทุกเวลาของการทรีทต์ ความสามารถในการย่อยได้ที่เวลา 24 ชั่วโมงในการบ่ม พบว่าเมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 100°C ที่เวลา 30 และ 60 นาที แต่

สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 100°C ที่เวลา 90 นาที และกลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120 และ 140 °C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ ตามลำดับ

ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของวัตถุแห้งของกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทรีทต์ สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120 และ 140°C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทรีทต์ที่อุณหภูมิสูงคือ 140 °C และใช้เวลานานคือ 90 นาที ทำให้การย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิสูงมีผลทำให้อาหารบางส่วนไหม้ ซึ่งในทางปฏิบัติจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์

ค่าคงที่ในการย่อยได้ คือ a + b เช่นเดียวกับค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน คือเมล็ดทานตะวันกลุ่มที่ไม่ได้ทรีทต์ มีค่าสูงสุดและลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นและเวลาที่ใช้ทรีทต์นานขึ้น ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทรีทต์สามารถ เพิ่มการไหลผ่านของโภชนะในรูเมน สอดคล้องกับรายงานของ Schweb (1995)

อย่างไรก็ตามดังที่กล่าวมาข้างต้นว่าการทรีทต์ที่อุณหภูมิที่สูง หรือใช้เวลาในการทรีทต์นานเกินไป ทำให้อาหารไหม้ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อสัตว์ได้ และอาจจะทำให้ส่วนที่ไหลผ่านจากรูเมนไป ไม่สามารถถูกนำมาใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ได้ จึงต้องทำการศึกษาโดยใช้ A Three-step technique ในการทดสอบการย่อยได้ในกระเพาะจริง และลำไส้เล็ก ต่อไป

ตารางที่ 3 ความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนของเมล็ดทานตะวันในการบ่มหมักในกระเพาะรูเมนในการทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

เวลาในการบ่ม (ชั่วโมง)	กลุ่มทดลอง										SEM
	ควบคุม	100 °C			120 °C			140 °C			
		30m	60m	90m	30m	60m	90m	30m	60m	90m	
0	17.3	17.5	17.3	16.8	17.5	18.1	17.8	16.4	17.0	18.6	1.57
2	18.2	19.4	17.5	17.8	16.2	15.5	17.2	16.6	17.8	17.2	1.19
4	40.4^{a}	37.6^{b}	38.2^{a}	33.4^{b}	27.4^{c}	27.2^{c}	30.2^{bc}	26.0^{c}	21.1^{d}	22.1^{d}	2.25
8	50.9^{a}	40.1^{b}	43.6^{b}	32.8^{c}	38.3^{bc}	37.8^{bc}	37.6^{bc}	35.5^{c}	34.8^{c}	33.3^{c}	3.52
12	53.4^{a}	52.6^{a}	48.4^{ab}	40.6^{c}	47.8^{b}	43.8^{c}	42.4^{c}	45.4^{b}	42.86^{c}	38.3^{d}	3.79
24	61.0^{a}	54.2^{b}	50.3^{b}	51.3^{b}	47.8^{ab}	42.7^{c}	41.7^{c}	39.4^{cd}	41.2^{cd}	36.2^{d}	2.91
48	72.5^{a}	66.8^{b}	65.6^{b}	58.8^{c}	49.6^{c}	44.2^{cd}	43.4^{cd}	45.6^{cd}	43.5^{cd}	39.6^{d}	2.55
72	75.5^{a}	67.8^{b}	65.9^{b}	60.4^{c}	50.6^{c}	47.6^{cd}	45.6^{cd}	47.9^{cd}	45.5^{cd}	39.9^{d}	2.79
ค่าคงที่ของการย่อยได้ของวัตถุแห้ง											
a	7.0	6.5	6.5	5.8	7.2	7.8	6.4	9.0	7.3	8.0	
b	67.0	62.8	56.3	58.4	52.0	53.6	52.9	42.9	42.6	41.1	
c	0.029	0.033	0.104	0.076	0.044	0.057	0.049	0.051	0.061	0.041	
a+b	74.0	69.3	62.8	64.1	59.2	61.4	59.1	51.9	49.9	49.1	
ประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุแห้งที่อัตราการไหลผ่าน (flow rate) ที่แตกต่างกัน											
0.02	47.3	47.8	45.9	44.5	45.2	45.1	44.9	45.8	47.6	43.3	
0.05	34.1	34.8	35.8	32.6	37.1	32.3	30.1	35.4	32.5	30.2	

[a, b, c, d,] อักษรที่แตกต่างกันในบรรทัดเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 3 ความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในรูเมนของเมล็ดทานตะวัน ที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ (100, 120, 140 °C) และเวลา (30, 60 , 90 นาที) ต่างๆ กัน การทดลองพบว่าที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงหลังการบ่มในรูเมนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังจากนั้นพบว่าที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการบ่ม เมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด และสูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120°C และ 140 °C ที่ทุกเวลาของการทรีทต์ ความสามารถในการย่อยได้ที่เวลา 24 ชั่วโมงในการบ่ม พบว่าเมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 100°C ที่เวลา 30 และ 60 นาที แต่สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 100°C ที่เวลา 90 นาที และกลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120°C และ 140 °C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ ตามลำดับ

ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของโปรตีนของกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทรีทต์ สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120°C และ 140°C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทรีทต์ที่อุณหภูมิสูงคือ 140 °C และใช้เวลานานคือ 90 นาที ทำให้การย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ทำให้อาหารบางส่วนไหม้ ซึ่งในทางปฏิบัติจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์

ค่าคงที่ในการย่อยได้ คือ a + b เช่นเดียวกับค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน คือเมล็ดทานตะวันกลุ่มที่ไม่ได้ทรีทต์ มีค่าสูงสุดและลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นและเวลาที่ใช้ทรีทต์นานขึ้น ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทรีทต์สามารถ เพิ่มการไหลผ่านของโภชนะในรูเมน สอดคล้องกับรายงานของ Schweb (1995)

อย่างไรก็ตามดังที่กล่าวมาข้างต้นว่าการทรีทต์ที่อุณหภูมิที่สูง หรือใช้เวลาในการทรีทต์นานเกินไป ทำให้อาหารไหม้ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อสัตว์ได้ และอาจจะทำให้ส่วนที่ไหลผ่านจากรูเมนไป ไม่สามารถถูกนำมาใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ได้ จึงต้องทำการศึกษาโดยใช้ A Three-step technique ในการทดสอบการย่อยได้ในกระเพาะจริง และลำไส้เล็ก ต่อไป

ตารางที่ 4 แสดงการย่อยได้โปรตีนในลำไส้เล็กโดยวิธี Three-step ของเมล็ดทานตะวันเมื่อทำการอบในระดับอุณหภูมิที่ แตกต่างกัน

กลุ่มทดลอง	ส่วนที่ถูกย่อยสลาย		
	รูเมน	กระเพาะจริงและลำไส้เล็ก	รวม
กลุ่มทดลองที่ 1=เมล็ดทานตะวันแห้ง	60.0^{b}	18.6^{d}	78.6^{e}
กลุ่มทดลองที่2= เมล็ดทานตะวันที่100°C 30 นาที	60.7^{b}	20.3^{cd}	81.0^{de}
กลุ่มทดลองที่3= เมล็ดทานตะวันที่100°C 60 นาที	60.4^{b}	23.6^{b}	84.0^{cd}
กลุ่มทดลองที่4= เมล็ดทานตะวันที่100°C 90 นาที	63.7^{ab}	23.8^{b}	87.7^{ab}
กลุ่มทดลองที่5= เมล็ดทานตะวันที่120°C 30 นาที	67.6^{a}	24.5^{b}	92.1^{ab}
กลุ่มทดลองที่6= เมล็ดทานตะวันที่120°C 60 นาที	68.4^{a}	27.7^{a}	96.1^{a}
กลุ่มทดลองที่7= เมล็ดทานตะวันที่120°C 90 นาที	37.1^{c}	22.1^{bc}	59.2^{f}
กลุ่มทดลองที่8= เมล็ดทานตะวันที่140°C 30 นาที	38.6^{c}	19.8^{cd}	58.4^{f}
กลุ่มทดลองที่9= เมล็ดทานตะวันที่140°C 60 นาที	34.9^{cd}	19.3^{cd}	54.2^{gf}
กลุ่มทดลองที่10= เมล็ดทานตะวันที่140°C 90 นาที	31.4^{d}	18.3^{d}	49.7^{g}

$^{a, b, c, d, e, f, g}$ อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 5 แสดงการย่อยได้โปรตีนในลำไส้เล็กโดยวิธี Three-step ของกากเมล็ดทานตะวันเมื่อทำการอบในระดับอุณหภูมิที่ แตกต่างกัน

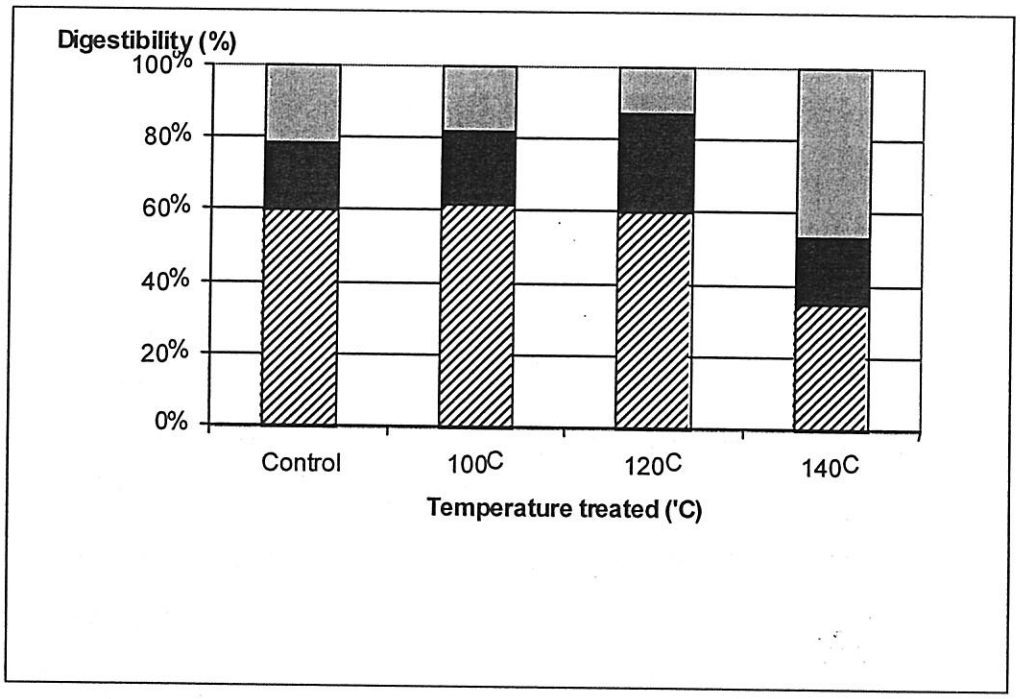
กลุ่มทดลอง	ส่วนที่ถูกย่อยสลาย		
	รูเมน	กระเพาะจริง และลำไส้เล็ก	รวม
กลุ่มทดลองที่ 1=กากเมล็ดทานตะวันแห้ง	50.2^{b}	20.1^{d}	70.3^{e}
กลุ่มทดลองที่2= กากเมล็ดทานตะวันที่100°C 30 นาที	50.3^{b}	22.3^{cd}	72.5^{de}
กลุ่มทดลองที่3= กากเมล็ดทานตะวันที่100°C 60 นาที	50.6^{b}	25.4^{b}	76^{cd}
กลุ่มทดลองที่4= กากเมล็ดทานตะวันที่100°C 90 นาที	53.7^{ab}	25.8^{b}	79.5^{ab}
กลุ่มทดลองที่5= กากเมล็ดทานตะวันที่120°C 30 นาที	57.6^{a}	26.5^{b}	84.1^{ab}
กลุ่มทดลองที่6= กากเมล็ดทานตะวันที่120°C 60 นาที	58.4^{a}	29.7^{a}	88.1^{a}
กลุ่มทดลองที่7= กากเมล็ดทานตะวันที่120°C 90 นาที	27.7^{c}	25.1^{bc}	52.8^{f}
กลุ่มทดลองที่8= กากเมล็ดทานตะวันที่140°C 30 นาที	28.4^{c}	21.8^{cd}	50.2^{f}
กลุ่มทดลองที่9= กากเมล็ดทานตะวันที่140°C 60 นาที	24.9^{cd}	21.3^{cd}	46.2^{gf}
กลุ่มทดลองที่10= กากเมล็ดทานตะวันที่140°C 90 นาที	21.4^{d}	20.3^{d}	41.7^{g}

$^{a, b, c, d, e, f, g}$ อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

การย่อยได้ของโปรตีนของเมล็ดทานตะวันและกากเมล็ดทานตะวัน ที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120 °C นาน 30 และ 60 นาที สูงว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 100 °C นาน 90 นาที ดังแสดงในตารางที่ 4

การทรีทต์ที่ระดับอุณหภูมิสูง ถึง 140°C มีผลทำให้การย่อยได้ในรูเมนลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Calsaminglia and Stern (1995) ซึ่งกล่าวว่า การทรีทต์ด้วยอุณหภูมิสูงตั้งแต่ 120°C ขึ้นไปมีผลทำให้การย่อยได้ในรูเมนลดลง

สำหรับการย่อยได้ในกระเพาะจริง และลำไส้เล็กซึ่งใช้เทคนิค A Three-step ในการทดสอบพบว่าการย่อยได้ของโปรตีนของเมล็ดทานตะวัน ที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120 °C นาน 60 นาที สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 3 สัดส่วนการย่อยได้โปรตีนของเมล็ดทานตะวันในส่วนของกระเพาะรูเมน, ลำไส้เล็ก และส่วนที่ย่อยไม่ได้ เมื่อทำการอบในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

จากการวิจัยในครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่า เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120 °C นาน 30 ถึง 60 นาที สามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็ก หรือโปรตีนไหลผ่านที่ใช้ประโยชน์ได้จริง และยังพบว่าอาหารส่วนที่ย่อยไม่ได้ น้อยกว่ากลุ่มอื่น แสดงให้เห็นว่า สัตว์สามารถที่จะนำเอาโภชนะโดยเฉพาะโปรตีน ไปใช้ประโยชน์ได้ดีทั้งในรูเมน กระเพาะจริง และลำไส้เล็ก (ตารางที่ 5, รูปที่ 3)

ผลการวิจัยในครั้งนี้สามารถเขียนสรุปเป็น model ได้ดังนี้

Rumen degradation model

Rumen degradation was determined using the nylon bag (mesh size 45 μm; bag size 6x12 cm) technique. The contents of organic mater (OM) and CP disappearing from nylon bags were expressed as the proportion of the original sample incubated are the results fitted to the Ørskov and McDonald (1979) exponential model :

$$P = A + B(1-e^{-kat}),$$

where P is the nutrient disappearance at time t; A the solubility in water; B the degradability of water soluble, but slowly degradable fraction; and k_a the rate of degradability of fraction B per hour.

The effective degradability (g/kg DM) was calculated as (Ørskov and McDonald, 1979):

$$ED = A + \{B\ (k_a)/ (ka + k_b)\},$$

where k_b is the outflow rate of digesta from rumen. An outflow rate of 0.05 /h was assumed for grains or oil seeds. The amount (g/kg DM) of degradable OM and CP in the rumen were calculated as:

$$ACP = \{(A /1000)\} \times CP,\ AOM = \{(A/1000)\} \times OM,\ BCP = \{(B/1000)\} \times CP,$$

$$BOM = \{(B/1000)\} \times OM.$$

The amounts (g/kg DM) of fermentable CP and OM were calculated as:

$$UCP = [\{U \times (CP/1000)\}] \times CP,\ UOM = [\{U \times (OM/1000)\}] \times OM.$$

The amount (g/kg DM) of fermentable CP and OM were calculated as:

$$FCP = [\{ED \times (CP/1000)\}] \times CP,\ FOM = [\{ED \times (OM/1000)\}] \times OM.$$

The amount of fermentable carbohydrate (CHO) was calculated as:

$$FCHO = FOM - FCP.$$

Estimation of rumen microbial protein yield

It was assumed that 150 g of RMP are synthesized per kg of fermentable OM and that a kg of fermentable CP will yield only half that amount (75 g RMP) (ARC, 1984; NRC, 1988; Tamminga et al., 1994). Total yield (g/kg DM) of RMP was estimated as:

$$RMP = \{(FOM/1000)\} \times 150.$$

The yield (g/kg DM) of RMP from fermentable CP was estimated as:

$$RMPCP = \{(FCP/1000)\} \times 75.$$

The yield (g/kg DM) of RMP from FCHO was estimated as:

RMPCHO = RMP – RMPCP.

Estimation of intestinal protein digestion

The yield (g/kg DM) of RMP digested in the intestines was estimated as:

RMPI = RMP x 0.85, assuming that RMP is digested in the intestines with an efficiency of 85% (Tamminga et al., 1994).

The amount (g/kg DM) of rumen non-degradable protein was estimated as:

RUP = CP – FCP.

The amount (g/kg DM) of RUP digested in the intestines was estimated as:

RUPDI = RUP – UCP.

The amount (g/kg DM) of total protein digestion in the intestines was estimated as:

PDI = RMPI + RUPDI.

ตารางที่ 6 ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของโปรตีนและอินทรียวัตถุ, ค่าประเมินการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในรูเมน และโปรตีนทั้งหมดที่ย่อยได้ในรูเมน และลำไส้เล็กของเมล็ดธัญพืชที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

	Sunflower seeds				Full-fat soybean			SEM
	100°C	120°C	140°C		100°C	120°C	140°C	
Organic matter fractions (g/kg OM)								
A	228	157	113		195	224	114	17.21
B	474^{ab}	506^{a}	350^{c}		505^{a}	491^{ab}	447^{b}	1676
c	0.86^{a}	0.68b^{c}	0.70^{bc}		0.75^{ab}	0.79^{ab}	0.57^{c}	0.03
A+B	702^{a}	662^{a}	462^{c}		705^{a}	715^{a}	511^{b}	28.68
ED	528^{a}	447^{ab}	317^{c}		497^{a}	525^{a}	353^{bc}	26.46
Crude protein fractions (g/kg CP)								
A	119^{c}	89^{d}	44^{e}		202^{a}	153^{b}	109^{c}	14.97
B	532^{a}	538^{a}	374^{c}		532^{a}	542^{a}	390^{b}	21.98
c	0.69^{bc}	0.75^{b}	0.88^{a}		0.88^{a}	0.97^{a}	0.97^{a}	0.04
A+B	651^{c}	626^{b}	417^{f}		734^{a}	695^{b}	500^{e}	33.43
ED	426^{c}	411^{d}	283^{f}		539^{a}	510^{b}	330^{e}	27.32
Yields of rumen microbial protein (RMP) (g/kg DM)								
From FCHO	48.8^{bc}	47.2^{c}	31.9^{d}		53.3^{a}	50.8^{b}	31.5^{d}	2.67
From FCP	9.1^{c}	8.8^{c}	6.5^{c}		21.9^{a}	20.6^{a}	14.5^{b}	1.81
Total RMP	57.9^{c}	56.0^{d}	38.4^{f}		75.2^{a}	71.4^{b}	46.1^{e}	3.91
RUP	156.4^{c}	157.3^{c}	165.9^{c}		203.3^{b}	204.5^{b}	223.1^{a}	7.99
Protein digested in the intestines (g/kg DM)								
From RMP	49.2^{c}	47.6^{d}	32.6^{f}		63.9^{a}	60.7^{b}	39.2^{e}	3.32
From RUP	57.1^{a}	50.5^{b}	41.1^{c}		59.5^{a}	40.1^{c}	32.0^{d}	2.98
Total PDI	106.3^{b}	98.1^{c}	73.7^{d}		123.4^{a}	100.8^{c}	71.2^{d}	5.52

^{a,b,c,d,e,f} Values on the same row under each main effect with differ superscripts different significantly (P<0.05), ED =effective degradability, FCHO = fermentable carbohydrate, FCP = fermentable crude protein, RUP = rumen undegradable protein, PDI = protein digestion in the intestines, SEM = standard error of means.

จากตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่า ค่าความสามารถในการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ และโปรตีน รวมถึงค่าคงที่ (A, B, kd, A+B) เปรียบเทียบของเมล็ดธัญพืชสองชนิด สอดคล้องกันกล่าวคือ การทรีทต์ที่อุณหภูมิ 140 °C มีค่าต่ำสุด และ full fat soybean มีค่าสูงกว่าเมล็ดทานตะวัน ในขณะที่ค่า effective degradability เพิ่มขึ้นตามระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นที่ใช้ทรีทต์

การประเมินจุลินทรีย์โปรตีนที่สังเคราะห์ในรูเมน ลดลงตามระดับของอุณหภูมิที่สูงขึ้นที่ใช้ทรีทต์ และ full fat soybean มีค่าสูงกว่า ($p<0.05$) เมล็ดทานตะวัน

จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า full fat sotbean สามารถถูกใช้โดยจุลินทรีย์ หรือจุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าเม็ดทานตะวัน แต่ที่อุณหภูมิเดียวกันกลับพบว่า ระดับโปรตีนไหลผ่านของเมล็ดทานตะวันมีค่าสูงกว่า full fat soybean อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 7 ผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันต่อระดับ conjugated linoleic acid (CLA, mg/ 100 g sample)

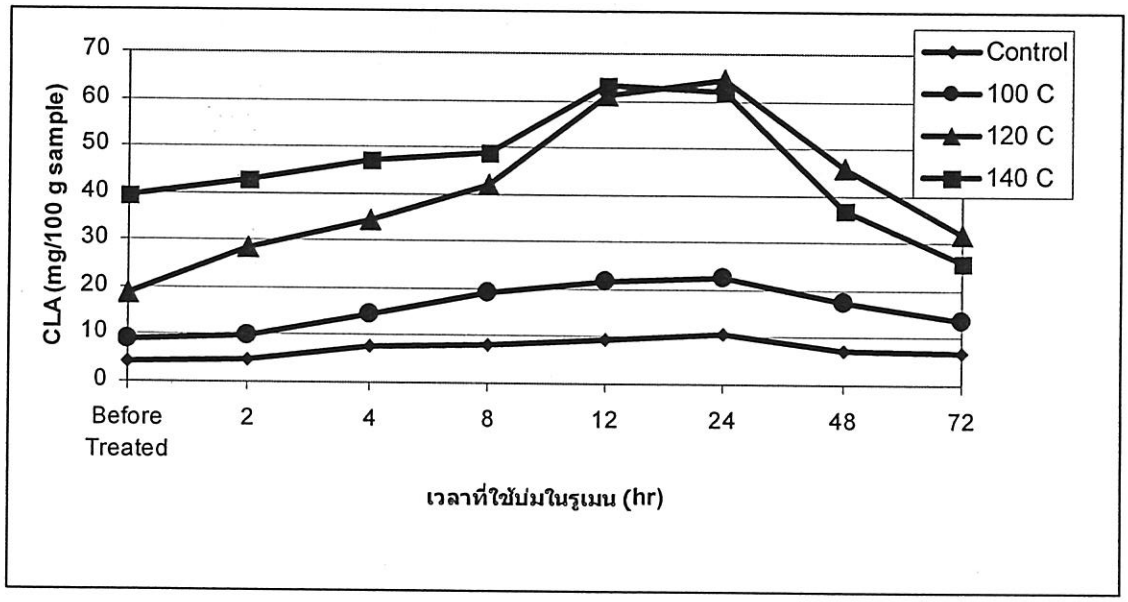
อุณหภูมิทรีทต์ (°C)	เวลาทรีทต์ (นาที)	ก่อนบ่ม	เวลาในการบ่มในรูเมน (hr)						
			2	4	8	12	24	48	72
Control	0	4.4^{f}	4.8^{e}	7.5^{f}	8.1^{f}	9.2^{e}	10.5^{g}	7.1^{g}	6.6^{f}
100	30	6.1^{e}	7.2^{de}	8.2^{f}	9.1^{f}	10.5^{e}	7.4^{g}	6.9^{g}	6.5^{f}
	60	8.5^{d}	10.1^{d}	12.7^{e}	15.5^{e}	20.8^{d}	21.2^{f}	15.3^{f}	13.1^{e}
	90	10.5^{c}	13.3^{d}	22.7^{d}	33.1^{d}	35.2^{c}	37.3^{e}	28.8^{e}	20.2^{d}
120	30	10.3^{c}	15.7^{cd}	20.3^{d}	30.1^{d}	33.5^{c}	38.8^{d}	29.1^{e}	21.7^{d}
	60	11.9^{c}	20.7^{c}	30.2^{c}	40.4^{c}	62.4^{b}	65.3^{b}	52.3^{c}	32.7^{c}
	90	33.2^{b}	48.8^{b}	52.7^{b}	55.0^{b}	87.8^{ab}	89.4^{a}	60.8^{b}	40.8^{b}
140	30	30.2^{b}	38.8^{bc}	44.7^{bc}	48.8^{b}	60.6^{b}	66.5^{b}	40.7^{d}	34.3^{c}
	60	58.4^{a}	59.3^{a}	70.6^{a}	89.2^{a}	97.9^{a}	89.4^{a}	70.3^{a}	65.1^{a}
	90	35.2^{b}	44.4^{b}	46.7^{bc}	47.1^{b}	46.3^{bc}	47.9^{c}	33.3^{e}	34.7^{c}

^{a,b,c,d,e,f,g} Values on the same column under each main effect with differ superscripts different significantly ($P<0.05$),

จากตารางที่ 7 เป็นผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันต่อระดับ conjugated linoleic acid (CLA) ผลการศึกษาพบว่า ก่อนการบ่มในรูเมน เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ทั้งหมดมี CLA สูงกว่ากลุ่มไม่ทรีทต์ การทรีทต์ที่ทำให้ระดับ CLA สูงสุดและสูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือการทรีทต์ที่อุณหภูมิ 140°C ใช้เวลา 60 นาที

เมื่อบ่มเมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่า ทำให้ค่า CLA เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้บ่มจนมีระดับสูงสุด ที่เวลาบ่ม 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นลดลงเมื่อบ่มนานขึ้น

ระดับ CLA สูงสุด (90.7 mg/ 100 g sample) ในกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 60 นาที แต่เมื่อใช้เวลา 90 นาทีกลับทำให้ CLA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 4 ผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิต่างๆ กันต่อระดับ conjugated linoleic acid (CLA) ในการบ่มในรูเมนที่เวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4 แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120°C และ 140°C ในการทรีทต์เมล็ดทานตะวันเมื่อบ่มในรูเมน พบว่าทำให้เกิด CLA สูงกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ทรีทต์และทรีทต์ที่ 100 °C และหลังการบ่มในรูเมนที่ระหว่าง 12 ถึง 24 ชั่วโมง ทำให้ระดับ CLA สูงสุด

บทที่ 4
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของการทรีทต์เมล็ดธัญพืช คือเมล็ดและกากเมล็ดทานตะวัน ต่อความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของโคเจาะกระเพาะ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของ CLA เมื่อบ่มในรูเมนที่เวลาต่างๆ ผลการทดลอง พบว่า ที่ชั่วโมงที่ 8 หลังการบ่ม เมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด และสูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120°C และ 140 °C ที่ทุกเวลาของการทรีทต์ ความสามารถในการย่อยได้ที่เวลา 24 ชั่วโมงในการบ่ม พบว่าเมล็ดทานตะวันที่ไม่ได้ทรีทต์มีค่าความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนสูงที่สุด

ความสามารถในการย่อยได้ในรูเมนของวัตถุแห้ง และโปรตีน ของกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทรีทต์สูงกว่า ($p<0.05$) กลุ่มที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิ 120 และ 140°C ที่ทุกเวลาในการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทรีทต์ที่อุณหภูมิสูงคือ 140 °C และใช้เวลานานคือ 90 นาที ทำให้การย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ทำให้อาหารบางส่วนไหม้ ซึ่งในทางปฏิบัติจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 120 °C นาน 30 ถึง 60 นาที สามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็ก หรือโปรตีนไหลผ่านที่ใช้ประโยชน์ได้จริง และยังพบว่าอาหารส่วนที่ย่อยไม่ได้ น้อยกว่ากลุ่มอื่น แสดงให้เห็นว่า สัตว์สามารถที่จะนำเอาโภชนะโดยเฉพาะโปรตีน ไปใช้ประโยชน์ได้ดีทั้งในรูเมน กระเพาะจริง และลำไส้เล็ก เป็นผลของการทรีทต์เมล็ดทานตะวันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันต่อระดับ conjugated linoleic acid (CLA) ผลการศึกษาพบว่า ก่อนการบ่มในรูเมน เมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ทั้งหมดมี CLA สูงกว่ากลุ่มไม่ทรีทต์ การทรีทต์ที่ทำให้ระดับ CLA สูงสุดและสูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือการทรีทต์ที่อุณหภูมิ 140°C ใช้เวลา 60 นาที เมื่อบ่มเมล็ดทานตะวันที่ทรีทต์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่า ทำให้ค่า CLA เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้บ่มจนมีระดับสูงสุด ที่เวลาบ่ม 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นลดลงเมื่อบ่มนานขึ้น ระดับ CLA สูงสุด (90.7 mg/ 100 g sample) ในกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยอุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 60 นาที แต่เมื่อใช้เวลา 90 นาทีกลับทำให้ CLA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงโภชนะ ของเมล็ดธัญพืชที่อบด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างๆ การทดลองใช้เวลาค่อนข้างนาน เนื่องจากเกิดความล่าช้าในเรื่องการวิเคราะห์ CLA และใช้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษาก็เป็นที่น่าพอใจ และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยต่อไป ดังนี้

ก. ผลการบ่มในรูเมน พบว่าที่เวลาประมาณ 12 – 24 ชั่วโมงทำให้เมล็ดทานตะวันในถุงไนลอนมีระดับ CLA สูงสุด จึงควรจะมีการวิจัยในการเลี้ยงสัตว์จริง และเก็บของเหลวในรูเมนมาวิเคราะห์ CLA

ข. หลังจาก 48 ชั่วโมงหลังการบ่มทำให้ CLA ลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้สาเหตุอาจจะเนื่องมาจากจุลินทรีย์ในรูเมนได้เปลี่ยน CLA ไปเป็นกรดไขมันสเตียริคซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการ จึงควรหาวิธีไม่ให้เกิดกระบวนการดังกล่าว

ค. ควรมีการนำไปเลี้ยงสัตว์เพื่อวัดการให้ผลผลิต และศึกษาระดับ CLA ในเนื้อหรือน้ำนม ทั้งในโคเนื้อ โคนม แพะ –แกะ

ง. ควรมีการนำไปเลี้ยงสัตว์เพื่อวัดการให้ผลผลิต และศึกษาในเรื่องระดับโปรตีนไหลผ่าน ทั้งในเมล็ดและกากเมล็ดทานตะวัน

บรรณานุกรม

Bauman, D.E., L.H. Baumgard, B.A. Corl and J.M. Griinari. 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Prod. Of the American Soc. of Anim. Sci. 1-15. Available at:http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf.

Belury, M.A. 1995. Conjugated dienoic linoleate: a polyunsaturated fatty acids with unique chemical properties. Nutr. Rev. 53: 83-89.

Boniface, A.N., R.M. Murry, and P.J. Hogan. 1986. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 16:151-154.

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

Chanthai, S., M. Wanapat and C. Wachirapakorn. 1989. Rumen ammonia-N and volatile fatty acid concentrations in cattle and buffalo given rice straw-based diets. In:Proc. 7th AFAR Int. Workshop. (Ed. R.M. Dixon), IDP Canberra, Australia. 191-195.

Chen, X.B. 1996. An Application Programe for Processing Feed Degradability Data. User Manual. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK.

Czerkawski, J. W., and K.-J. Cheng. 1988. Compartmentation in the rumen. Pages 361-385 in The Rumen Microbial Ecosystem. P. N. Hobson ed. Elsevier Science Publishing, New York.

Devendra, C. 1992. Non-conventional feed resources in Asia and the Pacific: strategies for expanding utilization at the small farm level. FAO/APHCA, Bangkok. FAO Publication. No. 14.

Devendra, C. 2001. Smallholder dairy production systems in developing Countries characteristics, potential and opportunities for improvement-review. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 14:104-113.

Erdman, R.A., G. H. Proctor and J. H. Vandersall. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. J. Dairy Sci. 69: 2312-2320.

Faldet, M.A., L.D. Satter and G.A. Broderick. 1992. Determining optimal heat treatment of soybeans by measuring available lysine chemically and biologically with rats to maximize protein utilization by ruminants. J. Nutr. 122: 151-160.

Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis(apparatus, Reagent, Procedures and some Application). Agric. Handbook. N. 397. ARS, USDA, Washington, D.C.

Griinari, J.M., D.A. Dwyer, M.A. McGuire and D.E. Bauman. 1996. Partially hydrogenated fatty acids and milk fat depression. J. Dairy Sci. 79 (Suppl.1) 177 (abs.).

Ha, Y.L., N.K. Grimm and M.W. Pariza. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis. 8: 1881-1887.

Hart, F.J. and M. Wanapat. 1992. Physiology of digestion of urea-treated rice straw in swamp buffalo. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 5:617-622.

Henderson, C. 1973. The effect of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. J. Agric. Sci. 81: 107-112.

Kanjanapruthipong, J. and R.A. Leng. 1998. The effects of dietary urea on microbial populations in the rumen of sheep. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 11:661-672.

Kelly, M.L., J.R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M.E. Van Amburgh and D.E. Beaman. 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. The J. of Nutr. 128 (5): 881-885.

Kepler, C.R., K.P. Harons, J.J. McNeill and S.B. Tove. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by Butyrivibrio fibrisovens. J. Biol. Chem. 241: 1350-1354.

Kim, Y.J., and R.H. Liu. 1999. Selective increase in conjugated linoleic acid in milk fat by crystallization. J. Food Sci. 64: 792-795.

Lana, P., J.B. Russell and M. E. V. Amburgh. 1998. The role of pH in regulation ruminal methane and ammonia production. J. Anim. Sci. 76:2190-2196.

Leng, R.A. 1990. Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. Nutri. Res. Rev. pp. 3-5.

Leng, R.A. 1993. Quantitative ruminant nutrition – a green science. Aust. J. Agic. Res. 44: 363-380.

Li, Y., M.F. Seifert, D.M. Ney, M. Grahn, A.L. Grant, K.G.D. Allen and B.A. Watkins. 1999. Dietary conjugated linoleic acid alters serum IGF-1 and IGF-1 binding protein concentrations and reduces bone formation in rats fed (n-6) or (n-3) fatty acids. J. Bone Miner. Res. 14: 1153-1162.

Nguyen Van Thu and T.R. Preston. 1999. Rumen environment and feed degradability in swamp buffaloes fed different supplements. Livestock Res. for Rural Dev. 11(3): http: // www. Cipav. Org. co/lrrd/ lrrd 11/3/ thu 113. htm.

National Research Council. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6th ed. Washington, DC. National Academic Press.

Odle, J. and D. M. Schaefer. 1987. Influence of rumen ammonia concentration on the rumen degradation rates of barley and maize. Br. J. Nutr. 57:127-138.

Ørskov, E.R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed to rate of passage. J. Agri. Sci., Camb. 92:499.

Pariza, M.W. and W.A. Hargraves. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Carcinogenesis. 6: 591-593.

Parsons, C.M., K. Hashimoto, K.J. Wedekind, Y. Han and D.H. Baker. 1992. Effect of ovenprocessing on availability of amino acids and energy in soybean meal. Poultry Sci. 71: 133-140.

Perdok, H.B. and L.A. Leng. 1989. 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. 3:269-279.

Preston, T.R. and R.A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production Systems with Available Resoures in the Tropics and Subtropics. Armidale, Auastralia, Penambul Books.

Rihani, N., W.N. Garrett and R.A. Zinn. 1993. Influence of level of urea and method of supplementation on characteristics of digestion of high-fiber diets by sheep. J. Anim. Sci. 71:1657-1665.

Robinson, P.H., R.E. McQueen and P.L. Buress. 1991. Influence of rumen on increasing animal undegradable protein levels on feed intake and milk production of dairy cows J. Dairy Sci. 74:1623-1631.

Russell, J.B. and H. J. Strobe. 1987. Concentration of ammonia across cell membrane of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 70: 970-976.

Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest, and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. J. Anim. Sci. 70:3551-3561.

Satter, L.D., and L.L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Brit. J. Nutr. 32:199-208.

Sehat, N., M.P. Yurawecz, J.A.G. Roach, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer and Y. Ku. 1998. Silverion high-performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. Lipids. 33 : 217-222.

Schwab, C.G. 1995. Protected proteins and amino acids for ruminants. In: Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding, R.J. Wallace and A. Chesson, Eds. VCH Verlagsgesellschaft MBH, D-Weinheim. pp. 116-141.

Slyter, L.L. 1976. Influence of acidosis on rumen function. J. Anim. Sci. 43:910-929.

Slyter, L.L, L.D. Satter and D.A. Dinius. 1979. Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. J. of Anim. Sci. 48:906-912.

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

Sugano, M., A. Tsujita, M. Yamashi, M. Noguchi and K. Yamada. 1998. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunologlobulins in rats. Lipids. 33: 521-527.

Wallace, R.J. 1979. Effect of ammonia concentration on the composition, hydrolytic activity and nitrogen metabolism of the microbial flora of the rumen. J. Appl. Bacteriol. 47:433-455.

Wallace, R. J. 1996. Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. J. Nutr. 126:1326S-1334S.

Wanapat, M. 1985. Improving rice straw quality as ruminant feed by urea-treated in Thailand. In. :Proc. of Relevance of crop residues as animal feeds in developing countries. (M. Wanapat and C.Devendra, eds) Funny Press, Bangkok, Thailand.

Wanapat, M. 1999. Feeding of ruminants in the tropics based on local feed resources. Khon Kaen Publishing Company Ltd., Khon Kaen, Thailand. 236 p.

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

Williams, A.G. and G.S. Coleman. 1992. The rumen protozoa. A.G. Williams and G.S. Coleman Eds, Springer-Verlag, London, 441 page.

ภาคผนวก ก

<u>การเผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับชาติ และนานาชาติ</u>

1. Paengkoum, P., S. Sornnok and W. Suksombat. 2004. Effect of high temperature treated of sunflower seeds on intertinal digetibiligy using *in vitro* technique. In : Proc 11th The Asian-sustralasian Association of Animal Production (AAAP) Congress, 5-9th September 2004. Kuala Lumpur, Malaysia.
2. Paengkoum, P. 2004. Using rumen degradation model to evaluate microbial protein yield and intestinal digestion of grains in cattle. In : Proc 6th International Workshop Modelling Nutrient Utilisation in Farm Animals, 6-8th September 2004. Wageningen, the Netherlands.
3. Pramote Paengkoum and Somnuk Sornnok. Various time and temperature treatments of full-fat soybeans on intestinal digestibility in iuminants. International Symposium on Animal and Plant Production for Food and Environmental Security. 9-11 Aug 2004, Bangkok, Thailand. 2004: p 65-67.

ประวัติผู้วิจัย

1. ข้อมูลส่วนตัว

ชื่อ - นามสกุล ดร. ปราโมทย์ แพงคำ (Dr. Pramote Paengkoum)

วันเกิด 29 กุมภาพันธ์ 2515 **ตำแหน่งปัจจุบัน** : อาจารย์

ที่อยู่ : สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์/โทรสาร (044) 224575/ 224151, E-mail: pramote@sut.ac.th

2. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2536	ปริญญาตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เกษตรศาสตร์	สัตวศาสตร์	ม.ขอนแก่น	ไทย
2541	ปริญญาโท	วท.ม. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	Ruminant Nutrition	สัตวศาสตร์	ม.ขอนแก่น	ไทย
2546	ปริญญาเอก	Ph.D. Doctor of Philosophy	Animal Nutrition	สัตวศาสตร์	Universiti Putra Malaysia	Malaysia

3. สิ่งตีพิมพ์ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

Wanapat, M., S. Chumpawadee and **P. Paengkoum**. 2000. Utilization of urea-treated rice straw and whole sugar cane crop as roughage sources for dairy cattle during the dry season. AJAS. 13 (4): 474-477.

Paengkoum, P., J.B. Liang, M. Basery and Z.A. Jelan. 2001. Ruminal and intestinal digestibilities of oil palm (Elaeis guineesis) fronds in cattle. Songklanakarin J. Sci. Technol. 23 (2): 343-350.

Paengkoum, P., J.B. Liang, M. Basery and Z.A. Jelan. 2001. Ruminal and intestinal digestibilities of protein foliages in crossbred cattle. Chiang Mai J. Sci. 28: 45-49.

Paengkoum, P., J.B. Liang, M. Basery and Z.A. Jelan. 2001. Ruminal and intestinal digestibility of Leucaena foliage (Leucaena leucocephala) and kenaf foliage (Habiscus cannabinas) in cattle. Suranaree J. Sci. Technol. 8: 154-159.

4. รางวัลที่เคยได้รับ (ด้านวิชาการโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับงานวิจัย):

1. รางวัลชนะเลิศ การนำเสนอผลงานวิชาการนานาชาติ เรื่อง

"Pramote Paengkoum and Somnuk Sornnok. Various Time and Temperature Treatments of full-fat soybeans on Intestinal digestibility in Ruminants. *International Symposium on Animal and Plant Production for Food and Environmental Security*. 9-11 Aug 2004, Bangkok, Thailand. 2004: p 65-67."

2. รางวัลรองชนะเลิศอันดับที่สอง การนำเสนอผลงานวิชาการระดับชาติ เรื่อง "Effect of high temperature treated of cassarea on ruminal degradability of dairy cattle" ณ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ระหว่างวันที่ 17-19 ก.พ.2548.