รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 48 – 36 - 35

รายงานการวิจัย

การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักของโค และผลต่อผลผลิตโคนม โดยใช้ใบและก้านของมะขามป้อม

(Study of Inhibition of Unwanted Microorganisms in the rumen and Effects on Performance of Lactating Dairy Cows Using Amla Leaves and Branches)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 48 – 36 - 35

รายงานการวิจัย

การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักของโค และผลต่อผลผลิตโคนม โดยใช้ใบและก้านของมะขามป้อม

(Study of Inhibition of Unwanted Microorganisms in the rumen and Effects on Performance of Lactating Dairy Cows Using Amla Leaves and Branches)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548-50

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ธันวาคม 2554

บทคัดย่อ

การศึกษาผลผลิตและคุณค่าทางโภชนะของใบและก้านมะขามป้อม และการใช้ใบและก้านมะขามป้อมเป็นแหล่ง เสริมโปรตีนในอาหารโคนม่ ดำเนินการโดยแบ่งออกเป็น 5 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของอายุการตัดและระดับความสูงที่ตัดสูงจากพื้นดินที่มีต่อผลผลิตและองค์ประกอบทาง เคมีของใบและก้านมะขามป้อม โดยจัดสิ่งทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in Randomized Complete Block มี 4 ซ้ำ 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกประกอบด้วย ช่วงอายุการตัด 3 ระยะคือ 30, 40 และ 50 วัน ปัจจัยที่ 2 ประกอบด้วย ระดับความสูงที่ตัดจากพื้นดิน 3 ระดับ 30 40 และ 50 เซนติเมตร เพื่อหาอายุการตัดและระดับความสูงที่ตัดที่เหมาะสมต่อผลผลิตและคุณค่าทางโภชนะของใบและก้านมะขามป้อม ที่จะนำไปเป็นอาหารโคนม ปรากฏว่าอายุการตัดที่เพิ่มขึ้นมีผลให้เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและเยื่อใยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ขณะที่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์โปรตีน เถ้าและ Nitrogen free extract (NFE) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) และไขมันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในทางตรงกันข้ามการเพิ่มความสูงที่ตัดมีผลทำให้วัตถุแห้ง และเยื่อใยลดลง ซึ่งส่งผลให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนและเถ้าเพิ่มขึ้น และปรากฏว่ามีปฏิกิริยาสัมพันธ์ ระหว่างช่วงอายุการตัดและความสูงที่ตัดต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีนของใบและก้านมะขามป้อม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กล่าวคือ เมื่อช่วงอายุการตัดเพิ่มขึ้นโปรตีนของใบและก้านมะขามป้อม จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยที่ไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างช่วงอายุการตัดและความสูงที่ตัดต่อองค์ประกอบทางเคมีในใบและก้านมะขามป้อม จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การตัดมะขามป้อมทุก 50 วัน ที่ระดับความสูง 40 เซนติเมตร จะได้ผลผลิตของวัตถุแห้งสูงสุด แต่การตัดที่อายุ 30 วัน ความสูง 30 – 50 เซนติเมตรจากพื้นดิน จะได้ใบและก้านมะขามป้อม ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงและเยื่อใยต่ำ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการใช้ใบและก้านมะขามป้อมบดเสริมในอาหารโคนม ต่อจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยใช้โคนมเจาะกระเพาะจำนวน 6 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว แผนการทดลองเป็นแบบ Simple change over design ผลการทดลองพบว่าใบและก้านมะขามป้อมไม่มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์อื่นๆ แต่มีแนวโน้ม ($p = 0.0828$) ทำให้ประชากรโปรโตซัว ลดลง (7.58 vs 6.84 x 10^5 cells/1 g digesta)

การทดลองที่ 3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การประเมินคุณค่าทางพลังงานและการศึกษาการย่อยสลายในกระเพาะหมักของอาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อม พบว่าอาหารทั้ง 2 สูตร คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีองค์ประกอบทางเคมีของ วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใย NDF, ADF, NDIN, ADIN, NDINCP และ ADINCP ใกล้เคียงกัน และจากการใช้ผลวิเคราะห์

องค์ประกอบทางเคมี มาประเมินค่าพลังงาน พบว่าอาหารข้นของกลุ่มการทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดของวัตถุแห้ง และโปรตีน ใกล้เคียงกัน ซึ่งในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าต่ำกว่าเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีส่วนประกอบของเยื่อใยจากใบและก้านมะขามป้อมที่ผสมในอาหารข้น

การทดลองที่ 4 การศึกษาการใช้ใบและก้านของมะขามป้อม ในอาหารโคนม ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตโคนม ต่อการกินได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง และการประมาณค่าโปรตีนและพลังงานของโคนมที่ได้รับจากอาหาร พบว่ากลุ่มควบคุม มีปริมาณการกินได้ของโปรตีนในอาหารข้น และปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารรวม สูงกว่ากลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนปริมาณการกินได้โภชนะอื่นๆ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และจากการประมาณค่าโปรตีนและพลังงานของโคนมที่ได้รับสูตรอาหารทั้ง 2 สูตร จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{sup}) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{sup}) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และกลุ่มการทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ได้รับ (RDP_{sup}) ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งอาจแก้ไขปัญหาได้โดยการเสริมแหล่งโปรตีนในอาหาร เช่น ยูเรีย เพื่อเป็นแหล่งของแอมโมเนียไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ในส่วนของความต้องการโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (RUP_{req}) พบว่าโคนมในกลุ่มควบคุม ได้รับโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก RUP_{sup} ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งอาจแก้ไขปัญหาได้โดยการใช้ by pass protein เพื่อให้สัตว์ได้รับโปรตีนตามที่ต้องการ หรือใช้วัตถุดิบประเภทโปรตีนที่ไม่ย่อยสลาย (degradability) ต่ำ เช่น กากเมล็ดฝ้าย กากถั่วเขียว หรือเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านความร้อน (heat treated soybean) เป็นต้น

ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า การใช้ใบและก้านของมะขามป้อม ในอาหารโคนม ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตโคนม คือไม่สามารถเพิ่มปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมได้

การทดลองที่ 5 ศึกษาการใช้ใบและก้านมะขามป้อมผสมในอาหารสำหรับโคนมต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก และต่อปริมาณโปรโตซัวในกระเพาะหมัก โดยใช้โคนมเจาะกระเพาะจำนวน 4 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ตัว แผนการทดลองเป็นแบบ Simple change over design ผลการทดลองพบว่าการใช้ใบและก้านมะขามป้อมผสมในอาหารโคนมไม่ส่งผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก และไม่ส่งผลต่อละปริมาณของโปรโตซัวในกระเพาะหมัก

Abstract

Five experiments were conducted in order to study on yield and nutritive value of ground amla leaves and branches and utilization of ground amla leaves and branches in dairy cattle diets. The first experiment was laid out in 3 x 3 Factorial arrangements in randomized complete block design with 4 replications in each treatment. Factor A was cutting interval (30, 40 and 50 days) while factor B was cutting height (30, 40 and 50 cm above ground level). The objective of this experiment was to evaluate the effect of cutting interval and cutting height together with interaction of the two factors on yield and nutrient composition of amla leaves and branches. It is found that the dry matter (DM) and crude fiber (CF) contents increased ($p<0.01$) with increasing interval of cutting while the CP, Ash, EE and NFE content decreased ($p<0.01$ except EE $p<0.05$) with increasing cutting intervals. On the other hand, the DM and CF contents decreased with increasing cutting height while the CP and Ash contents increased as cutting height increased. There were interaction effects of age of cutting and cutting height on CP contents of amla leaves and branches ($p<0.05$). However, no interaction between cutting interval and cutting height on yield was found. The results of the experiment indicated that DM at 50 day intervals and at 40 cm cutting height gave the highest yield. At 30 day intervals and at 30-50 cutting height gave the highest CP and the lowest CF.

The objective of the 2nd study was to determine the effect of amla leaves and branches added to dairy concentrate on microbial population in the rumen. Six rumen fistulated non lactating dairy cows were assigned in to 2 groups of 3 cows each. The experimental design was a simple change over design. The results showed that amla leaves and branches had no effect on microbial population in the rumen, however, there was a tendency towards a reduction ($p = 0.0828$) in protozoal count (7.58 vs 6.84 x 10^5 cells/1 g digesta)

The 3rd study conducted to determine chemical composition, energy values and degradability of concentrates used. The results revealed that both concentrates had similar DM, CP, EE, CF NDF, ADF, NDIN, ADIN, NDINCP and ADINCP. Evaluation of energy values found that both concentrates also had similar DM and CP degradabilies with the amla leaves and branches addition had slightly lower values.

The 4th experiment was carried out to investigate the effects of ground amla leaves and branches addition to concentrate for dairy cows on dairy cows' performances. Concentrate, roughage and total DM,

CP and NE_{LP} intakes of the experimental cows were similar. There were no significant differences in milk yield, milk composition and live weight change. It can be concluded in the present study that amla leaves and branches had no effect on parameters measured.

The final experiment was conducted to determine the effects of ground amla leaves and branches addition to concentrate for dairy cows on ruminal fermentation and protozoal population in the rumen. Four rumen fistulated non lactating dairy cows were assigned in to 2 groups of 2 cows each. The experimental design was a simple change over design. The results showed that amla leaves and branches had no effect on ruminal fermentation and on protozoal population.

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ (ไทย)...		ก
บทคัดย่อ ..(อังกฤษ)...		ค
สารบัญ		จ
สารบัญตาราง		ช
บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง………………………..……………………….…….……….	3
บทที่ 3	การปลูกมะขามป้อมเพื่อเก็บผลผลิตใบและก้าน……………………………….…....	7
	3.1 บทนำ…………………………………………………………………….……...	7
	3.2 วัตถุประสงค์……………………………………………………….…….……...	7
	3.3 อุปกรณ์และวิธีการ……………………………………………………...……….	7
	3.4 ผลการทดลอง……………………………………………………..……..………	8
	3.4.1 ผลของอายุการตัดและความสูงในการตัดต่อผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของใบและก้านมะขามป้อม……………………………………...	8
	3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง……………………………………………………………..	10
	3.6 สรุปผลการทดลอง…………………………………………………….…………	12
บทที่ 4	การศึกษาทางจุลินทรีย์วิทยา และทดสอบการใช้ใบและก้านมะขามป้อมต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก……………………………………………………….	13
	4.1 บทนำ…………………………………………………….………………………..	13
	4.2 วัตถุประสงค์…………………………………………….………………….……..	13
	4.3 วิธีดำเนินการทดลอง……………………………………………….……………..	13
	4.4 ผลการทดลอง…………………………………………………………..………….	14
	4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง……………………………………………………...……….	16
	4.6 สรุปผลการทดลอง…………………………………………………………………...	16

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 5	การเตรียมอาหารสัตว์ทดลองและการศึกษาเบื้องต้น……………….…………………	17
	5.1 บทนำ……………………………………………………….…………...	17
	5.2 วัตถุประสงค์…………………………………………………..…………….	17
	5.3 วิธีดำเนินการทดลอง…………………………………………..……..……..	17
	5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง………………………………………….	20
	5.5 สรุปผลการทดลอง……………………………………………………………...	24
บทที่ 6	การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมใบ และก้านมะขามป้อมต่อการให้ผลผลิตของโคนม...	25
	6.1 บทนำ………………………………………………….………………...	25
	6.2 วัตถุประสงค์……………………………………………………..…………..	25
	6.3 วิธีดำเนินการทดลอง…………………………………………….…………...	25
	6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง…………………………….……………	27
	6.5 สรุปผลการทดลอง……………………………………………………………...	35
บทที่ 7	การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมก้านและใบมะขามป้อมต่อชนิดและปริมาณของ จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคนม......................	36
	7.1 บทนำ………………………………………………………………….…...	36
	7.2 วัตถุประสงค์………………………………………………………...…..	36
	7.3 อุปกรณ์และวิธีการ……………………………………………………….……..	36
	7.4 ผลการทดลอง……………………………………………………….……….	40
	7.5 วิจารณ์ผลการทดลอง………………………………………………..……….	45
	7.6 สรุปผลการทดลอง……………………………………………………………...	46
เอกสารอ้างอิง………………………………………………………………………………...		47
ประวัติผู้วิจัย		52

สารบัญตาราง

Table		หน้า
2.1	Bateria responded to monensin and lasalocid……………………………………….	6
3.1	The average nutrient composition of amla leaves and branches……………………	9
3.2	The average nutrient yield of amla leaves and branches (kilogram per rai)………...	10
4.1	Effect of ground amla leaves/branches on rumen micro-organisms and protozoa (x 10^5 cfu/1 g digesta) ………………………………………………………………	14
5.1	Types and amount of raw material used in the experiment………………………..	18
5.2	Chemical composition of concentrate and corn silage…………………………...	21
5.3	Energy values of concentrate and corn silage…………………………………….	22
5.4	Dry matter degradability of concentrate and corn silage…………………………	22
5.5	Protein degradability of concentrate and roughage……………………………….	23
5.6	Dry matter and protein degradability of concentrate and roughage………………..	24
6.1	Data of experimental cows……………………………………………………….	26
6.2	Intakes of experimental cows…………………………………………………….	29
6.3	Milk yield and milk composition yield in response to the treatments………………	30
6.4	Milk composition in response to the treatments………………………………….	31
6.5	Body weight and body weight change……………………………………………	32
6.6	Rumen degradable protein (RDP) and rumen undegradable protein (RUP) supplies by the feeds………………………………………………………………….	34
6.7	Protein supply by the feeds and protein requirement of cows…………………….	34
6.8	Energy requirements and energy supply………………………………………….	35
7.1	Ingredient composition of the diets………………………………………………	42
7.2	Chemical composition of the diets. ……………………………………………...	43
7.3	Effect of amla leaves and branches supplementation on DM and CP intake of rumen fistulated non-lactating dairy cows……………………………………….	43
7.4	Levels of pH in the rumen of dairy cows………………………………………...	44
7.5	Microbes (CFU/g digesta) in the rumen of dairy cows...	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

Table		หน้า
7.6	NH_3-N (mg NH_3-N/litre) in the rumen of dairy cows……………………………….	44
7.7	VFAs (mol/100 ml) in the rumen of dairy cows…………………………………….	44

บทที่ 1
บทนำ

โคนมเป็นสัตว์กระเพาะรวม (Ruminant) ที่สามารถใช้อาหารหยาบได้ดี อาหารจะถูกหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน จนได้ผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการหมัก คือ กรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids; VFAs) ได้แก่ acetic acid, propionic acid และ butyric acid (เมธา, 2533) แต่การใช้อาหารหยาบที่มีคุณภาพต่ำ จะส่งผลต่อการย่อยได้ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง ปัจจุบันได้มีการนำสารเสริม (feed additives) มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต (วิโรจน์, 2546) โดยการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมในกระเพาะหมักโดยเฉพาะชนิดและประชากรของจุลินทรีย์ โดยส่งเสริม จุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ให้เจริญเติบโตดีและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่มีประโยชน์ โดยการปรับเปลี่ยนดังกล่าวนั้นจะสามารถส่งเสริมการย่อยเยื่อใยในอาหารของโคนมให้ดีขึ้นได้ ซึ่งจะทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มขึ้นด้วย โดยพบว่ามะขามป้อมนั้นน่าจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และโปรโตซัวกลุ่มที่ไม่มีประโยชน์ได้

มะขามป้อมมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ ซึ่งปริมาณของสารเหล่านี้มีมากน้อยต่างกันตามส่วนต่างๆของมะขามป้อม กลุ่มสารประกอบเหล่านี้ได้แก่ tannins, flavonoids, benzenoids, quinones, terpenoids coumarins, diterpines, triterpines, alkaloids และ steroids เป็นต้น (Subramanian et al., 1971; Khanna et al., 1982; Hui and Sung, 1968; Ram and Raja, 1978; Khanna and Bansal, 1975) นอกจากนี้การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ดังนี้ สารสกัดด้วยน้ำร้อนจากเปลือกลำต้นของมะขามป้อมในความเข้มข้น 1% สามารถต้านเชื้อรา *Alternaria tennis, Phytium aphanidermatum*, และ *Rhizopus stolonifera* (Gupta and Bilgrami, 1970) ส่วนสารสกัดจากผลด้วย ethanol 95% สามารถต้านเชื้อรา *Trichophyton rubrum* และ *T. mentagrophytes* (Ray and Majumdar, 1976) มีรายว่าสารสกัดเหล่านี้ไม่มีผลต่อ *Aspergillus niger* และ *Pennicillium chrysogenum* (พวงน้อย, 2521) สำหรับยีสต์พบว่ามีฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Ray and Majumdar, 1976) สารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วย ethanol 95% สามารถต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Salmonella typhosa, Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* (Ray, 1976; George and Pandalai, 1979; พวงน้อย, 2521) สารสกัดจากใบด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Aerobacter aerogenes, B. subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens* และ *S. aureus* (Thakara, 1980) สารสกัดจากลำต้นด้วย methanol และน้ำ (1:1) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Proteus vulgaris* และ *E. coli* (Nakanishi et al., 1965) นอกจากนี้สารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วย ethanol และน้ำ (1:1) ใน

ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านไวรัสพวก *Vaccinia* และ *Ranikhet virus* (Dhar et al., 1968) Jain and Puri (1984) พบว่ามะขามป้อมมีคุณสมบัติในการรักษาโรคในโคได้

นอกจากนี้ Preston and Leng (1987) กล่าวว่าการใช้ก้านและใบมะขามป้อมเป็นส่วนประกอบในอาหารโคนมสามารถยับยั้งการทำงานของโปรโตซัวได้ การกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และเป็นผลให้ผลผลิตสัตว์เพิ่มขึ้น ในปัจจุบันได้มีการนำสารปฏิชีวนะประเภท probiotics และ ionophores ซึ่งได้จากกระบวนการหมัก (fermentation processes) ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มาใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อการเพิ่มผลผลิต อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานของสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่คือการยับยั้ง (inhibit) หรือต้านการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก แต่จะไม่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในกระเพาะหมัก (Schelling, 1984; Spears, 1990) ประกอบกับยังไม่เคยมีการวิจัยถึงผลของการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมต่อผลผลิตโคนม นอกจากนี้ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีจำนวนประมาณกว่า 7,000 ไร่ และพื้นที่ข้างเคียงมีต้นมะขามป้อมขึ้นอยู่มากมาย อีกทั้งในเขตพื้นที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ก็มีต้นมะขามป้อมขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น ซึ่งจะมีปริมาณเพียงพอที่จะทำการศึกษาวิจัย งานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของ การใช้ใบและก้านมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก และ ต่อผลผลิตโคนม

บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเลี้ยงโคนมในประเทศไทยได้ดำเนินการมากว่า 35 ปี แต่การพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมกลับเป็นไปอย่างล่าช้า ปัจจุบันโดยเฉลี่ยทั้งประเทศ พบว่าปริมาณการให้น้ำนมของโคนมยังต่ำอยู่ กล่าวคือให้น้ำนมเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเพียง 9 กิโลกรัมเท่านั้น ซึ่งปริมาณการให้น้ำนมระดับนี้ไม่ได้แตกต่างจากเมื่อ 20 ปีก่อน การพัฒนาการเลี้ยงโคนมที่ผ่านมาเน้นการพัฒนาในเชิงปริมาณ (quantitative development) มากกว่าการพัฒนาในเชิงคุณภาพ (qualitative development) อย่างไรก็ตาม เป็นที่ยอมรับว่าพันธุกรรมของโคนมในประเทศไทยน่าจะมีศักยภาพเพียงพอในการให้น้ำนมเฉลี่ยวันละ 15 กิโลกรัมต่อตัว จากการศึกษาพบว่าปัญหาที่เกิดขึ้นมาจากหลายสาเหตุ เช่น การสุขาภิบาลยังไม่ดีพอ การขาดแคลนอาหารโดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้ง รวมไปถึงการพัฒนาการใช้สารเสริมต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของโคนมเป็นต้น การนำใช้ประโยชน์เทคโนโลยีแนวใหม่ อาทิ การใช้ probiotics เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องในต่างประเทศ เช่น การใช้สารเสริมโมเนนซิน (monensin) ซึ่งประเทศไทยได้เริ่มรับเอาเทคโนโลยีนี้มาใช้ด้วย (Suksombat and Sra-ngarm, 1998) อย่างไรก็ตาม ในแง่ของวัตถุดิบที่สามารถนำมาปรับปรุงเพื่อใช้ประโยชน์ในลักษณะเดียวกับการใช้ probiotics นั้น ในประเทศไทยยังมีอยู่มากที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาอย่างจริงจัง เช่นพืชสมุนไพรต่างๆ มะขามป้อมเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีปริมาณมาก และการศึกษาทางเภสัชวิทยา พบว่าสารสกัดหลายชนิดจากส่วนต่างๆของมะขามป้อมสามารถนำมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคนมได้

มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) จัดเป็นพันธุ์ไม้ในวงศ์ *Euphorbiaceae* มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษคือ Malacea tree หรือ Amla tree มีชื่ออื่นๆในภาษาไทยคือ กันโตด (เขมร-กาญจนบุรี) กำทวด (ราชบุรี) มะขามป้อม (ทั่วไป) มั่งลู่, สันยาส่า (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เป็นไม้ดั้งเดิมแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ขึ้นได้ดีในดินที่มีการระบายน้ำดีในป่าเบญจพรรณแล้ง หรือป่าแดงทั่วๆไป มะขามป้อมเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีความสูงประมาณ 8-12 เมตร ใบเป็นใบรวม มีใบย่อยออกเรียงกันเป็น 2 แถว คล้ายขนนก ลักษณะของใบย่อยเป็นใบขนาดเล็กยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ปลายใบแหลมยาวรี มีสีเขียวแก่ ดอกออกเป็นช่อ หรือเป็นกระจุกเล็กๆ ลักษณะของดอกเป็นดอกขนาดเล็ก ดอกหนึ่งมีกลีบดอกประมาณ 5-6 กลีบ กลางดอกมีเกสรตัวผู้สั้นๆ 3-5 อัน ดอกมีสีเหลืองๆเขียวๆ ก้านดอกสั้น ผลมีลักษณะกลมเกลี้ยง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร มีรอยแยกแบ่งออกเป็น 6 ซีก เนื้อในผลสีเหลืองออกน้ำตาลเมื่อผลแก่ ผลอ่อนมีสีเขียวออกเหลือง ข้างในเนื้อผลมีเมล็ดสีน้ำตาล การขยายพันธุ์ทำได้โดยการตอนกิ่ง หรือเพาะเมล็ด (วิทย์, 2531)

การศึกษาทางเภสัชวิทยายังพบว่ามะขามป้อมมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ ซึ่งปริมาณของสารเหล่านี้มีมากน้อยต่างกันตามส่วนต่างๆของมะขามป้อม กลุ่มสารประกอบเหล่านี้ ได้แก่ tannins, flavonoids, benzenoids, quinones, terpenoids coumarins, diterpines, triterpines, alkaloids และ steroids เป็นต้น (Subramanian et al., 1971; Khanna et al., 1982; Hui and Sung, 1968; Ram and Raja, 1978; Khanna and Bansal, 1975) นอกจากนี้การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ดังนี้ สารสกัดด้วยน้ำร้อนจากเปลือกลำต้นของมะขามป้อมในความเข้มข้น 1% สามารถต้านเชื้อรา *Alternaria tennis, Phytium aphanidermatum*, และ *Rhizopus stolonifera* (Gupta and Bilgrami, 1970) ส่วนสารสกัดจากผลด้วย ethanol 95% สามารถต้านเชื้อรา *Trichophyton rubrum* และ *T. mentagrophytes* (Ray and Majumdar, 1976) อย่างไรก็ตามมีรายว่าสารสกัดเหล่านี้ไม่มีผลต่อ *Aspergillus niger* และ *Pennicillium chrysogenum* (พวงน้อย, 2521) สำหรับยีสต์พบว่ามีฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Ray and Majumdar, 1976) สารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วย ethanol 95% สามารถต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Salmonella typhosa, Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* (Ray and Majumdar, 1976; George and Pandalai, 1979; พวงน้อย, 2521) สารสกัดจากใบด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Aerobacter aerogenes, B. subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens* และ *S. aureus* (Thakara, 1980) สารสกัดจากลำต้นด้วย methanol และน้ำ (1:1) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Proteus vulgaris* และ *E. coli* (Nakanishi et al., 1965) นอกจากนี้สารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วย ethanol และน้ำ (1:1) ในความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านไวรัสพวก *Vaccinia* และ *Ranikhet virus* (Dhar et al., 1968)

ในปัจจุบันได้มีการนำ probiotics และ ionophores ซึ่งได้จากกระบวนการหมัก (fermentation processes) ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มาใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อการเพิ่มผลผลิต อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานของสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่คือการยับยั้งหรือต้านการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก แต่จะไม่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในกระเพาะหมัก (Schelling, 1984; Spears, 1990) ตัวอย่างสารปฏิชีวนะที่นำมาทดลองใช้ในโคเนื้อและโคนมได้แก่ monensin, lasalocid, salinomycin และ lysocellin เป็นต้น สารปฏิชีวนะเหล่านี้สามารถเพิ่มผลผลิตสัตว์โดยการปรับเปลี่ยนชนิดของจุลินทรีย์ เป็นผลให้เพิ่มการย่อยและการดูดซึมสารอาหาร (nutrients) และเพิ่มผลผลิตสัตว์ในที่สุด (Spears, 1990) Jain and Puri (1984) พบว่ามะขามป้อมมีคุณสมบัติในการรักษาโรคในโคได้ นอกจากนี้ Preston and Leng (1987) ยังได้ชี้แนะว่าการใช้ก้านและใบมะขามป้อมเป็นส่วนประกอบในอาหารโคนมสามารถยับยั้งการทำงานของโปรโตซัวได้ การกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และเป็นผลให้ผลผลิตสัตว์เพิ่มขึ้น

มะขามป้อมเป็นที่รู้จักกันดีในแถบเอเชีย ทั้งในประเทศไทย จีน อินเดีย เนปาล มาเลเซีย ศรีลังกา บังคลาเทศ และญี่ปุ่น มีการนำส่วนต่างๆของมะขามป้อมมาใช้เป็นยาพื้นบ้านรักษาโรคต่างๆ ทั้งส่วนของใบ ก้าน ลำต้น เปลือกลำต้น ราก และผล อาทิ ใบใช้ใบสดนำมาต้มกินน้ำเป็นยาแก้ตัวบวมน้ำ หรือใช้ใบสดตำละเอียดใช้พอก หรือทา บริเวณที่เป็นแผลผื่นคัน มีน้ำหนอง น้ำเหลือง ผิวหนังอักเสบ ปมที่ก้านนำมาต้มกินน้ำเป็นยาแก้ปวดเมื่อยกระดูก ปวดท้องน้อย ปวดกระเพาะอาหาร แก้ซางตานขโมยในเด็กและแก้ไอ หรือใช้ต้มเอาน้ำอมบ้วนปากแก้ปวดฟัน เปลือกลำต้นที่แห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียดใช้โรยแก้บาดแผลเลือดออก แผลฟกช้ำ หรือนำมาต้มกินน้ำเป็นยาแก้โรคบิด ผลสดมีรสเปรี้ยวและฝาด นำมากินเป็นยาบำรุง ทำให้สดชื่น แก้กระหายน้ำ แก้ไอ แก้หวัด กระตุ้นน้ำลาย ละลายเสมหะ ช่วยระบาย ขับปัสสาวะ แก้เลือดออกตามไรฟัน แก้โรคคอตีบ คอแห้ง ผลสดนำมาหมักเป็นไวน์ผลไม้ ใช้ดื่มเป็นยาแก้โรคดีซ่าน แก้ไข้ สอึก อาเจียน ช่วยย่อยอาหาร และทำให้สดชื่น หรือใช้ผลมาตำให้ละเอียดคั้นเอาน้ำมาผสมกับน้ำมะนาวกินเป็นยาแก้โรคบิดแบคทีเรีย หรือใช้ผลสดนำมาบดผสมกับน้ำผึ้ง กินเป็นยาถ่ายพยาธิ ผลแห้งนำมาบดละเอียดชงกับน้ำร้อนกินเป็นยาแก้โรคหนองในแก้ตกเลือด ท้องเสีย โรคบิด บำรุงธาตุ และใช้ล้างตาแก้เยื่อบุตาอักเสบ ตาแดง เมล็ดใช้เมล็ดสดหรือแห้งนำมาบดละเอียดชงกับน้ำร้อน กินเป็นยาแก้ไข้ แก้โรคตาต่างๆ แก้โรคเกี่ยวกับน้ำดี คลื่นไส้ อาเจียน โรคเบาหวาน หอบหืด และโรคหลอดลมอักเสบ รากใช้รากแห้งนำมาต้มกินน้ำเป็นยาแก้ร้อนใน แก้โรคเรื้อน แก้ความดันโลหิตสูง และแก้ท้องเสีย นอกจากนี้ในผลยัง มี วิตามินซี สูงมาก (วิทย์, 2531)

ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของแบคทีเรียในกระเพาะหมักที่ตอบสนองต่อ monensin หรือ lasalocid เมื่อเติมลงไปในอาหาร แบคทีเรียชนิดแกรมบวก ส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งการเจริญและกิจกรรมในเมแทบอลิซึม หรืออีกนัยหนึ่งถูกลดจำนวนลงเมื่อทำการเสริมสารปฏิชีวนะลงไปในอาหารสัตว์ ในขณะที่แบคทีเรียชนิดแกรมลบจะไม่ถูกยับยั้งจากการเสริมสารปฏิชีวนะ (Henderson et al. 1981) แบคทีเรียชนิดแกรมลบส่วนใหญ่จะให้ผลผลิตจากการหมักย่อยเป็น propionate ซึ่งเป็นสารตั้งต้น (precursors) ในการสังเคราะห์ glucose ในกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายสัตว์ ทำให้สัตว์สามารถนำ glucose ที่สังเคราะห์ได้ไปเสริมสร้างผลผลิตต่อไป ในขณะที่แบคทีเรียชนิดแกรมบวกส่วนใหญ่จะให้ผลผลิตจากการหมักย่อยเป็น acetate, butyrate, methane และ ammonia ซึ่งมีประโยชน์น้อยเมื่อเทียบกับ propionate และยังมีสาเหตุของการเกิดแก๊สในกระเพาะหมักด้วย (Poos et al., 1979; Hayes et al., 1996)

การศึกษาถึงคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์จากมะขามป้อมในการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีน้อยมากหรือเกือบไม่มีเลย การศึกษาส่วนใหญ่เน้นถึงการยับยั้งจุลินทรีย์ในแง่การใช้เป็นยารักษาในคน ประกอบกับยังไม่เคยมีการวิจัยถึงผลของการใช้ส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมต่อผลผลิต โคนม นอกจากนี้ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีจำนวนประมาณกว่า 7,000 ไร่ และพื้นที่ข้างเคียงมีต้นมะขามป้อมขึ้นอยู่มากมาย อีกทั้งในเขตพื้นที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ก็มีต้นมะขาม

ป้อมขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น ซึ่งจะมีปริมาณเพียงพอที่จะทำการศึกษาวิจัย งานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลการใช้ใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม ต่อประสิทธิภาพในการผลิตน้ำนม

Table 2.1 Bateria responded to monensin and lasalocid

Sensitive bacteria	Gram type	Product of fermentation
Butyrivibrio fibrisolvens	+	Acetate, butyrate
Enbacterium cellusolvens	+	Butyrate
Ruminococcus albus	+	Acetate, formate
Lactobacillus ruminis	+	Acetate
Streptococcus bovis	+	Lactate
Methanobacterium formicum	+	Methane
Clostridium aminophilum	+	Ammonia
Peptostreptococcus anaerobus	+	Ammonia
Clostridium sticklandii	+	Ammonia
Lachnospira multiparus	+	Hydrogen
Insensitive bacteria	Gram type	Product of fermentation
Anaerobvibrio liplytica	-	Propionate
Megasphaera elsdenii	-	Propionate
Prevotella minicola	-	Propionate
Ruminobacter amyllophillus	-	Propionate
Selenomonas ruminantium	-	Propionate
Fibrobacter succinogenes	-	Succinate

Spike (1996)

บทที่ 3
การปลูกมะขามป้อมเพื่อเก็บผลผลิตใบและก้าน

3.1 บทนำ

มะขามป้อมเหมาะที่จะเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขต tropics และ subtropics มะขามป้อมให้ผลผลิตใบและก้านพอสมควร มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง สามารถเจริญเติบโตได้ดีเพียงมีความชื้นเล็กน้อย มะขามป้อมยังประกอบด้วยโภชนะต่างๆ ที่จำเป็นต่อสัตว์และมีสารประกอบที่มีอยู่ในใบและก้านมะขามป้อมมากมายหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักของโค อย่างไรก็ตามคุณค่าทางโภชนะและสารประกอบที่มีอยู่ในใบและก้านมะขามป้อมมีผลกระทบมาจากอายุและความสูงในการตัด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทราบผลของอายุและความสูงในการตัดต่อผลผลิตและคุณค่าทางโภชนะของใบและก้านมะขามป้อม

3.2 วัตถุประสงค์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของอายุและความสูงในการเก็บเกี่ยว รวมทั้งปฏิกิริยาสัมพันธ์ของทั้งสองปัจจัยต่อผลผลิต คุณค่าทางโภชนะและสารประกอบที่มีอยู่ในใบและก้านมะขามป้อม

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองได้ดำเนินการที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยใช้มะขามป้อม (amla tree (*Phyllanthus emblica* Linn.) การทดลองเป็นแบบ 3 x 3 แฟคทอเรียล (Factorial arrangement in randomized complete block design) ประกอบด้วย 9 กลุ่มการทดลอง คือปัจจัยความสูงของการตัด (cutting height) ที่ 30, 40 และ 50 เซนติเมตรเหนือระดับพื้นดิน และปัจจัยอายุการตัด (age of cutting หรือ cutting intervals) คือ 30, 40 และ 50 วัน ในแต่ละกลุ่มการทดลองประกอบด้วน 4 replications

ทำการเตรียมดินโดยการไถดะ และไถแปร ตามด้วยพรวนอีก 1 ครั้ง เพื่อให้ดินละเอียดเหมาะสำหรับการปลูกพืช หลังจากนั้นทำการปักแปลงทดลองเป็น plot ขนาด 9 ตารางเมตร (3 x 3 เมตร) รวมทั้งสิ้น 36 plots ระยะห่างระหว่าง plot เท่ากับ 1 เมตร ภายในแต่ละ plot ทำเป็นแถวได้ 6 แถว แต่ละแถวมีระยะห่าง 50 เซนติเมตร แปลงย่อยทุกแปลงได้รับปุ๋ยรองพื้น N:P:K = 15:15:15 ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่

การปลูกใช้ต้นกล้าที่เพาะในถุงอายุประมาณ 2 เดือน (สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช) หลังการปลูกให้น้ำด้วย sprinkler system และให้ทุกๆสัปดาห์หลังจากปลูกแล้ว 120 วัน ทำการตัดที่ระดับ 20 เซนติเมตรจากพื้นดิน หลังจากนั้นปล่อยให้มะขามป้อมเจริญเติบโตแตกกิ่งก้านและใบ ทำการตัดวันที่ 30, 40 และ 50 ที่ระดับ 30, 40 และ 50 เซนติเมตร เพื่อทำการวัดผลผลิต

ในขณะที่ทำการตัดเพื่อวัดผลผลิต ทำการชั่งน้ำหนักสด และสุ่มตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีวิเคราะห์แบบประมาณ (AOAC, 1990) และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบต่างๆ ด้วย Gas chromatography

นำข้อมูลที่บันทึกไว้มาวิเคราะห์วาเรียนซ์ด้วยโปรแกรม SAS (1985).เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับ 5% significance

3.4 ผลการทดลอง

3.4.1 ผลของอายุการตัดและความสูงในการตัดต่อผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของใบและก้านมะขามป้อม (Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of amla leaves and branches)

ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของใบและก้านมะขามป้อมแสดงไว้ในตารางที่ 3.1 อายุการตัดมีผลต่อเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีน (crude protein, CP) เยื่อใย (crude fiber, CF) ไขมัน (ether extract, EE) เถ้า (ash) และ nitrogen free extract (NFE) ของใบและก้านมะขามป้อม เปอร์เซ็นต์ DM และ CF เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ตามอายุการตัดที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ CP, Ash, EE และ NFE ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$; ยกเว้น EE $p<0.05$) ตามอายุการตัดที่เพิ่มขึ้น ความสูงในการตัดมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของใบและก้านมะขามป้อมเช่นเดียวกัน กล่าวคือเปอร์เซ็นต์ DM และ CF ลดลงเมื่อความสูงในการตัดเพิ่มขึ้น ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ CP และ ash ลดลงเมื่อความสูงในการตัด นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยาร่วมระหว่างอายุการตัดและความสูงในการตัดต่อเปอร์เซ็นต์ CP ในใบและก้านมะขามป้อม กล่าวคือ เปอร์เซ็นต์ CP ลดลงเมื่ออายุการตัดเพิ่มขึ้น ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ CP เพิ่มขึ้นเมื่ออายุความสูงในการตัดเพิ่มขึ้น

Table 3.1 The average nutrient composition of amla leaves and branches

AGE	HEIGHT	%DM	%CP	%CF	%EE	%ASH	%NFE
30 D	30 CM	33.8	15.6[a]	21.9	2.9	8.3	48.2
	40 CM	33.6	15.6[a]	20.9	3.0	8.5	49.1
	50 CM	33.2	16.0[a]	19.1	2.8	8.1	50.9
40 D	30 CM	34.6	12.8[c]	28.3	2.7	7.2	46.1
	40 CM	32.5	14.2[b]	24.4	2.8	7.7	47.5
	50 CM	31.9	14.2[b]	25	2.9	7.5	47.5
50 D	30 CM	37.4	11.4[d]	30.6	2.8	7	45.5
	40 CM	35.3	11.4[d]	29.5	2.6	7.5	45.6
	50 CM	35.6	12.5[c]	29.3	2.7	7.6	44.9
SEM		0.61	0.39	0.98	0.07	0.16	0.88
% CV		3.61	4.13	8.12	5.18	4.27	3.30
……………………………………………P-value…………………………………………							
BLOCK		0.0053	0.8231	0.3737	0.0004	0.0036	0.4622
AGE		0.0001	0.0001	0.0001	0.0309	0.0001	0.0001
HEIGHT		0.0032	0.0085	0.0112	0.3522	0.0099	0.2234
AGE*HEIGHT		0.2933	0.0497	0.4398	0.0554	0.1635	0.3658

[a, b, c, d] means with different superscript within column differed significantly.

ตารางที่ 3.2 แสดงให้เห็นว่าผลผลิตเฉลี่ย DM, CP, CF, EE, NFE และ Ash เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ตามอายุการตัดที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามผลผลิตดังกล่าวจะสูงที่สุดที่อายุการตัด 50 วัน และที่ความสูงของการตัดที่ 40 เซนติเมตร ในขณะที่ผลผลิตต่ำสุดที่อายุการตัด 30 วัน และความสูงของการตัดที่ 50 เซนติเมตร ความสูงของการตัดไม่มีผลต่อผลผลิตต่างๆ และไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างอายุการตัดและความสูงของการตัดต่อผลผลิต

Table 3.2 The average nutrient yield of amla leaves and branches (kilogram per rai)

AGE	HEIGHT	DM	CP	CF	EE	ASH	NFE
30 D	**30 CM**	262.8	38.6	54.4	7.1	20.4	119.1
	40 CM	254.2	36.3	53.4	7.0	20.3	115.6
	50 CM	234.2	34.9	45.8	6.3	17.7	109.5
40 D	**30 CM**	433.4	51.3	119.2	10.5	28.5	187.2
	40 CM	419.4	56.8	99.0	10.6	29.5	186.3
	50 CM	410.5	52.5	100.3	10.8	27.3	182.8
50 D	**30 CM**	511.1	54.2	148.4	13.7	33.4	220.7
	40 CM	593.1	63.2	169.7	14.5	40.3	254.2
	50 CM	482.1	54.6	137.3	12.3	33.1	203.7
SEM		35.74	5.22	12.36	1.17	2.42	16.47
% CV		18.97	17.27	25.96	21.89	19.71	17.69
…………………………………………..P-value………………………………………….							
BLOCK		0.0093	0.0067	0.0253	0.0172	0.0115	0.0068
AGE		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
HEIGHT		0.3312	0.3115	0.3836	0.6732	0.1994	0.2998
AGE*HEIGHT		0.6037	0.7235	0.5659	0.4628	0.7109	0.5297

3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองปัจจุบันพบว่าเปอร์เซ็นต์ DM และ CF เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการตัดเพิ่มขึ้น ในขณะที่เปอร์เซ็นต์องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ลดลงเมื่ออายุการตัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาถึงอิทธิพลของอายุการตัดและความสูงของการตัดต่อองค์ประกอบทางเคมีของมะขามป้อมนั้นไม่มีเลย โดยทั่วไปแล้วการยืดอายุของการตัดพืชใดๆ มักพบว่าเปอร์เซ็นต์ DM และ CF เพิ่มขึ้น ในขณะที่องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการสะสมเยื่อใยในพืชเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในส่วนของลำต้น พร้อมๆ กับการเกิดการสะสมลิกนิน (lignification) ในพืชด้วย (Cheeke, 1999)

ในการทดลองนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์ CP, EE และ NFE ลดลงเมื่ออายุการตัดเพิ่มขึ้น Skerman et al, (1988) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์ CP เท่ากับ 15.52, 12.27 และ10.55% เมื่อพืชถูกตัดที่อายุ 61, 91 และ 120 วัน ตามลำดับ การทดลองปัจจุบันพบผลเช่นเดียวกัน กล่าวคือ เปอร์เซ็นต์ CP เท่ากับ 15.73, 13.73 และ 11.77% เมื่อตัดมะขามป้อมที่อายุ 30, 40 และ 50 วัน ตามลำดับ

ความสูงของการตัดมีอิทธิพลต่อองค์ประกอบทางเคมีของมะขามป้อมเช่นเดียวกัน เปอร์เซ็นต์ DM และ CF ลดลงเมื่อความสูงในการตัดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากส่วนบนของพืชประกอบด้วยส่วนของลำต้นและกิ่งก้านน้อยกว่าส่วนล่าง ฉะนั้นเมื่อความสูงในการตัดเพิ่มขึ้นจะพบเปอร์เซ็นต์ CF ลดลง

ผลผลิตของ DM, CP, CF, EE และ NFE ในการทดลองครั้งนี้พบว่าเพิ่มขึ้นเมื่ออายุการตัดเพิ่มขึ้น ตรงกันข้ามกับการทดลองของ Punyavirocha et al. (1992a) ที่พบว่าอายุการตัดไม่มีผลต่อผลผลิต DM และ CP กล่าวคือผลผลิตของ DM และ CP ที่ได้จากการตัดที่อายุ 30, 40 และ 60 วัน เท่ากับ 235, 45; 364, 66 และ 422, 71 kg/rai ตามลำดับ

Battad (1993) รายงานว่าผลผลิตวัตถุแห้งและผลผลิตโปรตีนที่เหมาะสมสามารถได้จากการตัดที่ความสูง 50 เซนติเมตรและตัดทุกๆ 35-45 วันในช่วงฤดูฝน และทุกๆ 45-60 วันในช่วงฤดูแล้ง งานวิจัยครั้งนี้พบว่าการตัดทุกๆ 50 วันและที่ความสูง 40 เซนติเมตรจะให้ผลผลิตสูงที่สุด ฉะนั้นจึงแนะนำให้ตัดที่ความสูงระหว่าง 40-50 เซนติเมตรและตัดทุกๆ 50 วัน

การวางแผนการทดลองในการวิจัยครั้งนี้เป็นแบบ 3 x 3 factorial arrangement เมื่อสรุปผลการทดลอง อาจเป็นไปได้ว่าปัจจัยทั้งสองที่กำหนดรวมทั้งปฏิกิริยาสัมพันธ์ อาจทำให้การแปลผลไม่ชัดเจน ฉะนั้นจึงลองทำการแยกวิเคราะห์สถิติทีละปัจจัย ได้แก่ ผลของอายุการตัด หรือ ผลของความสูงในการตัดต่อ parameters ที่ต้องการศึกษา ผลการทดลองพบว่าการตัดที่อายุ 50 วันนั้นจะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ DM และ CF สูงที่สุด แต่จะมีเปอร์เซ็นต์ CP, EE และ NFE ต่ำที่สุด ในขณะที่ถ้าตัดที่อายุ 30 วัน จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CP, EE และ NFE สูงที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์ CF ต่ำที่สุด การตัดที่อายุ 40 และ 50 วัน จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ DM, CP และ CF เท่ากัน แต่จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CP สูงกว่า แต่เปอร์เซ็นต์ CF ต่ำกว่าการตัดที่อายุ 30 วัน

ก่อนที่จะสรุปผลว่าอายุในการตัดกับระดับความสูงในการตัดที่เหมาะสมนั้นควรเป็นเท่าไร ถ้าพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์และผลผลิตของ CP ควรเลือกอายุการตัดที่ 30 วัน และตัดที่ระดับความสูง 30 เซนติเมตร ทั้งนี้เพราะที่อายุการตัดและระดับความสูงในการตัดนี้จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CP ไม่แตกต่างจากกับการตัดที่ระดับความสูง 40 และ 50 เซนติเมตร แต่จะให้ผลผลิต CP สูงที่สุด แต่ถ้าพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ CF และการใช้ประโยชน์มะขามป้อมเป็นอาหารโค การตัดที่อายุ 30 วันจะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CF ต่ำที่สุด โดยไม่คำนึงว่าจะตัดที่ความสูงเท่าไร อย่างไรก็ตามการเพิ่มความสูงในการตัดมีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์ CF ลดลง และการตัดที่ความสูง 50 เซนติเมตรจะได้มะขามป้อมที่มีค่าตัวเลขเปอร์เซ็นต์ CF ต่ำที่สุด

การตัดที่อายุ 30 วัน และที่ความสูง 50 เซนติเมตร จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CP ที่สูง ในทางตรงกันข้ามจะทำให้ผลผลิต DM และ CP ลดลง

3.6 สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้ชี้ให้เห็นชัดเจนว่าอายุการตัดที่ 30 วัน และที่ความสูง 30 -50 เซนติเมตรจะให้ผลผลิตและองค์ประกอบโภชนะที่เหมาะสมที่สุด กล่าวคือ จะได้มะขามป้อมที่มีเปอร์เซ็นต์ CP สูงที่สุด ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ CF ต่ำที่สุด

บทที่ 4
การศึกษาทางจุลินทรีย์วิทยา และทดสอบการใช้ใบและก้านมะขามป้อม ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

4.1 บทนำ

มะขามป้อมมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ ซึ่งปริมาณของสารเหล่านี้มีมากน้อยต่างกันตามส่วนต่างๆของมะขามป้อม การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส และยังพบว่าสารสกัดหลายชนิดจากส่วนต่างๆของมะขามป้อม สามารถนำมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคนมได้ การนำใบและก้านของมะขามป้อมมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก อาจทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เพิ่มจำนวนขึ้น ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตโคนม จึงมีความสนใจนำใบและก้านของมะขามป้อมมาทดลองศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคนม

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลการใช้ใบและก้านมะขามป้อมต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

4.3 วิธีดำเนินการทดลอง

4.3.1 เตรียมวัตถุดิบโดยการเก็บเกี่ยวใบ และก้านของมะขามป้อม

นำใบและก้านมะขามป้อมมาหั่นให้มีชิ้นขนาดเล็ก (ประมาณ 2 นิ้ว) ทำการตากแห้ง (sun dried) และทำการบดผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร

4.3.2 สัตว์ทดลองและการจัดการ

ใช้โคลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนเจาะกระเพาะ จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 457 $\pm$ 4 กิโลกรัม แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 3 ตัว คือ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม โคทุกตัวจะถูกเลี้ยงในคอก โดยแยกคอกละ 1 ตัว

4.3.3 อาหารและการให้อาหาร

โคเจาะกระเพาะแต่ละตัวจะถูกเลี้ยงในคอกขังเดี่ยวและมีระยะเวลาการปรับตัวให้คุ้นเคยกับอาหารใหม่เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยโคทุกตัวจะได้รับอาหารข้นที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน 16% ตัวละ 3 กิโลกรัมต่อวัน แบ่งให้เป็น 2 มื้อเท่าๆ กัน (07.00 น. และ 16.00 น.) และได้รับฟางข้าวและน้ำสะอาดอย่างเต็มที่ สำหรับโคในกลุ่มทดลองนั้นจะได้รับใบและก้านมะขามป้อมบดวันละ 0.64 กิโลกรัมต่อตัว แบ่งให้เป็น 2 มื้อเท่าๆ กัน

4.3.4 การเก็บตัวอย่างและการศึกษาทางจุลินทรีย์วิทยา

4.3.4.1 จุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

หลังจากที่โคเจาะกระเพาะได้ปรับตัวให้คุ้นเคยกับอาหารตามกลุ่มทดลองแล้วเป็นระยะเวลา 7 วัน (ระยะปรับตัว) ให้โคเจาะกระเพาะได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 10 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างอาหารที่กำลังหมักย่อยในกระเพาะหมัก ในวันที่ 11 ของระยะทดลอง และเก็บตัวอย่างในเวลา 3 ชั่วโมงหลังการให้อาหารมื้อเช้า สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารในกระเพาะหมักจากตำแหน่งต่างๆ ประมาณ 75 กรัม ต่อตัว บรรจุลงถุงพลาสติก รัดด้วยยางให้มิดชิด นำถุงตัวอย่างใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งบรรจุอยู่ รีบนำไปยังห้องปฏิบัติการทันที

4.3.4.1 โปรโตซัวในกระเพาะหมัก

ทำการเก็บตัวอย่าง ในวันและเวลาเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาจำนวนจุลินทรีย์อื่นๆ แต่เป็นการเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักจากตำแหน่งต่างๆ ในกระเพาะหมัก ปริมาณ 1 มิลลิลิตร นำบรรจุลงในหลอดเก็บตัวอย่างขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี normal saline และformaldehyde solution (10% v/v) ใน 0.85% (w/v) sodium chloride ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของโปรโตซัว แล้วนำไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจนับเซลล์โปรโตซัวต่อไป

4.3.5 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์และการตรวจนับ

4.3.5.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

ดำเนินการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ Potato dextrose agar (PDA), Mitis salivarius agar (MSA), Shahidi Ferguson Perfringens agar (SFP agar) และ de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS agar) โดยชั่งผงอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตรที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่ต้มกำลังเดือด คนเป็นระยะ เพื่อให้ผงอาหารเพาะเลี้ยงละลาย เมื่อละลายดีแล้ว นำไปบรรจุในขวดแก้วทนความร้อน แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดัน ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ยกเว้น MRS agar ที่ไม่ต้องนำไปนึ่ง) หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้อุ่น (ไม่ควรทิ้งไว้จนเย็นเกินไป เพราะจะทำให้อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แข็งตัว) นำไปเทใน Petri dish ชนิดอาหารเพาะเลี้ยงละ 12 อัน รวมทั้งสิ้น 48 อัน

4.3.5.2 การเตรียมอาหารจากกระเพาะหมัก (rumen digesta)

ชั่ง rumen digesta น้ำหนัก 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 25 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปิเปตของเหลวในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ของเหลวในหลอดทดลองรวม 10 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกันนี้เพื่อเจือจางของเหลวในหลอดทดลอง จนได้ความเข้มข้น 10^{-3} เท่า

4.3.5.3 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์และการตรวจนับ

ปิเปตของเหลวที่ได้จาก rumen digesta ที่ผ่านการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 10^{-3} เท่า ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ใส่ลงใน petri dish ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ เกลี่ยให้ทั่ว petri dish บรรจุ petri dish ลงในถุงพลาสติก ใส่แผ่น anaeropack 1 แผ่น ลงในถุงพลาสติก เพื่อดูดออกซิเจนภายในถุง ทำให้ภายในถุงพลาสติกมีสภาพไร้ออกซิเจน นำไปบ่มในตู้ปรับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำมาตรวจนับโคโลนีจุลินทรีย์ บันทึกผล

4.3.6 การเตรียมตัวอย่างและการตรวจนับโปรโตซัว

นำของเหลวจากกระเพาะหมักที่ผสมอยู่กับสารละลาย มาตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยวิธีการ hematocrip คือ หยดของเหลวลงบนเครื่อง Hemacytometer จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 40 เท่า ตรวจนับและบันทึกผล

4.3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่บันทึกได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี t-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1996)

4.4 ผลการทดลอง

ผลการทดลองเสริมใบและก้านมะขามป้อมบดให้กับโคนมเจาะกระเพาะต่อชนิดและประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 ใบและก้านมะขามป้อมบดไม่มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ ทั้ง *Lactobacilli sp. Clostridium sp. Streptococus sp. Aspergillus sp.* และโปรโตซัว อย่างไรก็ตาม มีแนวโน้ม ($p = 0.0828$) ทำให้ประชากรโปรโตซัว ลดลง (7.58 vs 6.84 x 10^5 /1 g digesta)

Table 4.1 Effect of ground amla leaves/branches on rumen micro-organisms (x 10^5 cfu/g digesta) and protozoa (x 10^5/g digesta)

Type of micro-organism	Control	Amla	SEM	%CV	p - value
Lactobacilli sp.	1.97	5.32	3.14	105.9	0.6683
Clostridium sp.	13.60	16.00	5.28	43.4	0.3508
Streptococus sp.	3.20	2.15	1.53	70.0	0.5253
Aspergillus sp.	3.87	9.49	4.31	79.1	0.2625
Protozoa (x 10^5/g digesta)	7.58	6.84	0.24	18.9	0.0828

4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

ใบและก้านมะขามป้อมบดมีแนวโน้มทำให้ประชากรโปรโตซัวในกระเพาะหมักลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ในใบและก้านมะขามป้อมมีสารประกอบจำพวก flavonoids ที่อาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งโปรโตซัว งานวิจัยส่วนใหญ่จะศึกษาผลของการใช้ชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ หัว สารสกัดจากพืช และน้ำมันหอมระเหยจากพืช ต่อประชากรจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ ในขณะที่การศึกษาในตัวสัตว์นั้นแทบไม่มีเลย ประชากรจุลินทรีย์ อาทิ *Lactobacilli sp., Clostridium sp., Streptococus sp.* และ *Aspergillus sp.* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในงานวิจัยครั้งนี้ ในขณะที่จำนวนประชากรโปรโตซัวมีแนวโน้มลดลง ในทางตรงกันข้าม Cordozo et al. (2006) รายงานว่าส่วนผสมของ cinnamaldehyde (0.18 g/d) และ eugenol (0.09 g/d) มีผลทำให้ประชากรของ holotrichs เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ anise oil มีผลทำให้จำนวนประชากรของโปรโตซัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ Patra et al. (2006) ศึกษาผลการใช้สารสกัดจากพืช 5 ชนิด (*Acacia concinna, Terminalia chebula, Terminalia belerica, Emblica officinalis* (amla) *and Azadirachta indica* ในสารละลายที่แตกต่างกัน; ethanol, methanol และน้ำ) ต่อประชากรโปรโตซัว และพบว่า *Emblica officinalis* (amla) ไม่มีผลต่อประชากรโปรโตซัว ผลการทดลองที่มีรายงานค่อนข้างผันแปร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สารสกัดจากพืช หรือน้ำมันหอมระเหยจากพืช ดังนั้นยังคงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาวิจัยอีกมาก ก่อนที่จะสรุปผลการศึกษาวิจัยที่แน่ชัด นอกจากนี้ควรทำการศึกษาวิจัยในตัวสัตว์อีกด้วยโดยเฉพาะในโครีดนม เพื่อที่จะได้ผลสรุปของการศึกษาวิจัยที่สามารถนำไปปฏิบัติได้

4.6 สรุปผลการทดลอง

ใบและก้านมะขามป้อมบดไม่มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์อื่นๆ แต่มีแนวโน้ม ($p = 0.0828$) ทำให้ประชากรโปรโตซัว ลดลง (7.58 vs 6.84 x 10^5/g digesta)

บทที่ 5
การเตรียมอาหารสัตว์ทดลองและการศึกษาเบื้องต้น

5.1 บทนำ

ในการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนมต้องมีการเตรียมการปลูก เก็บเกี่ยว และเก็บรักษาใบและก้านมะขามป้อมให้มีปริมาณเพียงพอที่จะใช้ในการทดลอง จึงต้องทำการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณค่าทางอาหารของใบและก้านมะขามป้อม รวมทั้งการเตรียมอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการทดลองต่อๆ ไป

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อเตรียมอาหารสัตว์ทดลองให้มีเพียงพอสำหรับตลอดการทดลอง เพื่อทราบถึงองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางพลังงาน และการย่อยสลายของโปรตีนในอาหารสัตว์ทดลอง

5.3 วิธีดำเนินการทดลอง

5.3.1 กรรมวิธีการเก็บเกี่ยวมะขามป้อม การตากแห้ง การบด การเก็บรักษา และการนำไปผสมเป็นอาหารสัตว์สำหรับการทดลอง

เตรียมวัตถุดิบโดยเก็บเกี่ยวก้านและใบของมะขามป้อม นำมาหั่นให้มีขนาดประมาณ 2 นิ้ว จากนั้นทำการตากแห้ง (sun dried) พอก้านและใบของมะขามป้อมแห้งดีแล้วจะนำไปบดจนละเอียดโดยเครื่องบดอาหารสัตว์ นำก้านและใบของมะขามป้อมที่บดแล้วเก็บไว้ในกระสอบ เก็บไว้ในห้องที่มีอากาศถ่ายเทดีและไม่อับชื้นเพื่อป้องกันใบและก้านมะขามป้อมที่บดแล้วเกาะกันเป็นก้อนและสารออกฤทธิ์ต่างๆ ที่อยู่ในพืชสูญเสียไป นำมะขามป้อมที่บดจนละเอียดแล้วไปผสมเข้าอาหารข้นที่มีโปรตีน 16% ในโรงงานผลิตอาหารสัตว์ตามสูตรอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 5.1 โดยผสมในสัดส่วนวัตถุดิบอาหาร 500 กิโลกรัมต่อมะขามป้อม 60 กิโลกรัม ทำการอัดเม็ด และบรรจุลงกระสอบ

5.3.2 การศึกษาเบื้องต้น

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การประเมินคุณค่าทางพลังงานและการศึกษาการย่อยสลายในกระเพาะหมักของอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม

5.3.2.1 อุปกรณ์และวิธีการ

(1) ทำการสุ่มตัวอย่างของอาหารข้น และอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อหาวัตถุแห้ง (dry matter, DM) (AOAC, 1990)

(2) นำตัวอย่างของอาหารข้น และอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม นำมาทำการบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 mm. แล้วนำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยในกระเพาะหมักต่อไป

(3) นำตัวอย่างของอาหารข้น และอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม มาวิเคราะห์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี โดยการใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (proximate analysis) (AOAC, 1990) ซึ่งวิเคราะห์วัตถุแห้งโดยเครื่อง hot air oven โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyser ไขมัน (ether extract) โดยเครื่อง Soxhlet auto เยื่อใยหยาบ (crude fiber, CF) โดยเครื่อง Fibertec auto analyser และเถ้า (ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และการวิเคราะห์เยื่อใย โดย Detergent analysis (Goering and VanSoest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) และ acid detergent lignin, ADL โดยเครื่อง Fibertec auto analyzer

Table 5.1 Types and amount of raw material used in the experiment

/100 kg (fresh weight)	Control	Amla
Ground amla leaves/branches	-	10.7
Cassava pulp	33.4	33.4
Rice bran	16.0	5.3
Brewers' grain	12.0	12.0
Molasses	8.0	8.0
Palm meal	16.0	16.0
Mung bean meal	8.0	8.0
Extracted rice bran	4.0	4.0
Urea	1.8	1.8
Mineral mix	0.5	0.5
Flavour	0.1	0.1
Pelleting binder	1.0	1.0

(4) นำตัวอย่างของอาหารข้น และอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม ที่ได้เก็บไว้ในข้อ 5.3.1.2 มาศึกษาการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักโดยการใช้ถุงไนล่อน (Nylon bag) บ่มในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ (Rumen degradability or in sacco digestibility) (Ørskov et al., 1980) โดยการนำตัวอย่างอาหารชนิดต่างๆ ที่บดไว้ และ ถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุนของถุง 47 μm ที่ใช้ในการทดลองไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้น ชั่งน้ำหนักวัตถุดิบประมาณ 5 – 6 กรัม ใส่ลงในถุงไนล่อนทำการชั่ง และ บันทึกน้ำหนักไว้แล้ว หลังจากนั้นนำถุงไนล่อนที่ใส่ตัวอย่างวัตถุดิบแล้วนำมาร้อยติดกับสายพลาสติกยาวประมาณ 90 เซนติเมตร นำไปบ่มใน

กระเพาะหมัก โดยให้สายพลาสติกอยู่ในส่วนที่ลึกที่สุดของกระเพาะหมัก และ ให้แต่ละถุงมีระยะเวลาการบ่มอยู่ในกระเพาะหมักต่างกันดังนี้ คือ 0, 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยในแต่ละตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ ใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 2 ตัว และ ให้ถุงที่ใส่ในโคแต่ละตัวเป็น 1 ซ้ำ

เมื่อบ่มถุงไนล่อนในกระเพาะหมักของโคได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำถุงทั้งหมดออกจากกระเพาหมัก นำมาล้างเพื่อเอาเศษอาหารที่ติดจากกระเพาะหมักออก แล้วนำถุงไนล่อนทั้งหมดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และนำไปชั่งเพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง และนำอาหารที่เหลือจากการย่อยสลายในถุงไนล่อนไปวิเคราะห์หาเปอร์เซนต์ไนโตรเจน โดยทำการรวมตัวอย่างจากโคตัวที่ 1 และ 2 เข้าไว้ด้วยกัน จากนั้นนำค่าสัดส่วนที่สูญหายไปในระยะเวลาต่างๆ ของวัตถุแห้ง และไนโตรเจน มาคำนวณหาอัตราการย่อยสลายได้ต่อไป

นำค่าสัดส่วนโปรตีนที่สูญหายไปในระยะเวลาต่างๆ ที่นำถุงออกมาจากกระเพาะหมักมาคำนวณโดยใช้สมการที่แนะนำโดย (Ørskov and Mehrez, 1979)

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

เมื่อ *dg* = degradability of protein

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

b = potentially degrade N, other than water soluble N

c = fraction rate of degradation of feed N per hour

t = hour

การคำนวณค่าปริมาณการย่อยสลายของโปรตีนที่ทิ้งไว้ในช่วงระยะเวลาต่างๆมาคำนวณอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY EXCEL (Ørskov and McDonald, 1979) ตามสมการดังนี้

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

เมื่อ *dg* = Effective protein degradability

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

b = potentially degrade N, other than water soluble N

c = fraction rate of degradation of feed N per hour

k = Fractional outflow rate of digesta per hour

เมื่อคำนวณได้ค่า *dg* แล้วสามารถนำไปประมาณค่าโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (rumen degradable protein, RDP) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (rumen undegradable protein, RUP) ได้ตามสมการดังนี้

RDP = CP X dg

CP = RDP + RUP หรือ RUP = CP – RDP

5.3.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการวิเคราะห์ตัวอย่างของอาหารข้น และอาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อม และการย่อยสลายในกระเพาะหมัก มาหาค่าเฉลี่ยและนำเสนอในรูป Mean + SE

5.4 ผลการทดลอง

5.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นสำเร็จรูป แบ่งสูตรอาหารเป็น 2 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) และข้าวโพดหมัก

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารที่ใช้ในการทดลองด้วยวิธีการ Proximate analysis และ Detergent analysis ในห้องปฏิบัติการ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าอาหารข้นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งใกล้เคียงกันคือ 94.64% และ 95.67% ตามลำดับ ส่วนโปรตีนและไขมัน ในอาหารกลุ่มควบคุม เท่ากับ 17.33% และ 3.90% ตามลำดับ และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม เท่ากับ 17.46% และ 3.70% ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นที่ใช้ในการเลี้ยงโคนม ดังแสดงในตารางที่ 5.2 พบว่ากลุ่มควบคุม มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน (17.33%) และไขมัน (3.90%) ใกล้เคียงกับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน (17.46%) และไขมัน (3.70%) แต่ในกลุ่มควบคุม มี CF, ADF, ADL, NDIN และ NDINCP (16.10, 44.9, 24.35, 6.33, 0.24 และ 0.48% ตามลำดับ) ต่ำกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม (17.71, 45.52, 27.70, 6.64, 0.26, 1.60% ตามลำดับ) ซึ่งระดับไขมันในอาหารสัตว์อยู่ในเกณฑ์ที่ NRC (2001) แนะนำไว้ คือที่ระดับ 3% และไม่เกิน 5% ซึ่งเป็นระดับที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยเซลลูโลสในกระเพาะหมัก และการที่กลุ่มการทดลองที่ 2 มีเยื่อใยสูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 อาจเกิดมาจากการผสมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) ในอาหารข้นสำเร็จรูป ซึ่งเป็นการเพิ่มเยื่อใยในสูตรอาหาร จึงมีผลต่อการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบทางเคมีในส่วนของเยื่อใยในสูตรอาหารได้

ส่วนอาหารหยาบคือข้าวโพดหมัก พบว่ามีวัตถุแห้งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.68% มีโปรตีน 7.2% ไขมัน 1.32% และเถ้า 17.89% ซึ่งจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์เถ้าค่อนข้างสูง อาจเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของเศษดินและทราย ในระหว่างทำข้าวโพดหมัก เยื่อใยเท่ากับ 27.60% ซึ่ง NRC (2001) แนะนำที่ 36-44% ทั้งนี้โคที่ได้รับ NFC ต่ำอาจส่งผลกระทบต่อพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้ เปอร์เซ็นต์เยื่อใยในข้าวโพดหมักมีความผันแปรตามระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวข้าวโพด เพื่อนำมาทำข้าวโพดหมักอาจแตกต่างกันไป

Table 5.2 Chemical composition of concentrate and corn silage (Mean ± SE)

	Control	**Amla**	**Corn silage**
	………………..………………% of DM.......................................		
Dry matter	94.64 ± 0.45	95.67 ± 0.30	28.68 ± 0.00
Crude protein	17.33 ± 0.15	17.46 ± 0.14	7.20 ± 0.02
Ether extract	3.9 ± 0.12	3.7 ± 0.08	1.32 ± 0.14
Ash	7.01 ± 0.04	7.03 ± 0.01	17.89 ± 1.12
Crude fiber	16.10 ± 0.11	17.71 ± 0.02	27.60 ± 0.21
NDF	45.55 ± 1.37	44.48 ± 0.80	61.32 ± 0.11
ADF	24.35 ± 0.17	27.70 ± 0.62	36.13 ± 0.15
ADL	6.33 ± 0.14	6.64 ± 0.08	2.58 ± 0.09
NDIN	0.24 ± 0.12	0.26 ± 0.13	0.16 ± 0.08
NDINCP	1.48 ± 0.09	1.60 ± 0.02	0.99 ± 0.06
ADIN	0.28 ± 0.14	0.22 ± 0.11	0.22 ± 0.11
ADINCP	1.76 ± 0.52	1.46 ± 0.08	1.38 ± 0.02

ADF = Acid detergent fiber, ADL=Acid detergent lignin, ADIN=Acid detergent insoluble nitrogen, ADICP=Acid detergent insoluble crude protein, NDF=Neutral detergent insoluble nitrogen, NDICP=Neutral detergent insoluble crude protein

5.4.2 การประเมินค่าพลังงานในสูตรอาหารผสมสำเร็จรูป และข้าวโพดหมัก

เมื่อนำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลองไปคำนวณหาค่าพลังงานประเภทต่างๆ ตามสมการของ NRC (2001) ดังแสดงในตารางที่ 5.3 กล่าวคือพลังงาน TDN_{1X} (%TDN), พลังงานย่อยได้ (DE_P), พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_P) และพลังงานสุทธิ (NE_{LP}) ในรูปของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrient; TDN_{1X}) พบว่าอาหารในกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 63.82% ในกลุ่มที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมมีค่าเท่ากับ 63.23% เนื่องจากในอาหารข้นทดลองในแต่ละสูตรจะให้พลังงานแต่ละประเภทใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ในการคำนวณสูตรอาหารจะคำนึงถึงค่าของโภชนะโปรตีนและพลังงานเป็นหลัก

5.4.3 การย่อยสลายของวัตถุแห้ง

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการย่อยสลายของวัตถุแห้งของอาหารข้นในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม และข้าวโพดหมัก โดยวิธีการใช้ถุงไนล่อนพบว่าปริมาณวัตถุแห้งที่ย่อยสลายได้ ดังแสดงในตารางที่ 5.4 ที่ ชั่วโมงต่างๆ เมื่อนำไปบ่มในกระเพาะหมักของโคทดลอง พบว่าเมื่อมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น อาหารสัตว์ทุกชนิดมีอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมัก

เพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยอาหารกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อมมีอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้ง (dg DM) ใกล้เคียงกัน แต่การย่อยสลายของวัตถุแห้งในข้าวโพดหมักจะต่ำกว่าในการย่อยสลายของอาหารทั้งสองสูตร

ในกลุ่มควบคุม มีค่า dg DM สูงกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม แต่ก็ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังแสดงในตารางที่ 5.3 พบว่ากลุ่มควบคุม มีค่า dgDM เท่ากับ 46.4% และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเท่ากับ 45.9% ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากในสูตรอาหารมีองค์ประกอบของโภชนะใกล้เคียงกัน

Table 5.3 Energy values of concentrate and corn silage

	Control	**Amla**	**Corn silage**
TDN_{1X} (%)[1]	63.82	63.23	50.46
DE_{1X} (Mcal/kg)[2]	2.91	2.87	2.19
DE_P (Mcal/kg)[3]	2.80	2.77	2.30
ME_P (Mcal/kg)[4]	2.38	2.35	1.86
NE_{LP} (Mcal/kg)[5]	1.48	1.50	1.12

[1]TDN_{1X} (%) = tdNFC + tdCP + (tdFA x 25.25) + tdNDF – 7)

[2]DE_{1X} (Mcal/kg) = ((tdNFC/100) x 4.2) + ((tdNDF/100) x 4.2) x ((tdCP/100) x 5.6) + ((FA/100) x 9.4) – 0.3

[3]DE_P (Mcal/kg) = $(((TDN_{1X} – ((0.18 \times TDN_{1X}) – 10.3)) \times Intake)/TDN_{1X}) \times DE_{1X}$

[4]ME_P (Mcal/kg) = $(1.01 \times (DE_P) – 0.45) + (0.0046 \times (EE-3))$ (where EE > 3%)

[4]ME_P (Mcal/kg) = $(1.01 \times (DE_P) – 0.45)$ (where EE < 3%)

[5]NE_{LP} (Mcal/kg) = $(0.703 \times ME_P) – 0.19$ (where EE < 3%)

[5]NE_{LP} (Mcal/kg) = $(0.703 \times ME_P) -0.19) + ((0.097 \times ME_P)/97) \times (EE – 3)$, (where EE > 3%)

NRC (2001)

Table 5.4 Dry matter degradability of concentrate and corn silage

Feed	**Dry matter**								
	0 h	**2 h**	**4 h**	**6 h**	**12 h**	**24 h**	**48h**	**72h**	**dg**[1]
dg of DM					**………………..(%)………………..**				
Control	27.80	37.20	37.50	42.50	51.90	52.90	69.60	-	46.40
Amla	26.80	35.10	36.80	41.70	51.20	55.80	64.70	-	45.90
Corn silage	21.90	21.80	22.20	23.60	26.00	31.50	53.30	60.50	28.60

[1] Effective degradability of dry matter

5.4.4 การย่อยสลายของโปรตีนรวม

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการย่อยสลายของโปรตีนของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม และข้าวโพดหมัก โดยวิธีการใช้ถุงไนลอนพบว่าปริมาณโปรตีนที่สลายตัวไป ดังแสดงในตารางที่ 5.5 ที่ชั่วโมงต่างๆ เมื่อนำไปบ่มในกระเพาะหมักของโคทดลองพบว่าเมื่อมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น อาหารสัตว์ทุกชนิดมีอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อมมีอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้ง (dgCP) ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามเวลา โดยที่สูตรอาหารทั้งสองสูตรมีอัตราการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักใกล้เคียงกัน

การศึกษาการย่อยโปรตีนของอาหารทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง พบว่ามีค่า dgCP ใกล้เคียงกัน คือ กลุ่มควบคุม เท่ากับ 66.10% และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม เท่ากับ 65.53% ซึ่งองค์ประกอบของโภชนะในอาหารทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน จึงส่งผลให้การย่อยโปรตีนไม่แตกต่างกันมากนัก

Table 5.5 Protein degradability of concentrate and roughage

Feed	**Protein**								
	0 h	**2 h**	**4 h**	**6 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**dg** [1]
dg of CP	………………..(%)………………..								
Control	55.80	61.40	63.70	64.50	67.20	67.80	79.70	-	66.10
Amla	55.10	59.60	61.20	67.30	67.30	69.20	77.80	-	65.3
Corn silage	47.40	39.70	35.60	33.10	27.00	34.70	40.40	60.60	47.10

หมายเหตุ: [1] Effective degradability of crude protein

Table 5.6 Dry matter and protein degradability of concentrate and roughage

Disappearance (%)	Control	Amla	Corn silage
DM Disappearance (%)			
A	35.30	30.50	17.00
B	50.90	35.20	42.00
C	0.022	0.062	0.028
A + B	86.20	65.70	59.00
Effective dgDM (%)*	46.40	45.90	28.60
CP Disappearance (%)			
A	61.50	59.20	32.30
B	28.50	27.60	33.60
C	0.001	0.022	0.003
A + B	90.00	86.80	65.90
Effective dgCP (%)*	66.10	65.30	47.10

*Outflow rate (fraction/h) = 0.08

5.5 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การประเมินคุณค่าทางพลังงานและการศึกษาการย่อยสลายในกระเพาะหมักของอาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) พบว่าอาหารทั้ง 2 สูตร คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) มีองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุแห้ง, โปรตีน, ไขมัน, เยื่อใย, NDF, ADF, NDIN, ADIN, NDINCP และ ADINCP มีค่าใกล้เคียงกัน และจากการใช้ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี มาประเมินค่าพลังงาน พบว่าอาหารข้นของกลุ่มการทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดของวัตถุแห้ง และโปรตีน มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าต่ำกว่าเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีส่วนประกอบของเยื่อใยจากใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) ที่ผสมในอาหารข้น

บทที่ 6
การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมใบ และก้านมะขามป้อมต่อการให้ผลผลิตของโคนม

6.1 บทนำ

มะขามป้อมมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส และยังพบว่าสารสกัดหลายชนิดจากส่วนต่างๆของมะขามป้อม สามารถนำมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคนมได้ การนำใบและก้านของมะขามป้อมมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก อาจทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เพิ่มจำนวนขึ้น ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตโคนม จึงมีความสนใจนำใบและก้านของมะขามป้อมมาทดลองศึกษาการใช้อาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อมต่อการให้ผลผลิตโคนม

6.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการใช้อาหารข้นผสมใบและก้านมะขามป้อมต่อผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบของน้ำนม และ น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง

6.3 วิธีดำเนินการทดลอง

การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมใบ และก้านมะขามป้อมต่อการให้ผลผลิตของน้ำนม องค์ประกอบของน้ำนมของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชียน (crossbred Holstein Friesian) ซึ่งอยู่ในช่วงระยะต้นของการให้นม (early lactation)

6.3.1 อาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ 1 (T1) อาหารข้นสำเร็จรูป ที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ

อาหารทดลองที่ 2 (T2) อาหารข้นสำเร็จรูปที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) ที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ

6.3.2 แผนการทดลอง และการจัดการให้อาหาร

จัดแผนการทดลองแบบ Group comparison โดยจัดโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชียนออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง โดยให้มีค่าใกล้เคียงกันตามปริมาณการให้น้ำนม ระยะเวลาในการให้น้ำนม อายุ (เดือน) และน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ในระยะต้นของการให้นม จำนวน 20 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 6.1

Table 6.1 Data of experimental cows

Details	Control	Amla
Milk yield (kg/d)	16.60 ± 2.08	16.26 ± 1.76
Days in milk	63.70 ± 35.16	60.80 ± 33.60
Body weight (kg)	418.40 ± 43.90	411.70 ± 43.50
Age (mo)	44.10 ± 11.00	44.20 ± 11.04

Remarks: values showed are Mean ± SD

โคนมทุกตัวถูกจัดอยู่ในคอกเดี่ยว มีอ่างสำหรับใส่น้ำให้กินตลอดเวลา ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการผสมอาหารข้นทั้งสิ้น 2 สูตร ด้วยเครื่องผสมอาหารและอัดเม็ดอาหาร ในการให้อาหารกับโคนมจะให้เป็นรายตัว โดยจ่ายอาหารแยกเป็นอาหารข้น (Concentrate) และอาหารหยาบ (Roughage) ให้อาหารข้นจำนวน 8 กก./ตัว/วัน ให้วันละ 3 เวลา คือ เช้า 07.30 น., 12.00 น. และ 16.00 น. ให้อาหารข้นเป็น 3, 2 และ 3 กก. ตามลำดับ โดยทุกกลุ่มการทดลองจะได้รับแหล่งของอาหารหยาบชนิดเดียวกัน คือ ข้าวโพดหมัก 15-17 กิโลกรัม (วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น) ในทุกวันตลอดการทดลองโดยโคนมในแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารข้นตามสูตรอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 3.1

6.3.4 วิธีการทดลองและการเก็บข้อมูล

เมื่อทำการสุ่มโคนมตามกลุ่มแผนการทดลองแล้วทำการให้อาหาร และใช้ระยะเวลาในการปรับตัวสัตว์ทดลองประมาณ 1 สัปดาห์ และช่วงการเก็บข้อมูลเป็นระยะเวลา 30 วัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 ช่วงการทดลอง ช่วงละ 5 วัน โดยมีการบันทึกและเก็บข้อมูลต่างๆ ดังนี้

6.3.4.1 ปริมาณการกินได้

ชั่งและบันทึกปริมาณอาหารที่กินรวมถึงเก็บตัวอย่างอาหารก่อนกินและหลังกินเป็นรายตัว ทำการเก็บการกินได้ทุกๆ 5 วัน (สุ่มเก็บ 2 วันติดต่อกัน) โดยสุ่มเก็บอาหารแต่ละชนิด (อาหารข้นกลุ่มควบคุม อาหารข้นกลุ่มทดลอง และอาหารหยาบ) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate Analysis ดังต่อไปนี้คือ วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีของ AOAC. (1990) และการวิเคราะห์เยื่อใย (detergent analysis) ตามวิธีของ Goering and Van Sorest (1970) ได้แก่ NDF, ADF และ ADL

6.3.4.2 ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม

ทำการบันทึกการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมทุกวันตลอดระยะเวลาของการทดลองและสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบรายตัวทุกๆ 5 วัน (สุ่มเก็บ 2 วันติดต่อกัน) โดยแบ่งเป็น นมช่วงเย็น และช่วงเช้า นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม (ไขมันนม โปรตีนนม,

แลคโตส ของแข็งพร่องไขมัน และ ของแข็งรวมในนม) (Milkoscan รุ่น S50) แล้วจึงนำมาคำนวณตามอัตราส่วนปริมาณน้ำนม

6.3.4.3 การวัดน้ำหนักตัว

ทำการชั่งน้ำหนักตัวก่อน และหลังการทดลองของโคนมทุกตัว ทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง โดยชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง ในช่วงเช้าหลังจากรีดนมเสร็จ

6.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลปริมาณการกินได้ ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ความต้องการพลังงานและโปรตีน และพลังงานและโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร ที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธี T-test ซึ่งวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1988)

6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

6.4.1 ปริมาณการกินได้ของโคนม

จากการทดลองปริมาณการกินได้โภชนะของโคนม เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มการทดลองการใช้อาหารข้นสำเร็จรูปในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ดังแสดงในตารางที่ 6.2 พบว่าปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งรวมของอาหารหยาบและอาหารข้นในกลุ่มควบคุม น้อยกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.52 และ 14.62 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อน้ำหนักตัว (g/kg $W^{\wedge 0.75}$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 156.55 และ 159.52 g/kg $W^{\wedge 0.75}$ ตามลำดับ ก็ไม่พบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

ปริมาณการกินได้โปรตีน/ตัว/วัน พบว่าปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารข้นของกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1312 และ 1322 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) และปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารหยาบของกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 500 และ 507 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารรวมของกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1812 และ 1829 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และปริมาณการกินได้โปรตีนต่อน้ำหนักตัว (g/kg $W^{0.75}$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.56 และ 19.74 g/kg $W^{0.75}$ ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

ปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิ/ตัว/วัน พบว่าปริมาณการกินได้พลังงานจากอาหารหยาบของกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.74 และ 7.90 Mcal/ตัว/วัน

ตามลำดับ ปริมาณการกินได้พลังงานจากอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.20 และ 11.36 Mcal/ตัว/วัน ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และปริมาณการกินได้พลังงานจากอาหารรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.94 และ 19.26 Mcal/ตัว/วัน ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิต่อน้ำหนักตัว (g/kg $W^{0.75}$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.20 และ 0.21 Mcal/kg $W^{0.75}$ ตามลำดับ จากการศึกษาปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิ/ตัว/วัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

ปริมาณการกินได้ของโคนมเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจส่งผลต่อการให้ผลผลิตโคนมซึ่งเกี่ยวข้องกันการได้รับโภชนะในอาหาร จากการทดลองวัดการกินได้ ดังแสดงในตารางที่ 6.2 พบว่าปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง ปริมาณการกินได้โปรตีน และปริมาณการกินได้สุทธิ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ให้ในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม พบว่าปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม ปริมาณการกินได้มีความสำคัญต่อการนำมาพิจารณาร่วมกับการให้ผลผลิตเพราะหากโคได้รับปริมาณโภชนะที่ไม่เพียงพอจะส่งผลทำโคนมสลายไขมันมาใช้ประโยชน์เป็นพลังงานทำให้โคน้ำหนักลดลงได้ และจากการศึกษาปริมาณการกินได้โปรตีน พบว่าในกลุ่มควบคุม มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวมสูงกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) ทั้งนี้เนื่องจากอาหารของกลุ่มควบคุม มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่าในอาหารของกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ส่วนปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิ ของปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิรวม พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาในหน่วยกิโลกรัมต่อวัน และกรัมต่อกิโลกรัมเมทาบอลิก โดยกลุ่มควบคุม มีปริมาณการกินได้สุทธิรวมสูงกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณการกินได้โปรตีนรวมของการทดลองทั้งสองกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกัน คือกลุ่มควบคุม มีการกินได้โปรตีนรวมสูงกว่าในกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม จึงส่งผลต่อปริมาณการกินได้สุทธิรวมมีความแตกต่างกันได้

6.4.2 ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบของน้ำนม

การทดลองผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารข้นสำเร็จรูปในการเลี้ยงโคนมต่อปริมาณน้ำนม ดังแสดงในตารางที่ 6.3 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกลุ่มโคที่ได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีปริมาณน้ำนมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.65 และ 12.72 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อปรับปริมาณน้ำนมตามเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมที่ 4% (4% FCM) ในหน่วยกิโลกรัมต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเป็น 14.92 และ 13.80 กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อพิจารณาไขมันในน้ำนมเป็นหน่วยกรัม/วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 556 และ 512 กรัม/วัน ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีนในน้ำนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 459 และ 420 กรัม/วัน ตามลำดับ ส่วนปริมาณแล็คโตสในน้ำนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 671 และ 621 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

Table 6.2 Intakes of experimental cows

	Control	**Amla**	**SEM**	**P value**
Dry matter	**………………..(kgDM/d)………………**			
Concentrate	7.57	7.57		
Corn silage	6.91	7.05	0.12	0.6674
Total	14.52	14.62	0.12	0.6642
g/kg $W^{0.75}$	156.55	159.52	2.47	0.5546
Crude protein	**……………….. (g/d) ………………..**			
Concentrate	1312	1322		
Corn silage	500	507	8.29	0.6607
Total	1812	1829	8.29	0.6624
g/kg $W^{0.75}$	19.56	19.74	0.32	0.5249
Net energy	**……………….. (Mcal/d) ………………..**			
Concentrate	11.20	11.36		
Corn silage	7.74	7.90	0.11	0.6713
Total	18.94	19.26	0.11	0.0282
Mcal/kg $W^{0.75}$	0.20	0.21	0.006	0.5469

SEM = standard error of the mean

Table 6.3 Milk yield and milk composition yield in response to the treatments

	Control	**Amla**	**SEM**	**P value**
	………………..(kg/day)………………			
Milk yield	13.65	12.72	0.41	0.2755
4% fat corrected milk	14.92	13.80	0.38	0.1595
Milk composition yields	**……………….. (g/day) ………………..**			
Milk fat	556	512	13.80	0.1252
Milk protein	459	420	12.39	0.1387
Milk lactose	671	621	19.68	0.2174
Milk solid not fat	1270	1175	36.29	0.2057
Milk total solid	1826	1686	48.46	0.1672

SEM = standard error of the mean

เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมในโคกลุ่มที่ได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ดังแสดงในตารางที่ 6.4 พบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.11 และ 4.04% ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.37 และ 3.31% ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์แล็คโตส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.92 และ 4.88% ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับของแข็งพร่องไขมัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.31 และ 9.24% ตามลำดับ และของแข็งรวมในน้ำนม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.42 และ 13.29% ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

จากการทดลองการเสริมใบและก้านมะขามป้อม (10.7%) ในอาหารโคนม พบว่าปริมาณน้ำนม ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 4% (4% FCM) ปริมาณไขมันในน้ำนม และปริมาณของแข็งรวมในน้ำนม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Gaynor et al. (1995) พบว่าโคที่ได้รับพลังงานสูง จะมีปริมาณผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโคที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานมากขึ้นจะเกิดการย่อยสลายพลังงานในกระเพาะหมักมากขึ้น ทำให้สามารถผลิตกรดไขมันได้มากขึ้น และส่งผลให้การผลิตน้ำนมได้เพิ่มขึ้น โดยทั่วไปแล้วการลดสัดส่วนของอาหารหยาบลงหรือการเพิ่มสัดส่วนของอาหารข้นขึ้นโคนมจะให้ผลผลิตนม ไขมัน และโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่เมื่ออาหารข้นเพิ่มขึ้นเกิน 60% การผลิตไขมันในน้ำนมจะลดลง (Aldrich et al., 1993; Grantl., 2000; Kennelly et al., 2000) ทั้งนี้เนื่องมาจากสารอาหารหลักที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม คือ กรดอะซิติค (acetic acid, C_2) ซึ่งเป็นกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid, VFAs) ที่ได้จากการหมักย่อยอาหารหยาบโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน NRC (1988) แนะนำว่า เพื่อไม่ให้มีผลกระทบต่อปริมาณไขมัน

ในน้ำนม ควรมีอาหารหยาบอย่างน้อย 40% ในสูตรอาหารทั้งหมด หรือควรมีเยื่อใย หรือ ADF ไม่น้อยกว่า 17 และ 21% ตามลำดับ ทั้งนี้เพื่อให้ขบวนการหมักของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักดำเนินไปได้ตามปกติ และรักษาสภาพความเป็นกรดในกระเพาะรูเมนไม่ให้ต่ำเกินไป นอกจากนั้นเยื่อใยในอาหารควรมีคุณสมบัติที่มีความเหมาะสมต่อประสิทธิภาพในขบวนการหมักย่อย (effective fiber) ของจุลินทรีย์โดยควรมีลักษณะเป็นเส้นใยที่ยาว (long form fiber) ซึ่งจะช่วยขบวนการเคี้ยวเอื้อง และการหลั่งน้ำลายเพื่อปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ในกระเพาะให้เหมาะสม (กังวาน, 2546)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มการทดลอง ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 6.8 จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมไม่มีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมัน โปรตีน แล็คโตส ของแข็งพร่องไขมัน และของแข็งรวมในนม ของกลุ่มควบคุม มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ในโคที่ให้นมลดลง คุณภาพของน้ำนมจะสูงขึ้น คือเปอร์เซ็นต์ไขมันและโปรตีนจะเปลี่ยนแปลงมาก เปอร์เซ็นต์แล็คโตสค่อนข้างคงที่ และเปอร์เซ็นต์ของแข็งพร่องไขมันในน้ำนมสูงขึ้น (ชวนิศนดากร, 2534)

Table 6.4 Milk composition in response to the treatments

Item	Control	Amla	SEM	P value
	……………….. (%)	………………..		
Milk fat	4.11	4.04	0.07	0.6665
Milk protein	3.37	3.31	0.02	0.1679
Milk lactose	4.92	4.88	0.02	0.4242
Milk solid not fat	9.31	9.24	0.04	0.4307
Milk total solid	13.42	13.29	0.10	0.5354

SEM = standard error of the mean

6.4.3 น้ำหนักตัวและน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง

น้ำหนักตัวและน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงของโคนมที่ได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ดังแสดงในตารางที่ 6.5 พบว่าน้ำหนักของโคนมก่อนเริ่มการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 418.40 และ 411.70 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักตัวหลังสิ้นสุดการทดลอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 427.30 และ 420.80 กิโลกรัม ตามลำดับ และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.10 และ 8.90 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองเมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ของโคทั้งสองกลุ่มนี้

จากการทดลองการเสริมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม พบว่ามีผลทำให้น้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจะเห็นได้ว่าในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (9.10 และ 8.90 กรัม/วัน)

Table 6.5 Body weight and body weight change

Item	Control	Amla	SEM	P value
	………………..(kg/head)………………			
Initial body weight	418.40	411.70	9.78	0.7357
Final body weight	427.30	420.80	10.84	0.7676
Body weight change (g/day)	9.10	8.90	1.93	0.9592

SEM = standard error of the mean

6.4.4 การประมาณค่าโปรตีนและพลังงานของโคนมที่ได้รับอาหารตามกลุ่มการทดลอง

ผลของโปรตีนย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{sup}) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{sup}) ของโคนมที่ได้รับอาหารใน 2 คือ กลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ดังแสดงในตารางที่ 4.10 สามารถวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายได้ของโปรตีนโดยวิธี Nylon bag technique พบว่า RDP_{sup} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 752 และ 717 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และ (RUP_{sup}) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1060 และ 1036 กรัม/วัน ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อใช้อาหารข้นสำเร็จรูปที่ผสมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

ความต้องการโปรตีนย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{sup}) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{sup}) ที่สามารถคำนวณได้จากสมการของ NRC (2001) ดังแสดงในตารางที่ 6.11 พบว่าความต้องการโปรตีนย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{req}) ของโคนมในกลุ่มควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1275 กรัม/วัน และโคนมในกลุ่มที่เสริมใบและก้ารมะขามป้อม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1276 กรัม/วัน แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และการทดลองนี้โคนมได้รับ RDP_{sup} ไม่เพียงพอต่อความต้องการเท่ากับ -523 และ-559 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนของความต้องการโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{req}) มีค่าเท่ากับ 1192 และ 964 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ได้รับ RUP_{sup} เท่ากับ 1060 และ 1036 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งโคนมในกลุ่มควบคุม ได้รับ RUP_{sup} ไม่เพียงพอกับความต้องการเท่ากับ -132 และโคนมในกลุ่มที่เสริมใบและก้ารมะขามป้อม ได้รับ RUP_{sup} เกินความต้องการมา 72 กรัม/วัน ตามลำดับ โดยพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

นอกจากนี้โปรตีนที่ได้รับจากจุลินทรีย์โปรตีน เท่ากับ 1084 และ 1085 กรัม/วัน ตามลำดับ และความต้องการโปรตีนทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 1392 และ 1273 กรัม/วัน ตามลำดับ พบว่าโปรตีนที่ได้รับจากจุลินทรีย์โปรตีนและความต้องการโปรตีนทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของอาหารที่เสริมใบและก้านมะขามป้อมในโคนม ดังแสดงในตารางที่ 6.6

ผลของโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{sup}) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{sup}) ของโคนมที่ได้จากอาหารข้นทั้ง 2 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 6.7 พบว่า RDP_{sup} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 752 และ 717 กรัม/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และ (RUP_{sup}) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1060 และ 1036 กรัม/วัน ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกินได้โปรตีนของโคนมทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกัน จึงส่งผลให้ได้รับ RDP_{sup} มีความแตกต่างกัน

ความต้องการโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP_{req}) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP_{req}) ที่สามารถคำนวณได้จากสมการของ NRC (2001) ดังแสดงในตารางที่ 6.11 พบว่าโคนมทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง ได้รับ (RDP_{sup}) ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งอาจแก้ไขปัญหาได้โดยการเสริมแหล่งโปรตีนในอาหาร เช่น ยูเรีย เพื่อเป็นแหล่งของแอมโมเนียไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เพราะทั้งนี้โปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP) มีผลต่อปริมาณการกินได้ ซึ่งพบว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้น้อยในกระเพาะหมัก Claypool et al. (1980) พบว่าสาเหตุที่โปรตีนไปมีผลต่อปริมาณการกินได้เป็นเพราะว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูงกว่า จะทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักได้รับไนโตรเจนเพียงพอต่อการเจริญเติบโต ซึ่งจะส่งผลให้การย่อยได้สูงขึ้น การไหลผ่านของอาหารจากกระเพาะหมักก็เพิ่มสูงขึ้น ทำให้โคสามารถกินอาหารได้มากขึ้น แต่ทั้งนี้การใช้ยูเรียต้องใช้ในระดับที่เพียงพอสำหรับจุลินทรีย์เท่านั้น ไม่ควรใช้ในระดับที่เกินความต้องการของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เนื่องจากโคจะเกิดความเป็นพิษของแอมโมเนีย (วิโรจน์, 2546) และระดับที่ปลอดภัยคือ ควรใช้ยูเรียไม่เกิน 3% ของอาหารข้น (ฉลอง และคณะ, 2541) และนอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มควบคุม ได้รับโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (RUP_{sup}) ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งอาจแก้ไขปัญหาโดยการใช้ by pass protein เพื่อให้สัตว์ได้รับโปรตีนตามที่ต้องการ ทั้งนี้ส่วนของโปรตีนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักจะมีผลต่อสมดุลกรดอะมิโนในสัตว์ ซึ่งมีผลต่อการควบคุมกลไกการควบคุมการกินได้ (Egan and Moir, 1965) ถ้ากรดอะมิโนไม่สมดุลจะมีผลต่อวิถีเมตาโบไลต์ในสัตว์ลดการใช้ประโยชน์ของสารตั้งต้น เนื่องจากการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นจะมีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ในวิถีเมตาโบไลต์ ซึ่งมีผลต่อการเคลื่อนย้ายสารอาหารในวัฏจักร ดังนั้นอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการกระตุ้นเคโมรีเซพเตอร์ไปมีผลต่อสมองที่ควบคุมการกินได้ของสัตว์ (Forbes, 1986)

การจำแนกพลังงานใช้ประโยชน์เพื่อกิจกรรมต่างๆ ของโคนมที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม แสดงในตารางที่ 6.7 ซึ่งศึกษาตาม NRC (2001) พบว่าการกินได้

ของพลังงานสุทธิ (NE_L intake) มีค่าเท่ากับ 19.17 และ 19.70 Mcal/day ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในส่วนของพลังงานสุทธิเพื่อการดำรงชีพ (NE_{LM}) มีค่า 7.45 และ 7.37 Mcal/day ตามลำดับ พลังงานสุทธิเพื่อการผลิตน้ำนม (NE_{LL}) มีค่าเท่ากับ 10.30 และ 9.50 Mcal/day ตามลำดับ พลังงานสุทธิเพื่อการเพิ่มน้ำหนักตัว (NE_{LG}) มีค่า 0.762 และ 0.78 Mcal/day ตามลำดับ ส่วนพลังงานสุทธิสะสม (NE_{LR}) มีค่าเท่ากับ 18.51 และ 17.64 Mcal/day ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการเสริมใบและก้านมะขามป้อมในอาหารโคนม

Table 6.6 Rumen degradable protein (RDP) and rumen undegradable protein (RUP) supplies by the feeds

Item	Control	Amla	SEM	P value
	…(g/head/day)…			
Rumen degradable protein supply (RDP_{sup})	752	717	2.38	0.0001
Rumen undegradable protein supply (RUP_{sup})	1,060	1,036	5.93	0.0598

SEM = standard error of the mean

Table 6.7 Protein supply by the feeds and protein requirement of cows

Item	Control	Amla	SEM	P value
	…(g/head/day)…			
Rumen degradable protein requirement (RDP_{req})[1]	1,275	1,276	0.91	0.9556
Rumen degradable protein supply (RDP_{sup})[2]	752	717	2.38	0.0001
Excess/deficit	-523	-559	6.53	0.0316
Microbial crude protein (MCP)[3]	1,084	1,085	7.57	0.9555
Metabolizable protein requirement (MP_R)[4]	1,392	1,273	30.20	0.0640
Rumen undegradable protein requirement (RUP_{req})[5]	1,192	964	50.34	0.0363
Rumen undegradable protein supply (RUP_{sup})[6]	1,060	1,036	5.93	0.0598
Excess/deficit	-132	72	46.92	0.0434

[1] $RDP_{req} = 0.15294 \times TDN_{Actual}$; [2] RDP_{sup} = from Table 6.6; [3] MCP = 0.85 RDP; [4] $MP_R = MP_{RUP} + MP_{Bact} + MP_{Endo}$; [5] $RUP_{req} = MP_{RUP}/0.528$; [6] RUP_{sup} = from Table 6.6); (NRC, 2001); SEM = standard error of the mean

Table 6.8 Energy requirements and energy supply

Item	Control	Amla	SEM	P value
	…(Mcal/day)…			
Net energy intake (NE_L intake)	18.94	19.26	0.11	0.0282
NE requirement for maintenance (NE_{LM})	7.45	7.37	0.14	0.7505
Net energy requirement for lactation (NE_{LL})	10.30	9.50	0.26	0.1459
Net energy requirement for gain (NE_{LG})	0.76	0.78	1.66	0.9549
Net energy retention (NE_{LR})	18.51	17.65	0.36	0.2392
Efficiency of NE utilization	0.98	0.92	0.03	0.5269

NE_{LM} = 0.80$LW^{0.75}$; NE_{LL} = (0.0929 x %Fat) + (0.0547 x %Prot. + (0.0395 x %Lact.); NE_{LG} = Reserve energy x (0.64/0.75); NE_{LR} = NE_{LM} ± NE_{LG} + NE_{LL}; Efficiency of NE utilization = NE_{LR}/ NE_L intake; (NRC, 2001) SEM = standard error of the mean

6.5 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการใช้ใบและก้านของมะขามป้อม ในอาหารโคนม ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตโคนม ต่อการกินได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง และการประมาณค่าโปรตีนและพลังงานของโคนมที่ได้รับจากอาหาร พบว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม มีปริมาณการกินได้ของโปรตีนในอาหารข้น และปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารรวม เท่ากัน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P>0.05) ส่วนปริมาณการกินได้โภชนะอื่นๆ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า การใช้ใบและก้านของมะขามป้อม ในอาหารโคนม ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตโคนม คือไม่สามารถเพิ่มปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมได้

บทที่ 7
การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมก้านและใบมะขามป้อมต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคนม

7.1 บทนำ

มะขามป้อมมีองค์ประกอบของสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่าสารจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส และยังพบว่าสารหลายชนิดจากส่วนต่างๆของมะขามป้อม สามารถนำมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคนมได้ การนำใบและก้านของมะขามป้อมมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก อาจทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เพิ่มจำนวนขึ้น การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์ใช้อาหารข้นผสมก้านและใบมะขามป้อมให้โคนมได้รับ และศึกษาระดับความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยง่าย รวมทั้งชนิดและปริมาณของประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารดังกล่าว

7.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการใช้อาหารข้นผสมก้านและใบมะขามป้อมต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคนม

7.3 อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาการใช้อาหารข้นผสมก้านและใบมะขามป้อมต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและการหมักย่อยในกระเพาะรูเมนของโคนม ในโคนมเจาะกระเพาะลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชียน (Crossbred Holstein Friesian)

7.3.1 สัตว์ทดลองและการจัดการ

ใช้โคเจาะกระเพาะลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชี่ยนจำนวน 4 ตัว โดยใช้แผนการทดลองแบบเปลี่ยนสลับ (Cross-over design or Simple change-over design) โดยแยกสัตว์คอกละ 1 ตัว ซึ่งโคทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ตัวคือ กลุ่มที่ได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม และกลุ่มควบคุม (อาหารข้นปกติ)

7.3.2 อาหารและการให้อาหาร

โคเจาะกระเพาะจะถูกเลี้ยงขังคอกๆ ละ 1 ตัว ใช้เวลาในการปรับตัวโคให้เข้ากับอาหารเป็นระยะเวลา 5 วันจากนั้นก็ทำการให้อาหารทดลองต่อไปอีก 7 วัน ก่อนทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ โดยโคกลุ่มควบคุมให้อาหารข้นโปรตีน 16% วันละ 3 กิโลกรัมต่อตัว โดยแบ่งให้เป็น 2 มื้อๆ ละ 1.5

กิโลกรัม (09.00 และ 16.00) เมื่อโคกินอาหารข้นหมดแล้ว ให้อาหารหยาบซึ่งเป็นพืชหมักอย่างเต็มที่ (*ad libitum*)

สำหรับโคเจาะกระเพาะกลุ่มทดลองจะได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม วันละ 3 กิโลกรัม โดยจะแบ่งให้อาหารออกเป็น 2 มื้อๆละ 1.5 กิโลกรัม โดยจะเริ่มปรับสัตว์ทดลองดังนี้

(1) วันที่ 1-3 ให้อาหารสูตรเสริมก้านและใบมะขามป้อม 0.75 กิโลกรัมร่วมกับสูตรอาหารข้นเดิมที่โคกิน 0.75 กิโลกรัม รวมเป็นมื้อละ 1.5 กิโลกรัมและวันละ 2 มื้อ หลังจากโคกินอาหารข้นหมดให้อาหารหยาบอย่างเต็มที่

(2) วันที่ 4-5 ให้อาหารสูตรเสริมก้านและใบมะขามป้อมมื้อละ 1.5 กิโลกรัมวันละ 2 มื้อ หลังจากโคกินอาหารข้นหมดให้อาหารหยาบอย่างเต็มที่

(3) ระยะทดลองให้อาหารสูตรเสริมก้านและใบมะขามป้อมวันละ 3 กิโลกรัม วันละ 2 มื้อ หลังจากโคกินอาหารหมดให้อาหารหยาบอย่างเต็มที่

ส่วนโคกลุ่มควบคุมจะได้รับอาหารสูตรปกติ (โปรตีน 16%) วันละ 2 มื้อๆละ 1.5 กิโลกรัม หลังจากที่โคกินอาหารข้นหมด ให้อาหารหยาบอย่างเต็มที่ โดยเมื่อทดลองในระยะแรกเสร็จแล้วนั้นจะทำการสลับกลุ่มโค โดยจะทำการพักโค 1 สัปดาห์แล้วทำการปรับสัตว์ใหม่ตามหัวข้อ 7.3.2

7.3.3 การเก็บข้อมูล

(1) ของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid)

โดยจะเก็บตัวอย่างในวันที่ 13 ของการทดลอง (ระยะเวลาในการปรับสัตว์ 5 วันและการทดลอง 7 วัน) ทำการเก็บของเหลวในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะทั้ง 4 ตัว หลังจากการให้อาหาร 6 ชั่วโมง โดยใช้ท่อทองเหลืองที่มีรูพรุนหุ้มด้วยถุงไนล่อน จุ่มแช่ในกระเพาะหมัก ก่อนที่จะใช้กระบอกฉีดยาทำการดูดน้ำย่อยในกระเพาะหมักออกมาประมาณ 50 มิลลิลิตร บรรจุลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

การวัดค่าความเป็นกรด –ด่าง จะทำการวัดระดับความเป็นกรด – ด่างของของเหลวในกระเพาะหมักทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) อย่างไรก็ตาม การการวัดระดับความเป็นกรด – ด่าง เครื่องวัดจะต้องได้รับการปรับ (calibrate) ด้วยการใช้ buffers ที่ pH 7.0 และ pH 4.0 เสียก่อน

การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมัก (rumen ammonia; mg NH_3-N/litre) ใช้หลอดทดลองที่มีฝาบิด (test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอลิก (6 N) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วนของเหลวจากกระเพาะหมัก 10 ส่วนต่อ 6 N HCl 1 ส่วน) เพื่อเก็บรักษาและเป็นการหยุดชะงักกิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากนั้นนำหลอดทดลองไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะส่วนของเหลวใส (supernatant) ลงในหลอดทดลองขนาด 25

มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาเกลียวให้สนิท นำไปเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -18 °C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจนโดยวิธี Kjedahn ต่อไป

การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids) ใช้หลอดทดลองชนิดมีฝาจุก (test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอลิก (6 N) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วนของเหลวจากกระเพาะหมัก 10 ส่วนต่อ 6 N HCl 1 ส่วน) เพื่อเก็บรักษาและเป็นการหยุดชะงักกิจหรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ปิดฝาจุกให้แน่นก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที จากนั้นดูดเอาเฉพาะส่วนของเหลวใส (supernatant) ลงในหลอด 25 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 18 °C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ volatile fatty acids ชนิดต่างๆด้วยเครื่อง Gas Chromatography ต่อไป

Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคสำหรับแยกสารตัวอย่างที่เป็นสารผสม โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง แล้วให้ไอของสารเหล่านั้นผ่านเข้าไปยัง column ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ carrier gas องค์ประกอบของสารผสมที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่และการกระจายตัวผ่านเฟสคงที่ต่างกันจะแยกออกจากกัน โดยองค์ประกอบภายในเครื่องในการวิเคราะห์ สารผสมตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าที่ sample injection port แล้วสารผสมจะถูกให้ความร้อนจนกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไปใน column ด้วยเฟสเคลื่อนที่ องค์ประกอบของสารผสมจะแยกออกจากกันเมื่อเคลื่อนผ่าน column และถูกตรวจวัดโดย detector สัญญาณการตรวจวัดที่ได้จาก detector จะถูกบันทึกและแสดงออกมาในรูปของ chromatogram

(2) จุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

เก็บตัวอย่าง (Rumen digesta) หลังจากให้อาหาร 6 ชั่วโมง (ให้อาหารเช้าเวลา 9.00 และทำการเก็บตัวอย่างเวลา 15.00) โดยก่อนทำการเก็บต้องทำความสะอาดมือและใส่ถุงมือจากนั้นทำการเปิดจุกยางที่ปิดกระเพาะส่วนรูเมนของโคเจาะกระเพาะออก แล้วทำการเก็บเอาอาหารที่กำลังหมักย่อย (Rumen digesta) ในกระเพาะหมัก (Rumen) ซึ่งสุ่มเก็บเอาจากตำแหน่งต่างๆในกระเพาะรูเมนอย่างทั่วถึง ประมาณ 75 กรัมในโคทั้ง 4 ตัว (กลุ่มทดลอง 2 ตัวและกลุ่มควบคุม 2 ตัว) แล้วบรรจุลงในถุงพลาสติค รัดด้วยยางยืดให้มิดชิด จากนั้นนำเอาถุงพลาสติกที่บรรจุด้วย rumen digesta.ใส่ลงไปใน anaerobic jar จากนั้นใส่ anaeropack เพื่อที่จะดูดเอาอ๊อกซิเจนภายใน anaerobic jar ออก พร้อมกับสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อทำให้สภาพภายใน anaerobic jar เป็นสภาพไร้อ๊อกซิเจน แล้วรีบนำ digesta ที่บรรจุใน anaerobic jar ไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อทำการศึกษาจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

(3) โปรโตซัวในกระเพาะหมัก

จะเก็บตัวอย่างหลังจากการให้อาหารตอนเช้า 6 ชั่วโมงโดยก่อนเก็บต้องทำความสะอาดมือและใส่ถุงมือจากนั้นทำการเปิดจุกยางที่ปิดกระเพาะส่วนรูเมนของโคเจาะกระเพาะออก แล้วทำการเก็บเอาของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid) ซึ่งสุ่มเก็บเอาจากตำแหน่งต่างๆในกระเพาะรูเมน

ปริมาณ 1 มิลลิลิตรแล้วนำมาผสมกับ normal saline (10% (V/V) formaldehyde solution ใน 0.85 % (W/V) sodium chloride 9 มิลลิลิตร เพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของโปรโตซัวแล้วนำไปตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า

7.3.4 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

(1) การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ PDA (Potato Dextrose Agar), MSA (Mitis salivarius Agar), SFP Agar (Streptococcus selective agar), MRS Agar (Man-Rogosa agar หรือ Lactobacillus selective agar) โดยชั่งผงอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ลงในน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือด คนเป็นระยะเพื่อให้ผงวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อละลาย เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อละลายเข้ากันกับน้ำกลั่นดีแล้วให้ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงแล้วทำการปรับ pH ตามชนิดของอาหาร นำไปบรรจุลงในขวดแก้วทนความร้อนเพื่อนำไปนึ่งในหม้อความดัน (auto clave) ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคยกเว้นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS Agar ที่ไม่ต้องทำการฆ่าเชื้อโรค จากนั้นทิ้งไว้ให้อุ่น (ไม่ควรทิ้งอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้เย็นเกินไปเพราะจะทำให้วุ้นแข็งตัว) นำไปเทในจานเลี้ยงเชื้อ (plate) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ฆ่าเชื้อด้วยการอบที่ 180 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง) จำนวน 8 plate/ 1 ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดที่เตรียมไว้จะถูกนำไปใช้ในการเลี้ยงเชื้อที่ได้จากโค 4 ตัวๆละ 2 ซ้ำต่อชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นในแต่ละวันจะต้องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิดจำนวน 32 plate

(2) การเตรียม rumen digesta

เตรียม rumen digesta โดยการชั่ง rumen digesta น้ำหนัก 50 กรัม ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่แล้วนำน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค (โดยการนึ่งในหม้อความดัน (auto clave) ที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที) ใส่ลงไปปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วทำการผสม rumen digesta กับน้ำกลั่นให้เข้ากันจากนั้นปิเปตของเหลวในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำของเหลวที่ ปิเปตได้ไปใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเมื่อของเหลวรวมกับน้ำกลั่นในหลอดทดลองจะได้ปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางต่อจนได้ความเข้มข้นเป็น 10^{3} เท่า

(3) การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ Spread plate

นำของเหลวที่ได้จาก rumen digesta ที่ทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 10^{3} เท่าไปใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้แล้ว ทำในตู้ดูดอากาศ (laminar flow) โดยปิเปตของเหลวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ เกลี่ยของเหลวที่ใส่ลงไปให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้วพิเศษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (spreader) แล้วบรรจุจานเลี้ยงเชื้อที่ได้ลงในถุงพลาสติกโดยจะบรรจุด้วยการคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง เพื่อป้องกันหยดน้ำหยดใส่โคโลนี (colony) ของจุลินทรีย์ที่เพาะเชื้อ ซึ่งอาจจะทำให้ไม่สามารถตรวจนับ colony ของจุลินทรีย์ได้ ใส่แผ่น anaeropack 1 แผ่นลงในถุงพลาสติกเพื่อดูดออกซิเจนภายในถุงออกให้หมด ซึ่งจะทำให้ในถุงพลาสติกเป็นสภาพไร้ออกซิเจน

จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตรวจนับ colony ของจุลินทรีย์โดยเครื่องตรวจนับ colony แล้วบันทึกผล

(3) การตรวจนับ colony ของจุลินทรีย์

เมื่อทำการบ่มเชื้อที่ 37 ° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงครบแล้ว ก็นำเอาจานเพาะเลี้ยงเชื้อออกมาตรวจนับ colony ของจุลินทรีย์ โดยเครื่องตรวจนับ colony จุลินทรีย์ โดยเทคนิคในการตรวจนับนั้นจะใช้ปากกาจุดตรง colony ที่นับแล้วเพื่อป้องกันการนับซ้ำ และใช้ hand counter ช่วยในการบันทึกข้อมูล จากนั้นจดบันทึกข้อมูล

(4) การตรวจนับโปรโตซัว

นำของเหลวจากรูเมนที่ผสมอยู่ใน Normal saline (10% (V/V) มาตรวจนับโปรโตซัว โดยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งใช้วิธีการ hematocrit ในการช่วยนับ คือ หยดของเหลวลงบน hemacytometer จากนั้นนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า ตรวจนับปริมาณโปรโตซัว แล้วบันทึกผล

7.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลชนิดและปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณโปรโตซัว, ระดับ pH, NH_3-N และปริมาณ Volatile fatty acids ที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธี F-test ซึ่งวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1988)

7.4 ผลการทดลอง

7.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนประกอบของวัตถุดิบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 7.1 และ 7.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อมมีค่าใกล้เคียงกัน และมีองค์ประกอบที่ใช้ในอาหารโคนมโดยทั่วๆ ไป (NRC, 2001)

7.4.2 การกินได้วัตถุแห้งและโปรตีนของโคนมทดลอง

โคนมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมใบและก้านมะขามป้อมมีการกินได้วัตถุแห้งและโปรตีนไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7.3)

7.4.3 ผลต่อ pH ในกระเพาะหมัก

ผลของการเสริมก้านและใบมะขามป้อมต่อระดับของ pH ในกระเพาะหมักของโคแสดงไว้ในตารางที่ 7.4 โดยพบว่าหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง ของของเหลวจากกระเพาะหมักของโคกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับอาหารที่เสริมมะขามป้อมนั้นเท่ากับ 6.60 และ 6.61 ตามลำดับ

7.4.4 ผลต่อปริมาณของโปรโตซัวและจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ผลของการเสริมก้านและใบมะขามป้อมต่อปริมาณโปรโตซัว รวมทั้งชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักแสดงไว้ในตารางที่ 7.5 จากการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณโปรโตซัว (P>0.05) ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรโตซัวเท่ากับ 2.12×10^4 และ 2.06×10^4 ในกระเพาะหมักของกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อมตามลำดับ

ปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobaccillus sp* นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ค่าเฉลี่ยของปริมาณ *Lactobaccillus sp* เท่ากับ 36.31×10^5 และ 21.75×10^5 ของกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อมตามลำดับ

ปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่ม *Clostridium sp.* นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณ *Clostridium sp.* เท่ากับ 11.37×10^5 และ 16.31×10^5 ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *Streptococcus sp.* และ *Aspergillus sp.*ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *Streptococcus sp.* เท่ากับ 80.44×10^5, 75.81×10^5 และกลุ่ม *Aspergillus sp.* เท่ากับ 28.93×10^5, 31.75×10^5 ในกระเพาะหมักระหว่างกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อมตามลำดับ

7.4.5 ผลต่อปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ในกระเพาะหมัก

ตารางที่ 7.6 แสดงระดับของแอมโมเนียไนโตรเจน ในของเหลวจากกระเพาะหมักของโคหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนนั้นเท่ากับ 10.71 และ 12.66 mg NH_3-N/litre ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม ตามลำดับ

7.4.6 ผลต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids, VFAs) ในกระเพาะหมัก

ตารางที่ 7.7 แสดงค่าความเข้มข้นกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ของโคที่ได้รับสูตรอาหารข้นปรกติและสูตรอาหารข้นที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม ค่าความเข้มข้นของกรดอะซิติค (acetic acid, C_2) หลังให้อาหารที่ 6 ชั่วโมงพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของโคทั้ง 2 กลุ่ม (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยความเข้มข้นกรดอะซิติคเท่ากับ 66.10 และ 67.82 mol/100 ml ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม ตามลำดับ

ค่าความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิก (propionic acid, C_3) หลังให้อาหารที่ 6 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 19.20 และ 18.96 mol/100 ml ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อมตามลำดับ

ค่าความเข้มข้นของกรดบิวทีริค (butyric acid, C_4) หลังให้อาหารที่ 6 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกรดบิวทีริค เท่ากับ 15.43 และ 13.21 mol/100 ml ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม ตามลำดับ

สัดส่วนกรดอะซีติคต่อกรดโพรพิโอนิค (C_2:C_3) หลังจากให้อาหาร 6 ชั่วโมงพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยค่าเฉลี่ยของกรดอะซีติคต่อกรดโพรพิโอนิคเท่ากับ 3.4 และ 3.5 ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับและได้รับสูตรอาหารที่เสริมก้านและใบมะขามป้อม ตามลำดับ

Table 7.1 Ingredient composition of the diets

Ingredients	Control	Amla
Cassava pulp	33.4	33.4
Rice bran	16.0	16.0
Dried brewers' grain	12.0	12.0
Mung bean meal	8.0	8.0
Oil palm meal	18.0	0.0
Ground amla leaves/branches	0.0	18.0
Molasses	8.0	8.0
Urea	1.8	1.8
Mineral mix + Premix[1]	3.0	3.0

[1] (2.5 kg mineral mix + 0.5 kg premix) Provided per kg of concentrate: vitamin A, 5,000 IU; vitamin D_3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca 8.5 g; P 6 g; K 9.5 g; Mg 2.4 g; Na 2.1 g; Cl 3.4 g; S 3.2 g; Co 0.16 mg; Cu 100 mg; I 1.3 mg; Mn 64 mg; Zn 64 mg; Fe 64 mg; Se 0.45 mg.

Table 7.2 Chemical composition of the diets.

Item	Control[1]	Amla	Corn silage
	---------------------------------% of DM	--------------------------------	
Dry matter	94.64 ± 0.45	95.67 ± 0.30	28.68 ± 0.00
Crude protein	17.33 ± 0.15	17.46 ± 0.14	7.20 ± 0.02
Ether extract	3.9 ± 0.12	3.1 ± 0.08	1.32 ± 0.14
Ash	7.01 ± 0.04	7.03 ± 0.01	17.89 ± 1.12
Crude fiber	16.10 ± 0.11	17.71 ± 0.02	27.60 ± 0.21
Neutral detergent fiber	45.55 ± 1.37	44.48 ± 0.80	61.32 ± 0.11
Acid detergent fiber	24.35 ± 0.17	27.70 ± 0.62	36.13 ± 0.15
Acid detergent lignin	6.33 ± 0.14	6.64 ± 0.08	2.58 ± 0.09

Table 7.3 Effect of amla leaves and branches supplementation on DM and CP intake of rumen fistulated non-lactating dairy cows.

Item	Control	Amla	SEM	P-value
DM intake (kg/d)				
Concentrate	2.84	2.87	-	-
Corn silage	3.18	3.24	0.10	0.7456
Total	6.02	6.11	0.11	0.7452
CP intake (g/d)				
Concentrate	492	501		
Corn silage	229	233	8.46	0.7427
Total	721	734	8.47	0.7424

Table 7.4 Levels of pH in the rumen of dairy cows

h	Control	Amla	SEM	P - value
1	6.83	6.73	0.15	0.49
2	6.72	6.64	0.12	0.32
3	6.63	6.64	0.12	0.40
4	6.47	6.55	0.11	0.24
5	6.49	6.51	0.09	0.59
6	6.56	6.55	0.15	0.59

SEM = standard error of the mean

Table 7.5 Microbes in the rumen of dairy cows

Item	Control	Amla	SEM	P - value
Lactobaccillus sp. (cfu/g digesta)	36.31×10^5	21.75×10^5	4.6×10^5	0.55
Clostridium sp. (cfu/g digesta)	11.37×10^5	16.31×10^5	2.3×10^5	0.20
Streptococcus sp. (cfu/g digesta)	80.44×10^5	75.81×10^5	17.1×10^5	0.93
Aspergillus sp. (cfu/g digesta)	28.93×10^5	31.75×10^5	4.6×10^5	0.59
Protozoa (/g digesta)	2.12×10^4	2.06×10^4	0.24×10^4	0.59

SEM = standard error of the mean

Table 7.6 NH_3-N (mgNH_3-N/litre) in the rumen of dairy cows

h	Control	Amla	SEM	P - value
6	10.71	12.66	0.98	0.51

SEM = standard error of the mean

Table 7.7 VFAs (mol/100 ml) in the rumen of dairy cows

Item	Control	Amla	SEM	P - value
Acetic acid	66.10	67.82	0.86	0.61
Propionic acid	19.20	18.96	0.81	0.89
Butyric acid	15.43	13.21	0.90	0.52
A:P	3.4	3.5	0.15	0.84

SEM = standard error of the mean

7.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาผลของการใช้ส่วนของพืช สารสกัดจากพืชและน้ำมันหอมระเหยจากพืช ต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก โดยส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ในขณะที่การทดลองในตัวสัตว์นั้นมีน้อยมาก งานวิจัยครั้งนี้ระดับความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของแอมโมเนีย และกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะหมัก ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้อาหารข้นที่เสริมใบและก้านมะขามป้อม ผลการทดลองเช่นเดียวกันได้รายงานการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (Benchaar et al., 2006) และในตัวสัตว์ (Cordozo et al., 2006) Cordozo et al. (2006) พบว่า anise oil (2 g/d), capsicum oil (1 g/d), และส่วนผสมของ cinnamaldehyde (0.6 g/d) และ eugenol (0.3 g/d) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ruminal pH, total VFA concentration, และ butyrate proportion อย่างไรก็ตาม การใช้ cinnamaldehyde (0.6 g/d) และ eugenol (0.3 g/d) สามารถลด ($P < 0.05$) ความเข้มข้นของ ammonia N และเพิ่ม ($P < 0.05$) สัดส่วนของ propionate นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ anise oil สามารถลด ($P < 0.05$) acetate to propionate ratio, branched-chain VFA และความเข้มข้นของ ammonia N ชนิดและประชากรของจุลินทรีย์ในงานวิจัยครั้งนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางตรงกันข้ามกับงานวิจัยครั้งนี้ Cordozo et al. (2006) รายงานว่า ส่วนผสมของ cinnamaldehyde (0.18 g/d) และ eugenol (0.09 g/d) สามารถเพิ่ม ($P < 0.05$) ประชากรของ holotrichs ในขณะที่ anise oil ลด ($P < 0.05$) ประชากรของโปรโตซัว Lovett et al. (2006) รายงานว่า ความเข้มข้นของ total volatile fatty acid (VFA) ในของเหลวในกระเพาะหมักจะต่ำกว่า เมื่อใช้สารสกัด *Yucca schidigera* extract เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และจำนวนโปรโตซัวในกระเพาะหมักจะลดลงเป็นเส้นตรง ($P < 0.01$) ตามระดับของความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Busquet et al. (2006) ใช้สารสกัดจากพืช 12 ชนิด และสารเมแทบอไลส์ทุติยภูมิจากพืช 6 ชนิด ในระดับที่แตกต่างกัน ทำการบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในของเหลวในกระเพาะหมักผสมกับอาหารที่มีสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบ 50: 50 กลุ่มการทดลองประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (no additive), สารสกัดจากพืช (anise oil, cade oil, capsicum oil, cinnamon oil, clove bud oil, dill oil, fenugreek, garlic oil, ginger oil, oregano oil, tea tree oil, and yucca), และสารเมแทบอไลส์ทุติยภูมิจากพืช (anethol, benzyl salicylate, carvacrol, carvone, cinnamaldehyde, and eugenol) ในแต่ละกลุ่มการทดลองจะเสริม culture fluid ที่ระดับ 3, 30, 300, และ 3,000 mg/L ที่ระดับ 3,000 mg/L กลุ่มการทดลองส่วนใหญ่สามารถลดความเข้มข้นของ total volatile fatty acid (TVFA) แต่ cade oil, capsicum oil, dill oil, fenugreek, ginger oil, และ yucca ไม่มีผลทำให้ความเข้มข้นของ TVFA แตกต่างจากกลุ่มควบคุม Patra et al. (2006) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืช 5 ชนิด (*Acacia concinna, Terminalia chebula, Terminalia belerica, Emblica officinalis* (amla) และ *Azadirachta indica* ในสารละลายชนิดต่างๆ (ethanol, methanol และ water) ต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก Total volatile fatty acids (TVFA) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อใช้สารสกัดจาก *T. chebula* และ *A. Indica* ในขณะที่ *Emblica officinalis* (amla) ไม่มีผล

ต่อ TVFA และ total protozoa counts ผลการทดลองที่มีรายงานมาข้างต้นนั้นผันแปร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สารสกัดจากพืช และชนิดของน้ำมันหอมระเหย ดังนั้นยังต้องทำการวิจัยเพิ่มเติมก่อนที่จะสามารถสรุปผลได้ และควรทำการทดลองในตัวสัตว์โดยเฉพาะในโคนม

7.6 สรุปผลการทดลอง

การใช้ใบและก้านมะขามป้อมผสมในอาหารสำหรับโคนม ไม่ส่งผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก และไม่ส่งผลต่อชนิดและปริมาณของโปรโตซัวในกระเพาะหมัก

เอกสารอ้างอิง

กังวาน ธรรมแสง. (2546). การประเมินคุณค่าทางอาหารของหญ้าอาหารสัตว์เขตร้อนบางชนิด เพื่อทำนายผลผลิตของโคนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ฉลอง สนิทวงศ์ ณ อยุทธยา เฉลิมพล บุญเจือ และ อุดมศรี อินทรโชติ. (2541) การใช้กากเนื้อในเมล็ดปาล์มเป็นอหารเสริมสำหรับโคนม. (ออนไลน์). ได้จาก http://www.dld.go.th/nutrition/exhibision/RESEARCH/research_full/2543/R4311.doc

ชวนิศนดากร วรวรรณ, ม.ร.ว. (2534). การเลี้ยงโคนม. จำนวน 3000 เล่ม. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช: กรุงเทพฯ.

พวงน้อย โลหะขจรพันธ์. (2521). การศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสมุนไพรบางชนิด.วิทยานิพนธ์. เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เมธา วรรณพัฒน์. (2533). โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยของแก่น. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2531). พจนานุกรมสมุนไพรไทย. โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพมหานคร.

วิโรจน์ ภัทรจินดา. (2546). โคนม. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Aldrich, J.M., L. D. Muller, G. Varga and L.C. Griel. (1993). Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 76: 1091-1102.

Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official Method of Analysis. Washington D. C. 1298p.

Association of Official Analytical Chemists. (1998). Official Method of Analysis. Washington D. C. 1298p.

Benchaar, C., H. V. Petit, R. Berthiaume, T. D. Whyte and P. Y. Chouinard. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. J. Dairy Sci. 89(11): 4352-4364

Broudiscou, L. P., Y. Papon and A.F. Broudiscou. 2000. Effect of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes, Anim. Feed Sci. Technol. 87 (2000), pp. 263–277.

Broudiscou, L. P., Y. Papon and A. F. Broudiscou. 2002. Effects of dry plant extracts on feed degradation and production of rumen microbial biomass in a dual out flow fermenter, Anim. Feed Sci. Technol. 101: 183–189.

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

Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet J. Anim. Sci. 84 (10): 2801-2808

Claypool, H. R., W. P. Weiss, W. O. Odwongo and W. L. Shockey. (1980). Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. J. Dairy Sci. 67: 427-437.

Dhar, M.L., M. M. Dhar, B. N. Dhawan, B. N. Mehrotra and C. Ray. (1968). Screening of Indian plants for biological activity. Indian J. Exp. Biol. 6:232-247.

Egan, A. R. and R. J. Moir. (1965). Nutritional status and intake regulation in sheep. I. Effects of duodenally infused single dose of casein, urea and propionate upon voluntary intake of low protein roughage by sheep. Aust. J. Agr. Res. 16: 437-449.

Firkins, J. L., Z. Yu and M. Morrison. 2007. Ruminal Nitrogen Metabolism: Perspectives for Integration of Microbiology and Nutrition for Dairy. J Dairy Sci 2007 90: E1-16E.

Forbes, J. M. (1986). The voluntary food intake of farm animal. Butterworths. London.

Gaynor, P. J., D. R. Waldo, A. V. Capuca, R. A. Erdman and L. W. Douglass. (1995). Effects of prepubertal growth rate and diet on lipid metabolism in lactating hostein cows. J. Dairy Sci. 78: 1534-1543.

Grant, R. (2000). Evaluating the feeding value of fibrous feed for dairy cattle. (Online). Available: http://www.ianr.unl.edu/pubs/Dairy/g91-1034.htm.

George, M. and K. M. Pandalai. (1979). Investigations on plant antibiotics. IV. Further search for antibiotic substances in Indian medical plants. Indian J. Med. Res. 37:169-181.

Goering, H. K. and P. J. Van Soest. (1970). Forage Fibre Analysis. A RS./USDA Agric. Handbook, Washington.

Gupta, S. C. and R. S. Bilgrami. (1970). Inhibitory effect of some plant decoctions on the production and activity of cellulolytic (GX) enzyme of the pathogenic fungi. Proc. Nat. Acad. Sci. India Sert. B. 40(1):6-8.

Hayes, P. M., D. Prehn, H. Vivar, T. Blake, A. Comeau, I. Henry, M. Tohnston, B. Jones, and B. Steffenson. (1996). Multiple disease resistance loci and their relationship to agronomic and quality loci in a spring population. J. Quant. Trait Loci [online]. http:// probe. Nalusda. Gov. 8000/ otherdocs/ jgtl/ idex. htm.

Henderson, C., C. S. Stewart and F. V. Nakrep. (1981). The effect of monensin on pure and mixed culture of rumen bacteria. J. Appl. Bacteriol. 15: 159.

Hui, W. H. and M. L.Sung. (1968). An examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. II. The occurrenceof epitaraxerol and other triterpenoids. Aust. J. Chem. 21:2137.

Jain, S. P. and H. S. Puri. (1984). Ethnomedical plants of Jaunsar-Bawar hills, Uttar Pradesh, India. Journal of Ethnopharmacology. 12(2):213-222.

Kamra, D.N., R. Singh, N. Agarwal and N.N. Pathak. 2000. Soapnut (Reetha) as natural defaunating agent – its effect on rumen fermentation and in sacco degradability of jowar hay in buffaloes. Buffalo J. 16: 99–104.

Kennelly, Z., K. C. Chon and K. C. Nah. (2000). Cassava, a total substitute for cereals in livestock and poultry ratios. Ruminant Nutrition: selected articles from World Animal Review, FAO. 155-160.

Khanna, P. and R. Bansal. (1975). Phyllantidine and phyllantine from Emblica officinalis leaves, fruits and in vitro tissue cultures. Indian J. Exp. Biol. 13:82-83.

Khanna, P., R. Taparia and S. C. Jain. (1982). Flavonoids from Emblica officinalis Gaertn tissue cultures. Indian J. Bot. 5(1):43-44.

Koenig, K. M., C. J. Newbold, F. M. McIntosh, and L. M. Rode. 2000. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. J. Anim. Sci. 78:2431–2445.

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

Lovett, D. K., L. Stack, S. Lovell, J. Callan, B. Flynn, M. Hawkins, and F. P. O'Mara. 2006. Effect of feeding Yucca schidigera extract on performance of lactating dairy cows and ruminal fermentation parameters in steers Livest. Sci. 102 (1-2): 23-32

Nag, T. N. and P. Khanna. 1973. Effect of phenylalanine and glucose on growth and phyllemblin production in Embilica off icinalis tissue culture.Indain J.Pharmacy.35(1):23-25

Nakanishi, K., S. I. Sasaki and A. K. Kiang. (1965). Phytochemical survey of Malaysian plants. Preliminary chemical and pharmacological screening. Chem. Pharm. Bull. 13:882-890.

National Research Council. (1988). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 4Ed. National academy press. Washington D.C.

National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7 th Ed. National academy press. Washington D.C. 340 p.

ørskov, E. R., F. N. Deb Hovell, and F. Mould. (1980). The use nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Tropical Animal Production. 5 : 195-213.

ørskov, E. R. and I. McDonald. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science. 92 : 499-503.

Patra, A. K., D. N. Kamra' and N. Agarwal. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. Anim. Feed Sci. Technol., 128(3-4): 276-291.

Poos, M. I., T. L. Hanson and T. J. Hopfenstein. (1979). Monensin effects on diets digestibility. Preston, T.R. and R. A. Leng. (1987). Matching Ruminant Production Systema with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Penambul Books, Armidale, Australia. 245.

Preston, T. R. and R. A.Leng. 1987. Matching Ruminant Production Systema with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Penambul Books, Armidale, Australia 245p.

Ram, S. and R. T. Raja. (1978). Studies on the naturally occuring gibberellins in aonla (*Emblica officinalis* Gaertn.) fruit. New Phytol. 81(3):513-517.

Ray, P.G. and S. K. Majumdar. (1976). Antimicrobial activity of some Indian plants. Econ. Bot. 30:317-320.

Schelling, G. T. (1984). Monensin mode of action in the rumen, J. Anim. Sci. 58-1518.

Sliwinski, B. J., C. R. Soliva, A. Machmüller and M. Kreuzer. 2002. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation, Anim. Feed Sci. Technol. 101: 101–114.

Spears, J. W. (1990). Ionophores and nutrient digestion and absoption in ruminants. J. Nutr. 120: 632-638.

Spike, T.E. (1996). Extracting more nutrients from poor forage diets with rumensin. Elanco Animal Health, Greenfield, Indiana, USA. (A lecture note)

Statistical Analysis System. (1988). SAS User' Guide: Statistics. NC: SAS Institute.

SAS/STAT User's Guide, 1996. 4th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Subramanian, S.S., S. Nagarajan and N. Sulochana. (1971). Flavonoids of some Euphorbiaceous plants. Phytochemistry. 10:2548-2549.

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

Thakara, R.P. (1980). Studies on the antibacterial activity of some plant extracts. Indian Drugs. 17:148.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nostrach polysaccharides in relation to animal production. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.

Yang, W.Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj, A. V. Chaves, M. L. He, and T. A. McAllister. 2007. Effects of Garlic and Juniper Berry Essential Oils on Ruminal Fermentation and on the Site and Extent of Digestion in Lactating Cows. J. Dairy Sci. 90:5671–5681.