

การทดสอบจุลศาสตร์การผลิตแก๊ส ความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร

Determination of gas kinetics, digestibility by *in vitro* gas production technique and antioxidant capacity of local plants and agricultural residues

อภิญญา สาตรสุข¹, ประมินทร์ วินิจชัยกุล², ชัยวัฒน์ อาจิน¹ และ กรวรรณ ศรีงาม^{1*}

Apinya Satsook¹, Paramintra Vinitchaikul², Chaiwat Arjin¹, and Korawan Sringarm^{1*}

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

² ภาควิชาคลินิกสัตว์โรค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100

² Department of Food Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรในการประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมักของโค โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง ใช้พืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร 6 ชนิด ได้แก่ ใบชา กากชา เซอร์รูกาแฟ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ กากกาแฟ และใบหม่อน พบว่า ใบหม่อนมีโปรตีนโดยรวมสูงที่สุด (22.96%) และมีเยื่อใยโดยรวมต่ำสุด (13.93%) ส่วนเซอร์รูกาแฟมีสารฟีนอลิกสูงที่สุด (152.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/1 กรัม) นอกจากนี้ ใบชา พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด IC₅₀ เท่ากับ 5.72 และ 14.53 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร วัดค่าโดยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ และวัดค่าโดยวิธี FRAP ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 170.17 ไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอร์รัส/ 1 กรัม เซอร์รูกาแฟมีปริมาณแก๊สสะสมที่ 24 ชั่วโมงสูงที่สุด ใบหม่อนมีปริมาณแก๊สสะสมที่ 96 ชั่วโมงมากที่สุด การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุด พบว่า เซอร์รูกาแฟมีค่าสูงที่สุด (66.06% และ 8.42 เมกะจูล/กิโลกรัม วัตถุแห้งตามลำดับ) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น จากผลการศึกษาดังกล่าวสรุปได้ว่า เซอร์รูกาแฟเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพที่สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ โดยมีความสามารถย่อยได้ในหลอดทดลองสูง ทั้งนี้ ต้องมีการศึกษาต่อในการใช้ประโยชน์ในสัตว์ต่อไป

คำสำคัญ: พืชท้องถิ่น; วัสดุเศษเหลือทางการเกษตร; องค์ประกอบทางเคมี; คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ; การผลิตแก๊สในหลอดทดลอง

ABSTRACT: This study aims to investigate the efficacy of local plants and agricultural residues for apply to improve digestibility in the rumen fermentation gas kinetics, digestibility by *in vitro* gas production technique and antioxidant capacity. The chemical composition, total phenol, antioxidant activity, gas production kinetics and digestibility *in vitro* were determined. The six local plants and agricultural residues composed of tea leaves, tea residue, coffee cherry, coffee silver skin, coffee residue, and mulberry leaves. The results found that the mulberry leaves had the highest crude protein (CP) content (22.96%) and lowest crude fiber (CF) (13.93%) compared to other samples. The coffee cherry had a highest the total phenol content (152.03 milligram gallic acid equivalent (GAE)/g). Moreover, tea leaf had a highest antioxidant activity, as 50% inhibitory concentration (IC₅₀) was 5.72 and 14.53 mg / ml in DPPH and ABTS method, respectively. Also, FRAP method it had antioxidant activity of 170.17 micromolar equivalent of ferrous (Fe²⁺) / g. However, coffee cherry was a high gas production accumulate at 24 h while mulberry leaf was

* Corresponding author: korawan.s@cmu.ac.th

highest at 96h. The organic matter digestibility and metabolizable energy in cherry coffee was highest compared to the other samples (66.06% and 8.42 MJ/kg DM, respectively). From the results, it can be concluded that coffee cherries are potent raw materials that can be used as ruminant feed. It has high in vitro digestibility. Further studies are required for further animal use.

Keywords: local plants; agricultural residues; chemical composition; antioxidant; *In vitro* gas production technique

บทนำ

อาหารสัตว์จัดเป็นต้นทุนหลักในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ด้วยความต้องการที่มากขึ้นส่งผลให้อาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้นและเป็นผลให้ต้นทุนในการผลิตสัตว์ที่มากขึ้นตามไปด้วย ปัจจุบันการใช้พืชที่มีการปลูกมากในท้องถิ่นและเศษเหลือทางการเกษตรเป็นทางเลือกที่ได้รับความนิยมมากขึ้นในการลดต้นทุนในการผลิต โดย สุริยะ และคณะ (2554) ได้ใช้กระถินหมักเป็นพืชในท้องถื่นเสริมในอาหารโคขุนตัวผู้ลูกผสม (*Bos Taurus* x *Bos indicus*) ปริมาณ 3 กก./ตัว/วัน ส่งผลให้โคมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันและน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้วัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรม โดย ฐิติมา และคณะ (2562) ได้ใช้กากมันสำปะหลังหมักเสริมในอาหารโคขุน โดยให้อาหารข้นร่วมกับกากมันสำปะหลังหมัก (อัตราส่วน 50:50) ส่งผลให้โคมีน้ำหนักตัวขึ้น อีกทั้ง ฉลอง และคณะ (2559) ใช้กากเอทานอลเสริมในอาหารโคนม โดยใช้กากเอทานอลแห้งทดแทนมันเส้น 10% ในอาหารผสมครบส่วนที่มีฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ ส่งผลทำให้สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุลดลง ในขณะที่สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของไขมันในอาหาร และปริมาณไขมันในน้ำนมเพิ่มขึ้น และ Polyorach et al. (2016) เสริมเปลือกมังคุดในอาหารโคปริมาณ 300 กรัม/ตัว/วัน ส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียในกระเพาะหมักทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ประชากรของโปรโตซัวและจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทนลดลงเป็นผลให้ปริมาณแก๊สมีเทนลดลง

ในเขตพื้นที่สูงทางภาคเหนือของไทย เป็นแหล่งของการปลูกชา กาแฟ และมีการส่งเสริมการปลูกใบหม่อนปริมาณเพิ่มมากขึ้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561) พืชดังกล่าวกลายเป็นพืชท้องถิ่นในภาคเหนือ มีการผลิตเพิ่มมากขึ้นยังผลให้เกิดวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ดังนั้น การใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจึงเป็นทางเลือกในการนำมาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะในปัจจุบันมีจำนวนโคเนื้อและโคนมที่มีการเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2563) นอกจากเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ทางเลือกแล้ว ชา กาแฟ และใบหม่อน ยังมีคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่มีความน่าสนใจ เช่น สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ โดยมีรายงานว่า ใบชามีส่วนประกอบของสารฟีนอลิก ในกลุ่มของแทนนินสูง (Namal, 2013) โดยสารเหล่านี้บางส่วนยังคงอยู่ในกากใบชาหลังจากการสกัดใบชาในการทำเครื่องดื่มชาแล้ว (Kondo et al., 2004) อีกทั้งยังมีรายงานว่า ในใบหม่อนมีสารจำพวก สารฟลาโวนอยด์ ที่มีความสามารถในการช่วยลดจำนวนประชากรของจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตแก๊สมีเทน (methanogen) ในกระเพาะหมักของโค ส่งผลให้การผลิตแก๊สมีเทนจากกระบวนการหมักภายในกระเพาะหมักลดลง (Ma et al., 2017) นอกจากนี้มีรายงานว่า Kim et al., 2013 ศึกษาสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเข้มข้นและใบแปะก๊วยต่อการย่อยได้ในหลอดทดลอง พบว่า มีความสามารถในการส่งเสริมการทำงานของ *Fibrobacter succinogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมัก อีกทั้งในพืชพบว่า มีสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถยับยั้งความเครียดที่เกิดจากอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายระบบต่าง ๆ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคหลายชนิดที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการผลิตของโค (Iqbal et al., 2012) รวมไปถึงการเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น (Zhang et al., 2020) ทั้งนี้วัตถุดิบเหล่านี้ มีความน่าสนใจในการใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต อย่างไรก็ตาม วัตถุดิบที่นำมาใช้ควรต้องศึกษาคุณสมบัติการย่อยได้ก่อนใช้จริงในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยการศึกษาจุลศาสตร์การผลิต ความสามารถในการย่อยได้ โดยการเทคนิคการผลิตแก๊สในหลอดทดลอง (*In vitro* gas production technique) เป็นการประมาณค่าการย่อยได้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับนักโภชนาการสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Blümmel et al., 1997) โดยอาศัยหลักการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารที่ถูกย่อย ส่งผลต่อปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในกระเพาะหมัก (Menke and Steingass, 1988) โดย Melesse (2012) ศึกษาการประเมินความสามารถในการย่อยได้ของใบ เมล็ด และฝักของมะรุม โดยใช้เทคนิคการผลิตแก๊สในหลอดทดลองพบว่า ใบมะรุมมีความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบอินทรีย์ (74.3%) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (9.94%) และมีปริมาณแก๊สที่ 24 ชั่วโมง (45.6 มิลลิลิตร/200 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) สูงกว่าเมล็ดและฝักของมะรุม นอกจากนี้ ชาลิ้น และคณะ (2560)

รายงานว่าการสับปะรดหมักมีความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง และมีปริมาณแก๊สสะสมที่สูงกว่าเปลือกสับปะรดและใบสับปะรดหมัก นอกจากนี้ เทคนิคการผลิตแก๊สในหลอดทดลองยังเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการศึกษาการย่อยได้เบื้องต้นของอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากสามารถทำได้รวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่าย เหมาะสำหรับการคัดเลือกชนิดพืชท้องถิ่นและเศษเหลือทางการเกษตร ร่วมกับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารสำคัญของวัตถุดิบ เช่น ปริมาณสารฟีนอลิก ที่จะสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการย่อยได้ของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร และทดสอบประสิทธิภาพในการปรับปรุงคุณภาพการหมักในกระเพาะหมัก โดยการทดสอบจุลชีวศาสตร์การผลิตแก๊ส และความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ใช้พืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร รวม 6 ชนิด ใบชา กากชา เซอร์กาแฟ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ กากกาแฟ และใบหม่อน โดยทำการเก็บตัวอย่างใบชาจากพื้นที่ในอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ วัสดุเศษเหลือทางการเกษตรของกาแฟจากสถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และใบหม่อนจากพื้นที่อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ตามลำดับ นำตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดผ่านตะแกรงขนาด 1.5 มม. บรรจุใส่ถุงเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าทำการทดลองขั้นต่อไป

ทำการสกัดสารจากตัวอย่างโดยนำตัวอย่าง 3 กรัม ไปสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% (v/v) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิก โดยรวมและวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ไขมันรวม (ether extract, EE) และเถ้า (ash) ตามวิธีของ AOAC (1995) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อใย (detergent fiber analysis) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) ลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) ตามวิธีของ Van Soest et al. (1991) และวิเคราะห์หาค่าพลังงานโดยรวม (gross energy, GE) โดยใช้เครื่อง bomb calorimeter (Cal2K, DDS Calorimeter, South Africa)

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก

ทำการศึกษาริมาณสารฟีนอลิก โดยดัดแปลงจากวิธีของ Agbor et al. (2014) ใช้ตัวอย่างที่สกัดแล้วปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ใส่ในไมโครเพลท 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย 0.2 N Folin-Ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร และน้ำปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO₃) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 125 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) แสดงปริมาณสารฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/ 1 กรัม

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทำการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยทั้งหมด 3 วิธี โดยวิธีแรก คือ ดีพีพีเอช (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) (DPPH) radical scavenging assay ดัดแปลงจากวิธีของ Cuvelier and Berset (2007) โดยเตรียม DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ ละลายในเอทานอล 95% (v/v) จากนั้นทำการทดสอบสารตัวอย่าง โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 60 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท 96 หลุม เติมสารละลาย DPPH 60 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Trizma buffer ปริมาตร 60 ไมโครลิตร และเอทานอล 85%(v/v) ปริมาตร 60

ไมโครลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีเอบีทีเอช (ABTS radical cation decolorization assay) ดัดแปลงจากวิธีของ Arnao et al. (2001) โดยเตรียมสารละลาย ABTS 19.5 มิลลิกรัม ผสมกับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 3.3 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง ทำการทดสอบสารตัวอย่างโดยผสมสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท 96 หลุม ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยการรายงานค่าของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ในหน่วยความเข้มข้นของสารละลายที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (50% Inhibitory concentration, IC_{50}) จากการพหุคูณสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%Inhibition) กับความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยคำนวณ %Inhibition จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{control}}) * 100$$

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม และ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay ดัดแปลงจากวิธีของ Ben Ahmed et al. (2016) โดยเตรียมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ความเข้มข้น 27.8 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และสารละลายทีพีทีแซต (2,4,6-tripyridyl-5-triazine, TPTZ) ในกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 3.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) pH 3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบสารตัวอย่างโดยผสมสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร กับสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต 280 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท 96 หลุม ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ในอุณหภูมิห้องและที่มืด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต แสดงค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในรูปของ ไมโครโมลาร์ของเฟอร์รัส/1 กรัม

การศึกษาจากศาสตร์การผลิตแก๊สและความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง

ทำการศึกษาในหลอดทดลองตามวิธีการของ Menke et al. (1979) โดยใช้ตัวอย่าง 230 มิลลิกรัม บรรจุลงในหลอดแก้ว (glass syringe) ขนาด 60 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมของเหลวจากกระเพาะหมักของโค (rumen fluid) จากโคมันพันธุ์ไฮลอสโตน์ฟรีเซียน จำนวน 2 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 330 ± 12 กิโลกรัม ที่ได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีนที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ วันละ 1 กก. และอาหารหยาบเป็นฟางข้าวให้กินเต็มที่ (*ad libitum*) ได้รับอาหารวันละ 2 ช่วงคือ 7:00 น. และ 17:00 น. โดยการใช้ท่อสอดทางปากเพื่อทำการดูด rumen fluid ผสมร่วมกับสารละลายบัฟเฟอร์ (pH 6-7) สารละลายแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองต่าง ๆ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่ควบคุมอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จากนั้นบรรจุใส่หลอดแก้วปริมาตร 40 มิลลิลิตร ทำการเก็บข้อมูลวัดผลผลิตแก๊ส ณ เวลา 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง นำค่าผลผลิตแก๊สมาค่าคงที่ a, b และ c จากโปรแกรม sigmaplot ตามสมการของ Orskov and McDonald (1979) เพื่อใช้อธิบายจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส ดังสมการนี้

$$y = a + b [1 - e^{(-ct)}]$$

เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t, a = จุดตัดแกน y ใช้บ่งบอกถึงปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ มีหน่วยเป็น มิลลิลิตร, b = ค่าปริมาณแก๊ส ณ จุดที่เส้นกราฟราบเรียบ เป็นค่าที่บ่งบอกปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายองค์ประกอบที่ละลายได้ยาก หรือศักยภาพในการย่อยสลายอาหาร ถ้าค่า b สูง ศักยภาพในการย่อยสลายก็สูง มีหน่วยเป็น มิลลิลิตร, c = อัตราการเกิดแก๊ส มีหน่วยเป็น % / ชั่วโมง, e = exponential, t = เวลาการเกิดแก๊ส และค่าศักยภาพในการผลิตแก๊ส (d) ประเมินจากสมการ $d = |a| + b$

จากนั้นทำการประเมินหาค่าผลผลิตแก๊สรวมที่เวลา 24 ชั่วโมง (มิลลิลิตร) เพื่อใช้ในการคำนวณการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (Organic matter digestibility; OMD) และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy; ME) จากสมการของ Blümmel et al. (1997) โดยใช้ค่าปริมาณแก๊สสะสมที่ 24 ชั่วโมง (Gas production) ดังนี้

$$\text{Gas production (ml./200 mg DM, 24 h)} = [(V_{24} - V_0 - GP_0) * 200 * (F_h + F_c)/2] / W$$

$$\text{Metabolizable energy (ME, MJ/Kg DM)} = 2.20 + 0.136Gv + 0.057CP + 0.0029CF$$

$$\text{Organic matter digestibility (OMD, \%)} = 14.88 + 0.88Gv + 0.45CP + 0.651XA$$

เมื่อ V_o = ปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดที่อ่านได้ข้างหลอดก่อน incubate, V_{24} = ค่าที่อ่านได้ข้างหลอดเมื่อ incubate ได้ 24 ชั่วโมง, GP_o = ค่าเฉลี่ยของแก๊สที่เกิดในหลอด Blank อ่านที่ 24 ชั่วโมง, $Fh = 44.16 / (GP_h - GP_o)$; roughage correction factor, $Fc = 62.6 / (GP_c - GP_o)$; concentrate correction factor, W = น้ำหนักตัวอย่างเป็น มิลลิกรัม DM, Gv = ปริมาณแก๊สที่ 24 ชั่วโมง (มิลลิลิตร/200 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง), CP = โปรตีนหยาบ, CF = เยื่อใยหยาบ, XA = เถ้า

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of variance: ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม Statistical Package for Social Science (SPSS) เวอร์ชัน 20

ผลการศึกษา

องค์ประกอบทางเคมี

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร (Table 1) พบว่า กากกาแฟ มีปริมาณวัตถุแห้งสูงกว่าตัวอย่างอื่น (92.66%) รองลงมา คือ ใบหม่อน (91.96%) อย่างไรก็ตามเขตรีกาแฟมีวัตถุแห้งน้อยกว่าตัวอย่างอื่น (86.99%) ทั้งนี้ ใบหม่อนมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าตัวอย่างอื่นอีกด้วย (22.96%) นอกจากนี้ ใบชาพบว่ามีปริมาณโปรตีนที่สูงเช่นกัน (20.35%) อีกทั้งใบหม่อนมีปริมาณเยื่อใย ADF และ ADL ต่ำกว่าตัวอย่างอื่น (13.93, 13.26 และ 9.67%) นอกจากนี้ กากชา มีปริมาณ ADL สูงกว่าตัวอย่างอื่น (29.72%)

Table 1 Chemical compositions of local plants and agricultural residues (as fed basis)

Chemical compositions (%)	Tea leaf	Tea residue	Coffee cherry	Coffee silver skin	Coffee residue	Mulberry leaf	SEM
Dry matter	91.06	89.83	86.99	91.07	92.66	91.96	0.42
Crude protein	20.35	2.95	10.22	7.83	2.11	22.96	2.03
Ash	5.78	3.61	8.26	4.25	2.20	14.42	1.68
NDF	39.1	41.33	36.08	45.90	44.11	26.06	1.93
ADF	29.66	37.45	39.32	26.76	30.78	13.26	2.47
ADL	12.83	29.72	19.36	25.33	28.77	9.67	1.33
Gross energy (Kcal/g)	4.59	3.90	3.96	4.29	3.42	3.75	0.14

NDF; Neutral detergent fiber, ADF; acid detergent fiber, ADL; acid detergent lignin

ปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content; TPC) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

ปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรแสดงใน Table 2 จากการศึกษาระดับสารฟีนอลิก พบว่า เขตรีกาแฟมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด (152.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/1 กรัม) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P < 0.05$) รองลงมา คือ ใบชาและใบหม่อน (119.03 และ 110.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/1 กรัม) อย่างไรก็ตาม พบว่า กากชา มีปริมาณสารฟีนอลิกน้อยที่สุด (16.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/1 กรัม) ทั้งนี้ เมื่อทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ใบชา มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P < 0.05$) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.72 และ 14.53 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ อีกทั้งใบชา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP

(170.17 ไมโครโมลาร์ของเพอร์รีส/ 1 กรัม) นอกจากนี้ใบหม่อนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าใบชา แต่สูงกว่าเชอร์รี่กาแฟ ในวิธี DPPH และ FRAP (14.47 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 71.33 ไมโครโมลาร์ของเพอร์รีส/ 1 กรัม, ตามลำดับ) แต่ใบหม่อนและเชอร์รี่กาแฟไม่มีความแตกต่างทางสถิติของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ($P>0.05$)

Table 2 The total phenolic content and antioxidant activity of local plants and agricultural residues

Plants and agricultural residues	Tea leaf	Tea residue	Coffee cherry	Coffee silver skin	Coffee residue	Mulberry leaf	SEM	P-Value
Total phenolic (mg GAE/g)	119.03 ^e	16.14 ^a	152.03 ^f	45.22 ^b	60.28 ^c	110.98 ^d	5.64	<0.05
DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	5.72 ^a	nd	42.62 ^c	nd	58.79 ^d	14.47 ^b	3.12	<0.05
ABTS IC ₅₀ (mg/ml)	14.53 ^a	nd	32.23 ^b	nd	48.93 ^c	30.46 ^b	3.60	<0.05
FRAP ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$)	170.17 ^f	3.95 ^a	41.84 ^d	9.31 ^b	37.55 ^c	71.33 ^e	7.93	<0.05

nd = not detect; DPPH = 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging assay; ABTS = 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); FRAP = Ferric ion reducing antioxidant power.

a, b, c, d, e and f Within a row, means with different superscripts differ ($P<0.05$). Values are means $\pm$ SD

จลศาสตร์การผลิตแก๊สและความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง

ค่าจลศาสตร์การผลิตแก๊สของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรแสดงใน **Table 3** พบว่า ค่า a บ่งบอกถึงปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายองค์ประกอบที่สามารถละลายในน้ำได้ พบว่า เชอร์รี่กาแฟมีค่าสูงที่สุด (1.78 มิลลิลิตร) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) รองลงมา คือ ใบชา (0.87 มิลลิลิตร) และกากชาหมีค่า a ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) นอกจากนี้ ศักยภาพการย่อยสลายของอาหาร หรือค่า b พบว่าใบหม่อนมีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) เชอร์รี่กาแฟมีค่า b รองลงมาจากใบหม่อน และกากกาแฟมีค่า b ต่ำที่สุด ถัดมาค่า c คือ อัตราการผลิตแก๊สโดยเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการหมักของอาหาร ในทุกตัวอย่างพืชพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ ค่า d บ่งบอกถึง ศักยภาพในการผลิตแก๊สของอาหาร พบว่า เชอร์รี่กาแฟและใบหม่อน มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) และกากกาแฟมีค่า d ต่ำที่สุด

การสะสมแก๊สและความสามารถในการย่อยได้ของพืชท้องถิ่นและวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร พบว่า ใบหม่อนมีปริมาณแก๊สสะสมมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) รองลงมา คือ เชอร์รี่กาแฟ ในขณะที่กากกาแฟมีปริมาณแก๊สสะสมน้อยที่สุด (**Figure 1**) ทั้งนี้จากการวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นใน 24 ชั่วโมง นำมาคำนวณความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (**Table 3**) พบว่า เชอร์รี่กาแฟมีการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุสูงที่สุด (61.06%) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) รองลงมาคือ ใบหม่อน (59.70%) อย่างไรก็ตาม กากชาพบว่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุต่ำที่สุด (25.76%) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ($P<0.05$) นอกจากนี้การคำนวณพลังงานที่สามารถใช้ประโยชน์ได้จากปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นใน 24 ชั่วโมง พบว่า ใบหม่อน มีพลังงานที่สามารถใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุด (9.63 เมกะจูล/กิโลกรัม วัตถุแห้ง) ในขณะที่กากชาและกากกาแฟมีพลังงานที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ต่ำที่สุด

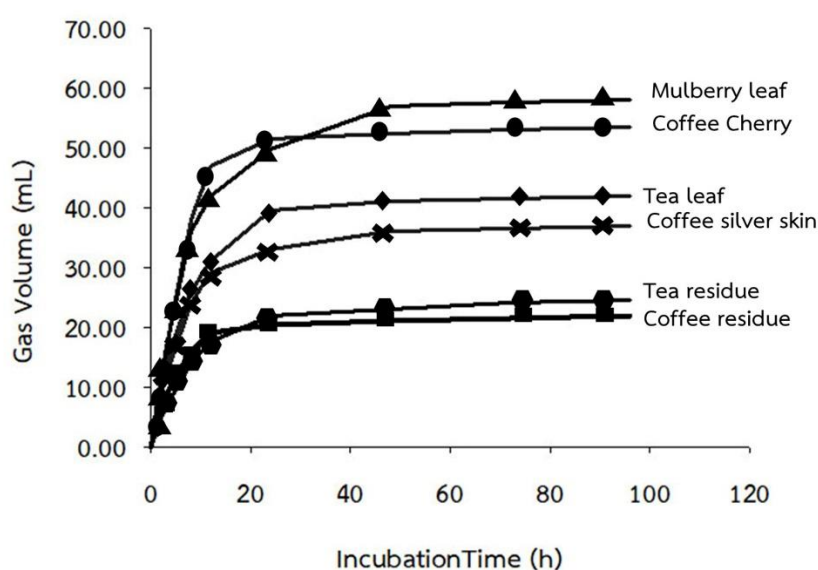


Figure 1 Cumulative gas production (ml) of local plants and agricultural residues at different times of incubation

Table 3 Effect of local plants and agricultural residues on gas kinetics, *in vitro* organic matter digestibility and metabolizable energy

Parameters	Tea leaf	Tea residue	Coffee cherry	Coffee silver skin	Coffee residue	Mulberry leaf	SEM	P-value
Kinetics of gas production								
a (ml)	0.87 ^d	0.06 ^a	1.78 ^e	0.23 ^b	0.25 ^b	0.39 ^c	0.252	<0.05
b (ml)	40.68 ^d	23.84 ^b	55.22 ^e	35.99 ^c	21.13 ^a	56.50 ^f	4.137	<0.05
c (%/h)	0.12	0.11	0.15	0.13	0.17	0.11	0.056	0.47
d (ml)	41.55 ^d	23.90 ^b	57.00 ^e	36.22 ^c	21.36 ^a	56.89 ^e	4.254	<0.05
IVOMD (%), 24 h	49.42 ^c	25.76 ^a	61.06 ^e	44.62 ^b	28.50 ^a	59.70 ^d	2.707	<0.05
ME (MJ/Kg DM)	7.57 ^c	3.87 ^a	8.42 ^d	6.84 ^b	4.32 ^a	9.63 ^e	0.429	<0.05

a = gas production from soluble fraction; b = gas production from degradable fraction; c = rate of gas production; d = potential of gas production; IVOMD = *In vitro* organic matter digestibility; ME = metabolizable energy

a, b, c, d, e and f Values on the same row with different superscripts differ at $P < 0.05$

วิจารณ์

เนื่องจากอาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้น ส่งผลต่อต้นทุนในการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มากขึ้นตามไปด้วย วัสดุเศษเหลือทางการเกษตร จึงมีความน่าสนใจในการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง อย่างไรก็ตาม การศึกษาของคณะประกอบทางเคมี จลศาสตร์การผลิตแก๊ส และความสามารถในการย่อยได้ มีความจำเป็นต้องศึกษาก่อนนำวัสดุเศษเหลือเหล่านั้นมาใช้เป็นอาหารสัตว์ นอกจากนี้ ยังศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในพืชและเศษเหลือทางการเกษตร ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาโดยใช้พืชที่นิยมปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ คือ ชา กาแฟ ใบหม่อน อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการผลิตชา และกาแฟ พบว่า มีเศษเหลือจากกระบวนการผลิตจำนวนมาก เช่น กากชา เซอร์ริก้ากาแฟ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ และกากกาแฟ โดยเศษวัสดุเหล่านี้ในบางพื้นที่ถูกทำลายโดยการเผา ส่งผลต่อเกิดปัญหามลภาวะกับสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะหมอกควันในช่วงฤดูแล้ง การกำจัดทิ้งให้เหมาะสมจำเป็นต้องใช้เงินทุนจำนวนมาก ดังนั้น การนำวัสดุเศษเหลือเหล่านี้มา

ใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการกำจัดและใช้ประโยชน์ จากการศึกษาพบว่า ใบหม่อนและใบชาเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูง อีกทั้งใบหม่อนยังมีปริมาณ NDF ADF และ ADL ต่ำสอดคล้องกับรายงานของ Saddul et al. (2005) ที่รายงานว่าใบหม่อนเป็นพืชเยื่อใยต่ำ และมีโปรตีนสูงและ Ustundag and Ozdogan (2015) ยังรายงานว่าใบหม่อนมีเยื่อใยอยู่ในช่วง 9.9 – 13.85% และโปรตีนอยู่ในช่วง 15.31- 30.91% ในขณะที่ใบชา มี NDF ADF และ ADL สูง มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Babayemi et al. (2006) ที่รายงานว่าใบชา มีโปรตีนอยู่ในช่วง 16.40 – 24.67 % และมี NDF อยู่ในช่วง 39.05 – 44.21% นอกจากนี้ จากการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในพืชยังพบว่า มีสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ (Wada and Ou, 2002) เช่น สารฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีความสามารถในการส่งเสริมในการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Chew, 1996) โดย Kim et al. (2013) รายงานว่า สารพฤกษเคมี เช่น ฟลาโวนอยด์จากสารสกัดเข้มข้นและใบแปะก๊วยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัวและส่งเสริมการทำงานของ *Fibrobacter succinogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมัก โดยการศึกษาพบว่า ใบชา เซอร์รีกาแฟ และใบหม่อนเป็นพืชที่มีสารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่รายงานว่าใบชา (Namal, 2013) ใบหม่อน (Chang et al., 2011) และ เซอร์รีกาแฟ (Murthy and Naidu, 2012) เป็นพืชที่มีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง อีกทั้งสารประกอบฟีนอลิก เช่น แทนนินยังส่งผลต่อการลดลงของแก๊สที่ผลิตขึ้นในหลอดทดลอง (Babayemi et al., 2006) อย่างไรก็ตาม การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารสำคัญในพืชเป็นการประเมินคุณค่าทางอาหารเบื้องต้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาการย่อยได้ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นการจำลองกระบวนการย่อยได้ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในหลอดทดลอง (Blümmel et al., 1997) โดยทำการทดสอบจุลศาสตร์การผลิตแก๊ส ผลผลิตแก๊สสะสม และความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ พบว่า เซอร์รีกาแฟ ใบชาและใบหม่อน มีค่าความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ (a) เป็นค่าปริมาณการผลิตแก๊ส ณ เวลาที่ 0 ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากเซอร์รีกาแฟอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรต (Janissen and Huynh, 2018) และแพคติน (ไพโรจน์ และคณะ, 2550) เป็นส่วนที่สามารถละลายได้ง่าย โดย Sallam et al. (2007) รายงานว่าแก๊สที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักมาจากคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักมากกว่าโปรตีนหรือไขมัน นอกจากนี้ยังมีศักยภาพการย่อยสลายของอาหารได้ของจุลินทรีย์ (b) โดยส่วนที่ไม่ถูกละลายแต่ถูกหมักย่อยเป็นส่วนที่บ่งบอกถึงศักยภาพในการย่อยได้ของอาหารสูงกว่ากากชา เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ และกากกาแฟ แสดงว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถนำอาหารจากเซอร์รีกาแฟ ใบชา และใบหม่อนไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่า ทั้งนี้กากชา เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ และกากกาแฟ มีองค์ประกอบของเยื่อใยสูงส่งผลให้ไม่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยโปรตีน อีกทั้งยังมีปริมาณลิกนินสูง โดย Akmar et al. (1996) รายงานว่า พืชอาหารที่มีปริมาณลิกนินสูงส่งผลให้ค่าการย่อยได้ลดลง โดยลิกนินจะขัดขวางการย่อยของคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Sallam et al., 2007) นอกจากนี้เซอร์รีกาแฟ ใบชา และใบหม่อน มีปริมาณสารฟีนอลิกสูง โดยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มย่อยเยื่อใย เช่น *Fibrobacter succinogenes* (Kim et al., 2015) เป็นต้น ยังมีค่า a และ b สูง ส่งผลเกี่ยวเนื่องให้ศักยภาพในการผลิตแก๊สของอาหาร (d) สูง ปริมาณการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุใน 24 ชั่วโมงและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สูงขึ้นอีกด้วย โดย Sallam et al. (2007) อธิบายว่า ปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักมีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้

สรุป

จากการศึกษาพบว่า ใบชา ใบหม่อน และเซอร์รีกาแฟ เป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยมีโปรตีนโดยรวม 20.35, 22.96 และ 10.22% ตามลำดับ นอกจากนี้ เซอร์รีกาแฟมีสารฟีนอลิกสูงสุด (152.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/1 กรัม) และยังมีศักยภาพในการย่อยได้ในหลอดทดลองสูงที่สุดจากค่าจุลศาสตร์การผลิตแก๊ส โดยมีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ (a) ศักยภาพการย่อยสลายของอาหารได้ของจุลินทรีย์ (b) สูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น (1.78 และ 55.22 มิลลิลิตร ตามลำดับ) อีกทั้งยังมีการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุด (66.06% และ 8.42 เมกะจูล/กิโลกรัม วัตถุแห้งตามลำดับ) ดังนั้น จึงแสดงให้เห็นว่าเซอร์รีกาแฟมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ อย่างไรก็ตาม ต้องมีการศึกษาการย่อยได้และผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในตัวสัตว์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2561. หม่อน: ปีเพาะปลูก 2561. แหล่งข้อมูล: <http://www.agriinfo.doae.go.th/year62/plant/rortor/perennial/mulberry>. ค้นเมื่อ 28 ตุลาคม 2563.
- ฉลอง วชิราภากร จันทรา วงศ์เนตร อนุสรณ์ เชิดทอง และ กันยา พลแสน. 2559. ผลของกากเอทานอลแห้งในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำมันในโคให้นม. วารสารเกษตร. 32(2): 247-259.
- ชาลินี ตีฆลิบ, พรพรรณ แสนภูมิ, อนันท์ เชาว์เครือ และ เสมอใจ บุรินอก. 2560. การย่อยได้และผลผลิตแก๊สในหลอดทดลองของเศษเหลือสับประรดหมัก เพื่อใช้เป็นอาหารหยาบทดแทนในช่วงฤดูแล้ง. แก่นเกษตร. 45(ฉบับพิเศษ 1): 27-32.
- ฐิติมา นรโภค ธนิตพันธ์ พงษ์จงมิตร นพรัตน์ ผกาเชิด ทิพย์สุตา บุญมาทัน และ อนุสรณ์ เชิดทอง. 2562. การศึกษาข้อมูลการเลี้ยงโคนเนื้อของเกษตรกรจังหวัดกาฬสินธุ์และผลของการให้อาหารเสริมในโคนเนื้อแบบปล่อยเลี้ยง. แก่นเกษตร. 47(3): 587-594.
- ไพโรจน์วิริยจารี, เรวัตกร พงษ์พิสุทธินันท์, สุจินดา ศรีวัฒนะ, จิรนนท์ โนวิชัย และสุภกิจ ไชยพุด. 2550. การพัฒนาคุณภาพพันธุ์อาราบิก้าจากผลพลอยได้ของกระบวนการแปรรูปกาแฟระยะที่ 1 : การผลิตเมล็ดกาแฟดิบด้วยเทคโนโลยีทางเอนไซม์. สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2563. ปศุสัตว์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563. แหล่งข้อมูล: <http://ict.dld.go.th/webnew/index.php/th/service-ict/report/340-report-thailandlivestock/reportservey2563/1504-2563-country>. ค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2563.
- สุริยะ สะวานนท์ คงปฐม กาญจนเสริม ริเชษฐ์ พึ่งชัย พิระพงษ์ เหมือนตา และ ปฐวรินทร์ พันธุมাত্র. 2554. ผลของการเสริมกระถินหมักและระยะเวลาในการตอนต่อสมรรถภาพการผลิตคุณลักษณะซาก และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการขุนโคเนื้อลูกผสมเพศผู้. วิทยาสารกำแพงแสน. 9(3): 28-39.
- Abera M. 2012. Assessing the feeding values of leaves, seeds, and seeds-removed pods of *Moringa stenopetala* using in vitro gas production technique. African Journal of Biotechnology. 11: 11342–11349.
- Agbor, G. A., J. A. Vinson, and P. E. Donnelly. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics. 3: 147–156.
- Akmar, P. F., W. Rashida, W. A. Kadir, W. A. Ibrahim, and S. Noraklakman. 1996. Products from oil palm residues. pp. 588-590. In: Proceedings of the Agricultural Conference on International Palm Oil Congress, 23-28 September 1996, Kuala Lumpur. Palm Oil Research Institute of Malaysia.
- AOAC. 1995. Official Method of Analysis, 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Arnao, M. B., A. Cano, and M. Acosta. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry. 73: 239–244.
- Babayemi, O. J., R. A. Hamzat, M. A. Bamikole, N. F. Anurudu, and O. O. Olomola. 2006. Preliminary studies on spent tea leaf: *In vitro* gas production as affected by chemical composition and secondary metabolites. Pakistan Journal of Nutrition. 5: 497–500.
- Ben Ahmed, Z., M. Yousfi, J. Viaene, B. Dejaegher, K. Demeyer, D. Mangelings, and Y. Vander Heyden. 2016. Determination of optimal extraction conditions for phenolic compounds from: *Pistacia atlantica* leaves using the response surface methodology. Analytical Methods. 8: 6107–6114.
- Blümmel, M., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: A technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 77: 24–34.
- Chang, L., L. Juang, B. Wang, M. Wang, H. Tai, W. Hung, Y. Chen, and M. Huang. 2011. Antioxidant and antityrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. Food and Chemical Toxicology. 49: 785–790.
- Chew, B. P. 1996. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. Animal Feed Science and Technology. 59: 103–114.
- Cuvelier, M. E., and C. Berset. 2007. 4A standard calibration techniques. The Microflow E-Book. 30: 1–21.

- Iqbal, S., U. Younas, Sirajuddin, K. W. Chan, R. A. Sarfraz, and M. K. Uddin. 2012. Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of mulberry (*Morus* sp.): A Comparative Study. *International Journal of Molecular Sciences*. 13: 6651–6664.
- Janissen, B., and T. Huynh. 2018. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: a review. *Resources, Conservation and Recycling*. 128: 110–117.
- Kim, E. T., K. S. Min, C. H. Kim, Y. H. Moon, S. C. Kim, and S. S. Lee. 2013. The effect of plant extracts on in-vitro ruminal fermentation, methanogenesis and methane-related microbes in the rumen. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26: 517–522.
- Kondo, M., K. Kita, and H. Yokota. 2004. Effects of tea leaf waste of green tea, oolong tea, and black tea addition on sudan grass silage quality and in vitro gas production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 721–727.
- Ma, T., D. D. Chen, Y. Tu, N. F. Zhang, B. W. Si, and Q. Y. Diao. 2017. Dietary supplementation with mulberry leaf flavonoids inhibits methanogenesis in sheep. *Animal Science Journal*. 88: 72–78.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science*. 93: 217–222.
- Murthy, P. S., and M. M. Naidu. 2012. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. *Food and Bioprocess Technology*. 5: 897–903.
- Namal Senanayake, S. P. J. 2013b. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications - a review. *Journal of Functional Foods*. 5: 1529–1541.
- Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*. 92: 499–503.
- Polyorach, S., M. Wanapat, A. Cherdthong, and S. Kang. 2016. Rumen microorganisms, methane production, and microbial protein synthesis affected by mangosteen peel powder supplement in lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*. 48: 593–601.
- Saddul, D., Z. A. Jelan, J. B. Liang, and R. A. Halim. 2005. Evaluation of mulberry (*Morus alba*) as potential feed supplement for ruminants: The effect of plant maturity on in situ disappearance and in vitro intestinal digestibility of plant fractions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 18: 1569–1574.
- Sallam, S. M. A., M. E. A. Nasser, A. M. El-Waziry, I. C. S. Bueno, and A. L. Abdalla. 2007. Use of an in vitro rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. *Journal of Applied Sciences Research*. 3: 34–41.
- Ustundag, A. O., and Ozdogan, M. 2015. Usage possibilities of mulberry leaves in poultry nutrition. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*. 58: 170-178.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583–3597.
- Wada, L., and B. Ou. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3495–3500.
- Zhang, Y. X., W. C. Ke, J. Bai, F. H. Li, D. M. Xu, Z. T. Ding, and X. S. Guo. 2020. The effect of *Pediococcus acidilactici* J17 with high-antioxidant activity on antioxidant, α -tocopherol, β -carotene, fatty acids, and fermentation profiles of alfalfa silage ensiled at two different dry matter contents. *Animal Feed Science and Technology*. 268: 114614.