

การเสริมเมล็ดหางนกยูงบดต่อกระบวนการหมักในรูเมน การย่อยได้ และการลดการปลดปล่อยเมเทนโดยเทคนิคการผลิตแก๊ส

Supplementation of *Delonix regia* seeds meal on rumen fermentation, digestibility and mitigating ruminal methane using *in vitro* gas production

ชนะดล สุภาพงษ์¹, อนุสรณ์ เชิดทอง^{1*} และ อนุธิดา แสนคำสอน¹

Chanadol Supapong¹, Anusorn Cherdthong^{1*} and Anuthida Seankamsorn¹

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดต่อจลนศาสตร์ของแก๊ส ค่าแอมโมเนียไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) การผลิตแก๊สเมเทน และการย่อยสลายได้ในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยแบ่งเป็น 10 ปัจจัยการทดลองแต่ละปัจจัยมี 3 ซ้ำ ซึ่งปัจจัยการทดลองคือ ระดับของการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบด 10 ระดับ ได้แก่ 0, 0.0033, 0.005, 0.0067, 0.0083, 0.01, 0.01167, 0.0133, 0.015, 0.0167 กรัม ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบด ที่ระดับ 0.0067, 0.0083, 0.01167 และ 0.015 กรัม ส่งผลทำให้อัตราการผลิตแก๊ส (c) และความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูงสุด ($P < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อค่า pH และความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ในของเหลวของขวดทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่า การเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดที่ระดับ 0.005 และ 0.01167 กรัม ทำให้ความเข้มข้นของแก๊สเมเทนมีค่าลดลงมากที่สุด ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากศักยภาพการผลิตแก๊ส ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง และการลดการผลิตแก๊สเมเทน จะเห็นได้ว่า การเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดที่ระดับ 0.01167 กรัม มีความเหมาะสมต่อการนำไปศึกษาในสัตว์ต่อไป

คำสำคัญ: กระบวนการหมัก, แก๊สเมเทน, เทคนิคการผลิตแก๊สในห้องปฏิบัติการ, เมล็ดฝักหางนกยูง

ABSTRACT: The objective of this research was to study the effect of supplementation of *Delonix regia* seed meal (DR) on kinetics of gas, ammonia - nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$), pH, methane (CH_4) gas production and digestibility using *in vitro* gas production technique. The experimental design was completely randomized design (CRD). Ten treatments (3 replication/ treatment) were supplementation levels of *Delonix regia* seed meal at 0, 0.0033, 0.005, 0.0067, 0.0083, 0.01, 0.01167, 0.0133, 0.015 and 0.0167 g. The results showed that supplementation levels of *Delonix regia* seed meal at 0.0067, 0.0083, 0.01167 and 0.015 g were highest increased in the gas production rate (c) and *in vitro* DM digestibility ($P > 0.05$) while ruminal pH and $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration were not changed. Moreover, addition of *Delonix regia* seed meal at 0.005 and 0.01167 g were significantly lowest CH_4 concentration. Thus, supplementation of *Delonix regia* seed meal at 0.01167 g could be beneficial for further *in vivo* experiment in order to improve kinetic gas, digestibility and reduction CH_4 emission.

Keywords: fermentation, methane gas, *in vitro* gas technique, *Delonix regia* seeds meal

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน, ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

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

* Corresponding author: anusornc@kku.ac.th

บทนำ

การผลิตแก๊สเมทาเนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของกระเพาะรูเมนในสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นความกังวลของทั่วโลก แก๊สเมทาเน (CH_4) เป็นหนึ่งในสามของแก๊สเรือนกระจกหลัก (GHG) ร่วมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สไนตรัสออกไซด์ (N_2O) การผลิตของแก๊สเรือนกระจกจากปศุสัตว์มีผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศเป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก (Steinfeld et al., 2006) เมื่อทำการเปรียบเทียบตั้งแต่ปี ค.ศ. 1750-ปัจจุบัน พบว่าในชั้นบรรยากาศ CH_4 มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 153% จากการรายงานของ IPCC (2007) ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญและได้มีความพยายามหาวิธีการใหม่ๆ เพื่อที่จะลดกระบวนการผลิตแก๊สเมทาเน (CH_4) จึงได้มีความสนใจเกี่ยวกับเมล็ดผักหางนกยูง (*Delonix regia* seeds meal) ที่มีส่วนประกอบของสารประกอบเชิงซ้อนของพืช (plant secondary compounds) ในรูปแบบโพนินและแทนนิน สารประกอบเชิงซ้อนของพืชเป็นพิษต่อโปรโตซัวและแบคทีเรียกลุ่ม Archaea และอาจช่วยลดการปล่อยแก๊สเมทาเนได้โดยแทนนินและแบบโพนินที่พบมากในพืชตระกูลถั่วเขตร้อน การลดลงของแก๊สเมทาเนด้วยผลของแทนนินและแบบโพนินที่มีอยู่ในพืชตระกูลถั่ว เช่น *Lotus pedunculatus*, *Acacia mearnsii*, *Phaseolus calcaratus*, *Flemingia macrophylla* และเปลือกมั่งคุด โดยแบบโพนินและแทนนินที่พบอยู่ในพืชอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแก๊สเมทาเนในกระเพาะรูเมน การศึกษาล่าสุดได้แสดงให้เห็นว่าเมล็ดหางนกยูงใช้เป็นแหล่งโปรตีนแทนที่กากถั่วลิสงในอาหารไก่เนื้อและพบว่าไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของไก่เนื้อ Egena et al. (2008) และเสริมที่ระดับ 40% ของอาหารทำให้น้ำหนักซากของกระต่ายเพิ่มขึ้น Kaga (2013) นอกจากนี้การใช้ในสูตรอาหารปลานิลทำให้มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

Bake et al. (2014) Alemede et al. (2010) แสดงให้เห็นว่า เมล็ดหางนกยูงสามารถนำมาใช้เพื่อทดแทนกากถั่วลิสงได้ถึง 100% ในอาหารของไก่เนื้อโดยไม่มีผลอันตรายใดๆ กับพารามิเตอร์เลือด อย่างไรก็ตาม การเสริมเมล็ดหางนกยูงในสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อลดการผลิตแก๊สเมทาเนยังไม่มีที่ระดับที่เหมาะสมในการใช้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาระดับการเสริมเมล็ดหางนกยูงบดต่อ การย่อยได้ จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส และการผลิตแก๊สเมทาเนในหลอดทดลอง

วิธีการศึกษา

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 10 ปัจจัยการทดลองแต่ละปัจจัยมี 3 ซ้ำ มีปัจจัยการทดลองคือระดับของเมล็ดผักหางนกยูงบด 10 ระดับ ได้แก่ 0, 0.0033, 0.005, 0.0067, 0.0083, 0.01, 0.01167, 0.0133, 0.015, 0.0167 กรัม ตามลำดับ ใช้กระบือเพศผู้เจาะกระเพาะรูเมน น้ำหนักตัวเฉลี่ย 400 ± 10 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว เป็นแหล่งของของเหลวในกระเพาะรูเมนสำหรับการทดลองด้วยเทคนิคการผลิตแก๊ส สัตว์ทดลองจะได้รับอาหารหยาบ คือ ฟางข้าว แบบเต็ม (ad libitum) และอาหารข้นที่มีโปรตีนหยาบ 16% ในระดับ 0.5% ของน้ำหนักตัว โดยมีน้ำสะอาดและแร่ธาตุก้อนให้เลียงกินตลอดเวลา

เก็บผักแก่ของต้นหางนกยูง นำมาแกะเอาเมล็ดออก โดยเก็บในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น มาทำการอบร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เตรียมอาหารข้นให้มีโปรตีนหยาบ 16% และมีค่า TDN ประมาณ 75% ใช้ฟางข้าวเพื่อเป็นแหล่งอาหารหยาบ จากนั้นนำอาหารข้นและอาหารหยาบมาทำการอบร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร หลังจากนั้นทำการผสมนำอาหารข้นและอาหารหยาบอัตราส่วน 30:70

การเตรียมหน่วยการย่อย (Digestion unit) นำตัวอย่างอาหารที่ทำการเตรียมตามปัจจัยการทดลองแล้ว มาทำการบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ทำการบรรจุตัวอย่าง 0.5 กรัมและเสริมเมล็ดหางนกยูงบดตามวิธีที่เมนต์ที่กำหนดลงในขวดวัดขึ้นขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมทั้งปิดจุกยางและฝาครอบอูมิเนียมให้สนิท แล้วนำเข้าบ่มรักษาอุณหภูมิ ที่ 39 องศาเซลเซียส รอการบรรจุของเหลวจากกระเพาะหมักผสมและนำไปศึกษาจุลพลศาสตร์การผลิตแก๊สและความสามารถในการย่อยได้โดยใช้เทคนิคการผลิตแก๊ส (in vitro gas production) ตามวิธีการของ Orskov and McDonald (1979) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นและอาหารหยาบ ตามวิธีการของ AOAC (1995) ทำการวัดปริมาณผลผลิตแก๊สเมทาเนน ตามวิธีการของ Sittijunda et al. (2010)

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) ด้วยโปรแกรมทางสถิติของ SAS (1998)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารชั้น ฟางข้าว และเมล็ดฝักหางนกยูงบด แสดงดัง Table 1 อาหารชั้นที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณโปรตีนหยาบ 14.22% DM ขณะที่เยื่อใย NDF และ ADF มีค่าเท่ากับ 72.15 และ 12.08% DMตามลำดับ เมล็ดฝักหางนกยูงบดมีปริมาณโปรตีนหยาบ 21.5% DM สำหรับ Table 2 แสดงผลของการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดต่อจุลพลศาสตร์การผลิตแก๊ส และปริมาณแก๊สสะสม จากการประเมินโดยใช้เทคนิคการวัดผลผลิตแก๊สในหลอดทดลองพบว่า การเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของส่วนที่ละลายได้ง่ายของอาหาร (a), ปริมาณแก๊ส ณ จุดเส้นกราฟราบเรียบ (b) และ ค่า a+b หรือศักยภาพการผลิตแก๊ส โดยพบว่าค่า a อยู่ระหว่าง 2.3 ถึง -3.1 ส่วนค่า b และ a+b อยู่ในช่วง 58.8-66.8 และ 55.4-64.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ การเสริมยังไม่ส่งผลต่อปริมาณ

ผลผลิตแก๊สโดยแสดงค่าปริมาณแก๊สสะสมที่เวลา 96 ชั่วโมง (cumulative gas) รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบต่อค่า pH และความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ในของเหลวของขวดทดลอง (Table 3) ซึ่งสอดคล้องกับ Bueno et al. (2015) ได้ทำการศึกษาลักษณะของการเสริม Condensed Tannins ที่ได้จากการสกัดโดยเสริมที่ระดับ 50 eq-g/kg ของ DM ในอาหารสัตว์ในสัตว์ทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ แกะ แพะ กระบือ โคเนื้อ และโคนม ที่ได้รับอาหาร น้ำและแร่ธาตุตามความต้องการของแต่ละสายพันธุ์ โดย tannins มีผลยับยั้งการปลดปล่อยแก๊สเมทาเนนจากกระเพาะรูเมนได้แต่ไม่ได้มีผลกระทบต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ดีตาม เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตแก๊ส (c) ในอาหารทดลองที่เสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดที่ระดับ 0.0067, 0.0083, 0.01167 และ 0.015 กรัม พบว่าการเสริมที่ระดับดังกล่าว ส่งผลทำให้อัตราการผลิตแก๊สมีค่าสูงกว่าระดับอื่นๆ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.045-0.056 สอดคล้องกับค่าความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ (Table 3) พบว่าการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดที่ระดับข้างต้น จะส่งผลทำให้มีค่าสูงที่สุด ($P < 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการเสริมที่ระดับดังกล่าวจะสามารถเพิ่มระดับโภชนาที่ย่อยสลายได้ รวมทั้งเป็นการกระตุ้นจุลินทรีย์ในรูเมนให้ทำงานได้ดียิ่งขึ้น ขณะเดียวกันเมื่อเพิ่มระดับเสริมขึ้นมากกว่า 0.015 กรัม จะส่งผลในทางลบ ซึ่งอาจด้วยสาเหตุของระดับของสารยับยั้งในเมล็ดฝักหางนกยูงบด เช่น สารคอนเดนส์แทนนินส์ และแซปโปนินส์ เป็นต้น ผลของการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดต่อการผลิตแก๊สเมทาเนน แสดงดัง Table 3 พบว่าการเสริมเมล็ดฝักหางนกยูงบดที่ระดับ 0.005 และ 0.01167 กรัม ทำให้ความเข้มข้นของแก๊สเมทาเนนมีค่าลดลงมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 82.31 และ 82.72 มิลลิลิตร/ลิตรตามลำดับ ทั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่า สารประกอบเชิงซ้อนที่มีในเมล็ดฝักหางนกยูง ทั้งสารคอนเดนส์แทนนินส์ และแซปโปนินส์ มีผลกระทบโดยตรงต่อจุลินทรีย์ที่ผลิตแก๊สเมทาเนน และทำให้การผลิตแก๊สลดลงได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Kongmun et al. (2009) ที่ได้รายงานว่าการเสริมแหล่งของคอนเดนส์แทนนินส์ และแซปโป

นินจากเปลือกมังคุดบดที่ระดับ 100กรัม/ตัว/วัน ในโคเนื้อพบว่าสามารถลดการผลิตแก๊สเมทาเนนได้ถึง 10.5% เช่นเดียวกันกับ Pongchompu et al.(2009) ที่ศึกษาการเสริมแหล่งของคอนเดนส์แทนนินส์ และแซปโปนินจาก Soapberry fruit ร่วมกับเปลือกมังคุดอัดเม็ดในกระบือ ที่ระดับ 4% พบว่าสามารถลดการ

ผลิตแก๊สเมทาเนนได้ 10 % อย่างไรก็ตาม ในการเสริมที่ระดับสูงขึ้นแต่ไม่มีผลต่อการลดปริมาณการผลิตแก๊ส อาจเนื่องจากระดับของสารดังกล่าวอาจมีความเข้มข้นมากเกินไป จึงยับยั้งทั้งการย่อยสลายได้ของโภชนะของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม รวมทั้งส่งผลต่ออัตราการผลิตแก๊สที่ลดลง ดังข้อมูลแสดงใน Table 2

Table 1 Chemical composition of experimental diets

Chemical composition	Concentrate	Rice straw	<i>Delonix regia</i> seeds meal
Dry matter, %	89.83	92.14	89.5
Organic matter, %DM	94.75	86.2	94.0
Crude protein, %DM	14.22	4.27	21.5
Neutral detergent fiber, %DM	72.15	80.2	34.2
Acid detergent fiber, %DM	12.08	56.4	24.5

Table 2 The effect of *Delonix regia* seeds meal on gas kinetics and cumulative gas at 96 h after incubation

Treatment	Kinetics of gas, ml/ 0.5 g				Cumulative gas, ml
	a	b	c	a+b	
T1	-2.3	59.2	0.027 ^a	56.7	58.8
T2	-2.5	62.2	0.029 ^a	59.8	62.1
T3	-2.7	57.9	0.033 ^{ab}	54.6	58.4
T4	-2.4	66.8	0.046 ^b	64.5	68.1
T5	-3.0	66.2	0.045 ^b	63.4	66.6
T6	-2.8	62.5	0.032 ^{ab}	59.0	63.0
T7	-3.1	65.3	0.056 ^b	62.1	65.5
T8	-2.9	58.8	0.024 ^a	55.4	59.0
T9	-3.0	65.9	0.049 ^b	62.3	64.4
T10	-3.1	62.3	0.033 ^{ab}	59.0	63.2
SEM	0.99	6.43	0.003	5.89	8.14

Table 3 Supplementation of *Delonix regia* seeds meal on pH, methane concentration, ammonia-nitrogen and *in vitro* DM digestibility using *in vitro* gas production.

Treatment	pH	NH ₃ -N, mg%	<i>In vitro</i> DM digestibility, %	Methane (mLCH ₄ /L)
T1	6.62	11.32	57.74 ^{ab}	94.82 ^{ab}
T2	6.57	10.93	58.81 ^{ab}	94.79 ^{ab}
T3	6.60	10.3	54.34 ^a	82.72 ^a
T4	6.60	11.35	62.3 ^b	110.32 ^c
T5	6.58	12.12	61.16 ^b	115.35 ^c
T6	6.61	10.84	58.24 ^{ab}	98.33 ^b
T7	6.61	10.62	60.69 ^b	82.31 ^a
T8	6.59	11.24	55.28 ^a	101.91 ^b
T9	6.60	11.97	61.53 ^b	103.85 ^b
T10	6.65	12.48	59.01 ^{ab}	101.6 ^b
SEM	0.18	0.66	1.31	2.78

สรุปและข้อเสนอนะ

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเสริม เมล็ดฝักหางนกยูงบด ที่ระดับ 0.01167 กรัม มีผลต่อการปรับปรุงอัตราการผลิตแก๊ส และ ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการลดการผลิตแก๊ส CH₄ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้ เมล็ดฝักหางนกยูงบดเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกใหม่สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง ที่ระดับ 180 กรัม/ตัว/วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยการผลิตโคเนื้อพื้นเมืองและกระบือเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพเนื้อ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณ อุปกรณ์และสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

- Alemede I.C., J.Y. Adama, S.A. Ogunbajo, and J. Abdullahi. 2010. Haematological Parameters of Savanna Brown Does Fed Varying Dietary Levels of Flamboyant Tree Seed Meal. Pak. J. of Nutr. 9: 167-170.
- AOAC. 1995. Official method of analysis: animal feeds. 16th ed. Arlington (VA): Association of Official Analytical Chemists.
- Bake, G.G., E. I. Martins, and S.O.E. Sadiku. 2014. Nutritional evaluation of varying levels of cooked flamboyant seed meal (*Delonix regia*) on the growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Agr. For. Fish. 3: 233-239.
- Bueno, I. C.S., R. A. Brandi, R. Franzolin, G. Benetel, G. M. Fagundes, A. L. Abdalla, H.Louvandin, and J. P. Muir. 2015. In vitro methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. Anim. Sci. DOI: 10.1016/j.anifeeds.2015.03.008
- Egena S.S.A., A. Usman, E.I. Shiwoya, S.K. Yahaya, and H.O. Ogunlowo. 2008. Performance of Starter Broilers Fed Anaerobically Fermented and Lyle Treated *Delonix regia* Seed Meal. Pak. J. of Nutr. 7: 489-492.

- International Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Climate change 2007: The physical science basis, Oxford Press, Cambridge.
- Kaga, I.B. 2013. Biological and carcass characteristics of rabbits fed Delonix Regia meal diets. Biol. Syst. 2: 120. doi:10.4172/2329-6577.1000120.
- Kongmun, P., M. Wanapat, P. Pakdee, and C. Navanukraw. 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on in vitro fermentation using gas production technique. Livest. Sci. 127: 38-44.
- Orskov, 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 Agriculture Science. 92: 499-503.
- Poungchompu, O., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, S. Wanapat, and A. Cherdthong. 2009. Manipulation of ruminal fermentation and methane production by dietary saponins and tannins from mangosteen peel and soapberry fruit. Arch. Anim. Nutr. 63: 389-400.
- SAS. 1998. User's Guide: Statistic, Version 6, 12th Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Steinfeld, H., T. Wassenaar, and S. Jutzi. 2006. Livestock production systems in developing countries: status, drivers, trends. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 25: 505-516.
- Sittijunda, S., A. Reungsang, and S. O-thong. 2010. Biohydrogen production from dual digestion pretreatment of poultry slaughterhouse sludge by anaerobic self-fermentation. Int. J. Hydrog. Energ. 35: 13427-13434.