

ผลของระดับฝักแคบ้านต่อกระบวนการหมักในห้องปฏิบัติการ และประชากรโปรโตซัวโดยใช้เทคนิคการผลิตแก๊ส

Effects of *Sesbania grandiflora* doses on in vitro rumen fermentation and
protozoal population using a gas production technique

อนุสรณ์ เชิดทอง^{1*}, กมลมาศ ดาแก้ว¹, สายัณห์ คันธรินทร์¹, เบญจมาศ คนแข็ง¹,
ชนะดล สุภาพงษ์¹ และ ดวงฤทัย สวรรค์ทอง¹

Anusorn Cherdthong^{1*}, Gamonmas Dageaw¹, Sayan Khantharin¹,
Benjamad Khonkhaeng¹, Chanadol Supapong¹ and Duangruethai Sawanthong¹

บทคัดย่อ: การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมฝักแคบ้านต่อจลศาสตร์การผลิตแก๊ส การย่อยได้ กระบวนการหมักและจำนวนประชากรของโปรโตซัว ในกระเพาะรูเมนที่ศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยวางแผนการทดลอง เป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แบ่งเป็น 6 ปัจจัยการทดลอง ได้แก่ ระดับการเสริมฝักแคบ้าน ที่ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 mg ของสับสเตรต จากผลการทดลองพบว่า จลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สในหลอด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบจาก กระบวนการหมักในหลอดทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับของการเสริม ($P<0.01$) การเสริมฝักแคบ้านที่ระดับ 0.25 mg ส่งผลให้ค่าระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบแห่งสูงสุด คือ 15.34 mg% และ 53.00% DM ตามลำดับ นอกจากนี้ การเสริมฝักแคบ้านที่ระดับ 0.25 mg ทำให้จำนวนประชากรของโปรโตซัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($P<0.01$) ดังนั้นการเสริมฝักแคบ้านที่ระดับ 0.25 mg สามารถเพิ่มระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน และ ความสามารถในการย่อยได้ ในขณะที่จำนวนประชากรของโปรโตซัวมีค่าลดลงได้

คำสำคัญ: ฝักแคบ้าน กระบวนการหมัก การผลิตแก๊ส การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ABSTRACT: The aim of this experiment was to study effect of *Sesbania grandiflora* dose supplementation on kinetics of gas, in vitro digestibility, rumen fermentation and protozoal population using in vitro gas production technique. The experimental design was a completely randomized design (CRD). Dietary treatments were various doses of *S. esbania grandiflora* supplementation at 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mg dry matter (DM) basis of substrate. The results demonstrated that *S. grandiflora* did not effect on kinetics of gas production ($P>0.05$). Rumen ammonia-nitrogen concentration and in vitrodigestibility of DM were increased when increasing level of *S. grandiflora* ($P<0.01$). Supplementation of *S. grandiflora* at 0.25 mg was significantly highest increased concentration of ammonia-nitrogen and in vitro digestibility of DM at 15.34 mg% and 52.56% of DM, respectively. In addition, inclusion of *S. grandiflora* at 0.25 mg was significantly decreased 50% of protozoal population when compared to no-supplanted group ($P<0.01$). Therefore, supplemented of *S. grandiflora* at 0.25 mg of substrate could improve ammonia-nitrogen concentration and in vitro digestibility, whereas protozoal population was reduced.

Keywords: *S. grandiflora*, Fermentation, Gas production, in vitro

¹ Tropical Feed Resources Research and Development Center (TROFREC), Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

* Corresponding author: anusornc@kku.ac.th

บทนำ

กระบวนการหมักในรูเมนถือเป็นแหล่งผลิตแก๊สมีเทน (CH₄) อีกทางหนึ่ง ซึ่งเกิดจากเมื่อตัวสัตว์กินอาหารเข้าไปในกระเพาะรูเมน จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ในการย่อยอาหารแล้วเปลี่ยนเป็นอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ กรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acids; VFAs) แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และแก๊สไฮโดรเจน (H₂) ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการหมัก (อนุสรณ์, 2555) จากนั้นแบคทีเรียกลุ่ม Methanogens ที่ยึดอยู่กับผนังเซลล์ของโปรโตซัวจะนำเอาผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ CO₂ และ H₂ นำไปสังเคราะห์เป็นแก๊สมีเทนแล้วปลดปล่อยด้วยการเรอสู่ชั้นบรรยากาศของโลก ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดสภาวะโลกร้อนได้ (Supapong et al., 2017) ดังนั้นนักวิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาแนวทางการลดการผลิตปล่อยแก๊สมีเทน ด้วยการกำจัดแบคทีเรียกลุ่ม Methanogens หรือกำจัดโปรโตซัวในรูเมนเพื่อนำไปสู่การลดปริมาณการผลิตแก๊สมีเทน ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การใช้น้ำมันหอมระเหย (essential oils and fatty acids) สารประกอบ organosulfur น้ำมันจากกระเทียม สารอินทรีย์ (organic acids) จำพวก malate และ fumarate หรือสารประกอบไนโตร เป็นต้น นอกจากนี้ การใช้สารประกอบเชิงซ้อนจากพืชกลุ่มคอนเดนส์แทนนิน (condensed Tannin:CT) และซาโปนินส์ (saponins: SP) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่นิยมศึกษากันอย่างแพร่หลายและพบว่ามีประสิทธิภาพในการลดการผลิตแก๊สมีเทน (Supapong et al., 2017) โดยคอนเดนส์แทนนิน พบได้ในพืชตระกูลถั่วของเขตร้อน เมื่อสัตว์ได้รับเข้าไปพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่ม Methanogens ได้โดยตรง และมีผลทางอ้อมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว (อนุสรณ์, 2555) สำหรับแคบ้าน (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) อยู่ในวงศ์พืชตระกูลถั่วอุดมไปด้วยแร่ธาตุเหล็ก วิตามินบี 1, 2, 3, 9 , วิตามินซี, แคลเซียม, และฟอสฟอรัส นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มฟอลิฟินอล (polyphenol) เช่น คาเตชิน รูตินเคอเซทิน สารแทนนินส์ และแอลคาลอยด์ เป็นต้น (Reddy and Elanchezian, 2008) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงาน

ทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมผักแคบ้าน ต่อจุลศาสตร์การผลิตแก๊ส การย่อยได้ กระบวนการหมักและจำนวนประชากรของโปรโตซัว ในกระเพาะรูเมนที่ศึกษาในห้องปฏิบัติการ

วิธีการการศึกษา

สัตว์ทดลอง การเตรียมอาหารทดลอง และวางแผนการทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้คือโคนมเจาะกระเพาะรูเมน พันธุ์ลูกผสมไฮลส์ไทรฟ์เชียนเพศผู้ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 450±30 กก.อายุ 4 ปี จำนวน 2 ตัว ซึ่งได้รับอาหารข้น 0.5% น้ำหนักตัวและฟางข้าวเป็นแหล่งของอาหารหยาบแบบเต็มที และปรับสภาพโคทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาจุลศาสตร์การผลิตแก๊สในหลอดทดลอง นำผักแคบ้านแห้ง (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) ที่เก็บได้จากแปลงทดลองของมหาวิทยาลัยขอนแก่น มาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-2 วัน และนำมาบดให้ได้เป็นผงละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 1 mm แล้วนำไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและเตรียมใช้ศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป โดยวางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แบ่งเป็น 6 ปัจจัยการทดลอง ได้แก่ ระดับการเสริมผักแคบ้าน ที่ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 mg ของสับสเตรต และใช้สับสเตรตในปริมาณ 0.5 g ที่มีสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นเท่ากับ 60 ต่อ 40 โดยมีฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ อาหารข้นที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบไปด้วยมันเส้นเป็นแหล่งพลังงานหลัก ซึ่งมีองค์ประกอบโปรตีนหยาบ 13.64% ส่วนผักแคบ้านมีองค์ประกอบโปรตีนหยาบ และแทนนิน ที่ระดับ 25.12% และ 5.71% ตามลำดับ

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างผักแคบ้าน ฟางข้าวและอาหารข้นมาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการของ AOAC (1990) ส่วนปริมาณ condensed tannins ในผักแคบ้านจะทำการ

วิเคราะห์โดยใช้ vanillin-HCl method ตามวิธีการของ Burns (1971) ทำการศึกษาค่าจลนศาสตร์ของการผลิตแก๊ส (kinetics of gas production) ตามวิธีการของ Menke and Steingass (1988) นำอาหารทดลองที่บดผ่านตะแกรงมาซึ่งและบดที่น้ำหนักจากนั้นบรรจุ 0.5 g ลงในขวดแก้วขนาด 50 ml แล้วเสริมผักค้ำบดตามปัจจัยการศึกษา นำของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) จากโคนมเจาะกระเพาะรูเมน ผสมภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนในขวดที่บรรจุอาหารทดลอง 40 ml พร้อมปิดจุกยางและฝาครอบอะลูมิเนียมให้สนิท หลังจากนั้นนำตัวอย่างเข้าป้อนในตูบหมักหมูมี 39 องศาเซลเซียส ทำการวัดผลผลิตแก๊ส ณ ชั่วโมง ที่ 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เพื่อนำมาคำนวณจลนศาสตร์การผลิตแก๊สตามสมการของ Orskov and McDonal (1979) สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระบวนหมักเพื่อวัดค่า pH และค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยใช้เครื่อง KJELTEC Auto 1030 Analyzer ส่วนประชากรโปรโตชีวทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระบวนหมัก 1 ml ในชั่วโมงที่ 2 และ 4 หลังการบ่ม เติม 25% ฟอรัมาลดีไฮด์ (formaldehyde) ความเข้มข้น 25% ปริมาตร 9 ml เพื่อนำไปตรวจนับโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการนับตรง (direct count) นอกจากนี้ หลังการบ่ม ชั่วโมงที่ 12 และ 24 แต่ละครั้ง ทำการสุ่มขวดย่อยในแต่ละปัจจัยการทดลองออกมาปัจจัยการทดลองละ 1 ขวด รวมแต่ละครั้ง 5 ขวด จากนั้นเปิดจุกขวดออกแล้วนำเฉพาะอาหารที่เหลือจากการย่อยไปศึกษาการย่อยได้ โดยวิเคราะห์วัตถุแห้ง และเก็บตามวิธีการของ AOAC (1990) แล้วนำไปคำนวณการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (in vitro dry matter digestibility, IVDMD)

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ Proc GLM และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ค่าจลนศาสตร์การผลิตแก๊ส

Table 1 แสดงค่าจลนศาสตร์การผลิตแก๊สของอาหารทดลองพบว่า การเสริมผักค้ำบดในหลอดทดลองไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของส่วนที่ละลายได้ง่ายของอาหาร (a) ($P>0.05$) โดยพบว่าค่า a อยู่ระหว่าง -1.06 ถึง -2.81 นอกจากนี้การที่ค่าของส่วนที่ละลายได้ง่ายติดเครื่องหมายลบ ไม่ได้เป็นผลโดยตรงจากการหมักของส่วนที่ละลายได้ง่ายของอาหารซึ่งการเริ่มต้นของการหมักอาจถูกยืดเวลาออกไปเนื่องจากการเกิด microbial colonization หรือความล่าช้าของการหมักอาจเกิดขึ้นภายหลังจากส่วนที่ละลายได้ของอาหารตั้งต้นถูกใช้จนหมดแต่การหมักของผนังเซลล์ยังไม่เริ่มขึ้น นอกจากนี้การเสริมผักค้ำบดยังไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแก๊สสะสมที่เวลา 96 ชั่วโมง และอัตราการผลิตแก๊ส (c) ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าการเสริมผักค้ำบดไม่มีผลกระทบในทางลบต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สในห้องปฏิบัติการ

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าแอมโมเนียไนโตรเจน ค่าความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง และปริมาณโปรโตชีวในหลอดทดลอง

Table 2 แสดงผลของการเสริมผักค้ำบดต่อความเป็นกรด-ด่าง ค่าความเข้มข้นของค่าแอมโมเนียไนโตรเจน ค่าความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งและปริมาณโปรโตชีวในหลอดทดลอง ผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 6.91-6.96 ซึ่งเป็นที่ปกติและเหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายอาหารในรูเมน ซึ่ง เมธา (2533) รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ในรูเมนควรอยู่ในช่วงอยู่ 6-7 นอกจากนี้พบว่า การเสริมผักค้ำบดจะส่งผลทำให้ค่าค่าความเข้มข้นของค่าแอมโมเนียไนโตรเจน เพิ่มขึ้นตามระดับของการเสริม โดยการเสริมที่ระดับ 0.25 mg% จะส่งผลทำให้ค่าค่าความเข้มข้นของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 3.64 mg% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมา

จากการฝึกแคบ้านมีองค์ประกอบของโปรตีนหยาบสูงถึง 35.12% ดังนั้น การให้เสริมระดับโปรตีนที่สูงขึ้น จึงส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นของค่าแอมโมเนียไนโตรเจน แต่อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นแอมโมเนียไนโตรเจนยังอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Supamong et al., 2017; 13-30 mg%) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการเสริมฝึกแคบ้านทำให้ความเข้มข้นของแอมโมเนียเพิ่มขึ้นในระดับที่เหมาะสมซึ่งส่งผลให้จุลินทรีย์ได้รับไนโตรเจนเพื่อนำไปสังเคราะห์จุลินทรีย์อย่างเพียงพอ ในที่สุดปริมาณจุลินทรีย์โปรตีนจึงเพิ่มขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของแอมโมเนียยังขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารระดับอาหารที่สัตว์ได้รับความถี่ของการให้อาหารความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต

ผลของระดับฝึกแคบ้านต่อความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ (In vitro dry matter digestibility, IVDMD) พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.01) โดยมีค่าสูงขึ้นตามระดับการเสริมฝึกแคบ้าน และมีค่าสูงสุดคือ 52.56% เมื่อเสริมฝึกแคบ้านที่ 0.25 mg ทั้งนี้ อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเสริมฝึกแคบ้านส่งผลทำให้มีแหล่งของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มากขึ้น ซึ่งอาจจะถูกใช้ในการสังเคราะห์จุลินทรีย์ร่วมกับแหล่งของ

แหล่งพลังงาน และส่งผลโดยตรงต่อการย่อยได้ของอาหารโดยแบคทีเรียในรูเมนที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การลดลงของจำนวนประชากรของโปรโตซัวอาจเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้ประชากรแบคทีเรียสูงขึ้นเนื่องจากโดยปกติแล้วโปรโตซัวจะกินเซลล์แบคทีเรียแหล่งโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่พบว่า การเพิ่มระดับการเสริมฝึกแคบ้านจะส่งผลทำให้จำนวนประชากรโปรโตซัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การเสริมฝึกแคบ้านที่ระดับ 0.25 mg พบว่าทำให้จำนวนประชากรโปรโตซัวลดลงมากถึง 50% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม สอดคล้องกับการรายงานของอนุสรณ์ (2555) แสดงให้เห็นว่าสารจากพืชกลุ่มคอนเดนส์แทนนินส์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว และลดจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มMethanogens ทั้งนี้อาจกลไกในการกำจัดโปรโตซัวของสารแทนนินส์ โดยสามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของโปรโตซัว และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการกำจัดโปรโตซัว ซึ่งการที่ประชากรโปรโตซัวลดลง อาจส่งผลโดยตรงต่อการลดการผลิตแก๊สมีเทนในกระเพาะรูเมนได้ เช่นเดียวกันกับการรายงานของ Supamong et al. (2017) ซึ่งพบว่าการเสริมแหล่งของแทนนินส์จากเมล็ดฝักหางนกยูง สามารถลดจำนวนโปรโตซัวได้ถึง 58% และส่งผลทำให้แก๊สมีเทนลดลงได้ถึง 42.4% ในการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

Table 1 Effect of *Sesbania grandiflora* on gas kinetics and cumulative gas at 96 h after incubation

<i>Sesbania grandiflora</i> , mg DM	Kinetic of gas, ml/ 0.5 g DM				Cumulative gas production, ml DM incubated
	a	b	c	a+b	
0	-2.80	108.03	0.03	106.83	107.47
0.05	-3.01	105.16	0.03	100.17	107.07
0.10	-2.82	101.47	0.02	98.29	102.17
0.15	-1.06	107.01	0.02	104.07	105.17
0.20	-1.72	102.45	0.02	101.16	101.17
0.25	-2.81	106.36	0.02	103.17	100.17
SEM	0.24	13.60	0.01	15.67	0.78
P-value	ns	ns	ns	ns	ns

* P< 0.05; ** P< 0.01, ns =non-significant; a, the gas production from the immediately soluble fraction; b, the gas production from the insoluble fraction; c, the gas production rate constant for the insoluble fraction. (b) ; |a|+b,

Table 2 Influence of *Sesbania grandiflora* on pH, ammonia-nitrogen content, *in vitro* dry matter (DM) digestibility (IVDMD) and protozoal population using *in vitro* gas production technique

<i>Sesbania grandiflora</i> , mg DM	pH	NH ₃ -N content, mg%	IVDMD, g/ kg DM	Protozoal population counts, ×10 ⁶ cell/ ml
0	6.93	11.70 ^b	47.60 ^a	3.00 ^a
0.05	6.96	14.01 ^a	48.05 ^b	3.00 ^a
0.10	6.92	14.50 ^a	49.75 ^{bc}	2.50 ^b
0.15	6.91	14.43 ^a	49.75 ^{bc}	2.25 ^{bc}
0.20	6.95	15.06 ^a	50.62 ^{ab}	2.00 ^c
0.25	6.95	15.34 ^a	52.56 ^a	1.50 ^d
SEM	0.01	0.14	0.14	0.02
P-value	ns	*	**	**

*P<0.05; **P<0.01; ns =non-significant; ^{a,b} = means with different superscripts within a column are significantly different at P ≤ 0.05

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การเสริม ผักแคบ่านที่ระดับ 0.25 mg สามารถปรับปรุง กระบวนการหมักในรูเมน เพิ่มระดับความเข้มข้น ของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน และความสามารถในการ ย่อยได้ ในขณะที่จำนวนประชากรของโปรโตซัว มีค่าลดลง ซึ่งอาจส่งผลโดยตรงต่อการลดการผลิต แก๊สมีเทนในกระเพาะรูเมนได้ อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้น จึงควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงศักยภาพ ในการนำไปใช้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อศึกษาต่อ ประสิทธิภาพในการใช้ ผักแคบ่าน และการให้ ผลผลิตในสัตว์ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยการผลิตโคเนื้อพื้นเมือง และกระบือเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและ คุณภาพเนื้อ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัย และพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อนภาคอีสาน สัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุน งบประมาณอุปกรณ์ และสิ่งอำนวยความสะดวก

เอกสารอ้างอิง

- เมธา วรณพัฒน์. 2533. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. หจก. ฟันนี้พลับลิชชิง, กรุงเทพมหานคร.
- อนุสรณ์ เติตทอง. 2555. แนวทางปัจจุบันสำหรับการ ลดการผลิตแก๊สมีเทนจากสัตว์เคี้ยว เอื้อง. แก่นเกษตร. 40:9-106.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analyses, 15th ed. Journal - Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA: USA.
- Burns RE. 1971. Method for estimation of tannin in the grain sorghum. Agron. J. 163:511-512.
- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28:7-55.
- Orskov, E.R., and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Cam. 92:499-503.

- Reddy, D. V. and N. Elanchezhian. 2008. Evaluation of tropical tree leaves as ruminant feedstuff based on cell contents, cell wall fractions and polyphenolic compounds. *Livest. Res. Rural Develop.* 20 (5).
- Supapong C, A. Cherdthong, A. Seankamsorn, B. Khonkhaeng, M. Wanapat, S. Uriyapongson, N. Gunun, P. Gunun, P. Chanjula, and S. Polyorach. 2017. In vitro fermentation, digestibility and methane production as influenced by *Delonix regia* seed meal containing tannins and saponins. *J. Anim. Feed Sci.* 26:23-130.