วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



ผลการใช้สารเสริมจากพืชแทนนินและฟีนอลิคสูงในอาหารโคขุนต่อจลนศาสตร์การผลิตแก๊สและการย่อยได้ในหลอดทดลอง

Effect of high tannin and phenolic rich plant additive in fattening beef cattle diets on In vitro gas production kinetics and degradability

พิชาด เขจรศาสตร์[1]*, สุขุมาภรณ์ ศรีเผด็จ[1], ธีระยุทธ จันทะนาม[1], วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่[1], ประพจน์ มลิวัลย์[2] และ สมนึก สอนนอก[3]

Pichad Khejornsart[1]*, Sukhumaporn Sriphadet[1], Theerayut Juntanam[1], Watcharawit Meenongyai[1], Prapot Maliwan[2] and Somnuek Sornnok[3]

[1] *ภาควิชาเกษตรและทรัพยากร คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร*

[1] *Department of Agriculture and Resources, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermpharkiat Sakon Nakhon Province Campus*

[2] *สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240*

[2] *Program in Animal Science, Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thungyai, Nakhon Si Thammarat 80240*

[3] *สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี*

[3] *Department of Agricultural Science and Fisheries, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani campus 94000*

บทคัดย่อ: ศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของการใช้สารเสริมจากพืชบางชนิดที่มีสารประกอบแทนนินและโพลีฟีนอลสูงในอาหารโครยะขุนที่ใช้อัตราส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นต่อจลนศาสตร์การผลิตแก๊ส การย่อยได้ในหลอดทดลอง และการสังเคราะห์จุลินทรีย์ การทดลองครั้งนี้ใช้แผนการทดลองแบบ 2 × 5 factorial in CRD จำนวน 5 ซ้ำ ประกอบด้วยปัจจัย A คือ อัตราส่วนอาหารข้น:อาหารหยาบ (A1 = 30:70 และ A2 = 70:30) และปัจจัย B คือ สารเสริมจากพืช 5 ชนิด ได้แก่ B1=ลูกมะกอกป่า, B2 = ลูกมะขามป้อม, B3 = ใบสะเดา, B4 = สารเสริมอัดเม็ด Cysteamine-nitrate- mangosteen peel, B5 = ไม่เสริม) จากการศึกษาพบว่ามีแนวโน้มของอิทธิพลร่วมระหว่างการเสริมพืชที่มีองค์ประกอบแทนนินและโพลีฟีนอลกับสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น (P=0.06) แต่การให้อาหารข้นในสัดส่วนสูง (R:C, 30:70) จะส่งผลให้ผลผลิตแก๊สสะสม ผลผลิตแก๊สจากส่วนที่ย่อยสลายได้ (a) ศักยภาพการผลิตแก๊ส (b) และการย่อยได้ของวัตถุแห้งในหลอดทดลองเพิ่มขึ้น (P<0.05) เมื่อทำการเสริมพืชที่มีองค์ประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงไม่ส่งผลผลิตแก๊สสะสม ผลผลิตแก๊สจากส่วนที่ย่อยสลายได้ ศักยภาพการผลิตแก๊ส และการย่อยได้ของอินทรียวัตถุของอาหารโคขุน (P>0.05) ขณะที่การการใช้อัตราส่วนอาหารข้นสูงร่วมกับสารเสริมจาก Cysteamine-nitrate- mangosteen peel และมะขามป้อมจะทำให้เพิ่มค่าการใช้ประโยชน์ได้พลังงาน กรดไขมันที่ระเหยได้และการสังเคราะห์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (P<0.05) ดังนั้น การใช้พืชที่มีแทนนินและฟีนอลิคสูงในท้องถิ่นสามารถนำมาใช้เป็นสารเสริมธรรมชาติที่ช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพกระบวนรูเมนได้ อย่างไรก็ตามควรศึกษาระดับที่เหมาะสมและผลของการใช้สารเสริมพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลสูงต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของโคขุนในลำดับต่อไป

คำสำคัญ: สารเสริมพืชแทนนินสูง; จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส; การย่อยได้ในหลอดทดลอง; อาหารโคขุน

* Corresponding author: fnapck@ku.ac.th

Received: date; June 9, 2025 Revised: date; November 14, 2025

Accepted: date; November 19, 2025 Published: date; April 9, 2026

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the effect of high tannin and polyphenol plants as feed additive for fattening beef cattle with different ratios of roughage to concentrate on gas production kinetic, digestibility, total volatile fatty acid and microbial biomass production using *in vitro* gas production techniques. The experimental design was a 2 x 5 factorial arrangement in a completely randomized design (CRD) with 5 replications. Factor A had two ratios of R:C (A1 =30:70; A2 = 70:30). Factor B (additive) consisted of five types which were B1= *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, B2 = *Phyllanthus emblica*, B3 = *Azadirachta indica*, B4 = Cysteamine-nitrate-mangosteen peel and B5 = no additive. There was no significant interaction between these factors, and high concentration feed (R:C, 30:70) showed significantly improved in vitro gas production kinetics and degradability. Supplementation of high tannin and polyphenol plant did not alter the accumulative gas production, gas production from soluble fraction (a), gas production from degradable fraction (b), potential of gas production, and DM disappearance (P>0.05). Incorporating high tannin and polyphenol plants, such as cysteamine-nitrate- mangosteen peel and *Phyllanthus emblica* may have enhanced ME and microbial biomass compared to the control group (P<0.05). Therefore, the use of local plants with high tannin and phenolic content can be used as natural supplements that could improve rumen fermentation efficiency. However, the inclusion of high tannin and polyphenol plants in fattening feed should be conducted for further study in an *in vivo* trial.
Keywords: high tannin plant additive; gas kinetics; *in vitro* degradability; fattening feed

บทนำ

อาหารสัตว์จัดเป็นต้นทุนหลักในการเลี้ยงขุนโคเนื้อ ด้วยความผันผวนของตลาดวัตถุดิบและความต้องการที่มากขึ้นส่งผลให้มีราคาสูงขึ้นจึงส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตสัตว์ที่มากขึ้นตามไปด้วย การผลิตเนื้อโคคุณภาพเป็นการเลี้ยงขุนโคเนื้อให้มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว เพื่อให้ได้เนื้อนุ่มและมีไขมันแทรกมาก อาหารจึงถือเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญต่อคุณภาพเนื้อ หากโคได้รับอาหารที่มีโภชนะที่เหมาะสมกับความต้องการและได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้โคมีสมรรถภาพการผลิตที่ดี โดยทั่วไปแล้วในขั้นตอนของการเลี้ยงขุนจะแตกต่างกันออกไปในแต่ละพื้นที่ ทั้งนี้อาจจะขึ้นอยู่กับปัจจัยของวัตถุดิบอาหารสัตว์ และระยะการเลี้ยงขุนโดยทั่วไปจะแบ่งได้เป็นระยะเริ่มขุน ระยะกลางและ ระยะปลายของการเลี้ยงขุน ซึ่งอาจจะใช้เวลายาวนานถึง 12-15 เดือน อาหารหยาบถือเป็นอาหารหลักของโคเนื้อและสามารถใช้เลี้ยงขุนในระยะเริ่มต้น อย่างไรก็ตามในฤดูแล้งมักขาดแคลนพืชอาหารสัตว์คุณภาพสูงที่ใช้ในการเลี้ยงโคขุนระยะแรก จึงนิยมฟางข้าวที่เป็นผลพลอยได้ทางการเกษตรที่ได้จากการปลูกข้าวมาเป็นอาหารหยาบหลัก (เมธา, 2533) โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นแหล่งผลิตโคเนื้อที่มีประชากรโคเนื้อมากที่สุดของประเทศถึง 5,281,988 ตัว คิดเป็นร้อยละ 55.66 ของประเทศ (กรมปศุสัตว์, 2568) ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มเกษตรกรหรือสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์หลายแห่ง ยกตัวอย่างเช่น สหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ กรป. กลาง โพนยางคำ จำกัด, บริษัทนครพนมบีฟ (ประเทศไทย) จำกัด, สหกรณ์การเกษตรหนองสูง จำกัด, สหกรณ์โคเนื้อวากิวสุรินทร์, และกลุ่มผู้เลี้ยงโคดำลำตะคลอง เป็นต้น

ถึงแม้ว่าการเลี้ยงโคจะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยเป็นอย่างมาก แต่ในด้านสิ่งแวดล้อม พบว่าการเกษตร ป่าไม้ และการใช้ประโยชน์ที่ดินอื่นๆ เป็นแหล่งกำเนิดแก๊สเรือนกระจกที่สำคัญเป็นลำดับที่สอง (ร้อยละ 17.86) รองลงมาจากภาคพลังงาน (ร้อยละ 65.89) และแหล่งกำเนิดของเสียอื่น (ร้อยละ 16.25) (BTR, 2024) เนื่องจากสัตว์เคี้ยวเอื้องมีกระบวนการหมักย่อยอาหารด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนเป็นโภชนะที่สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ เช่น กรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA) และจุลินทรีย์โปรตีน อย่างไรก็ตามมีจุลินทรีย์บางกลุ่มในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถเปลี่ยนสารอาหารต่างๆ ให้เป็นแก๊สมีเทน (CH_4) ที่สัตว์เคี้ยวเอื้องปลดปล่อยสู่บรรยากาศด้วยการเรอออกมาทางปาก มีการประมาณการณ์ว่าโคที่โตเต็มที่จะมีการปลดปล่อยแก๊สมีเทนสู่บรรยากาศวันละ 300-600 ลิตร ส่วนในโคพื้นเมืองไทยปลดปล่อยแก๊สมีเทนประมาณ 145-190 ลิตรต่อวัน การผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นหนึ่งในแหล่งหลักของการปล่อยแก๊สเรือนกระจกในภาคเกษตรกรรม โดยคิดเป็น 18% ถึง 33% ของการปล่อย CH_4 ทั้งหมดสู่สิ่งแวดล้อม แก๊สมีเทนในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งคาดว่ามีปริมาณอยู่ระหว่าง 80 ถึง 95 ล้านตัน มีส่วนสำคัญในการทำให้โลกร้อน เนื่องจากระหว่าง 2% ถึง 12% ของพลังงานทั้งหมดที่สัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับจะถูกแปลงเป็น CH_4 ในระหว่างการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และที่สำคัญไปกว่านั้นแก๊สมีเทนเป็นแก๊สที่ก่อให้เกิดปัญหาภาวะเรือนกระจกได้มากกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 23 เท่า แต่น้อยกว่าไนเตรต ดังนั้นความพยายามในการลดการปล่อยแก๊สเรือนกระจกจากการกระทำของมนุษย์นั้นต้องรวมถึงการลดการปล่อย CH_4 ใน

กระเพาะหมักด้วย มีการเสนอแนวทางต่างๆ หลายประการเพื่อลดการปล่อยแก๊สมีเทนในกระเพาะส่วนหน้า เช่น การจัดการอาหาร สารปรับเปลี่ยนในกระเพาะ และการเพิ่มผลผลิตของสัตว์ผ่านพันธุกรรมและการจัดการ (Khejornsart et al., 2024) มีโอกาสในการบรรเทาผลกระทบจากแก๊สมีเทนในกระเพาะหมัก เพื่อลดการปล่อย CH_4 ในกระเพาะหมักและแก๊สเรือนกระจกอื่นๆ ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง การเพิ่มผลผลิตของสัตว์ส่งผลให้การผลิต CH_4 ในกระเพาะหมักลดลงต่อการผลิตสัตว์ (นมและเนื้อ) และประสิทธิภาพอาหารสัตว์ดีขึ้น

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพโดยเฉพาะพืชพรรณนานาชนิด พืชในเขตร้อนนอกจากจะนำมาเป็นอาหารมนุษย์และยังมีคุณสมบัติทางยาตามตำรับสมุนไพร ทั้งนี้มักจะมีสารสำคัญหลากชนิด เช่น แทนนิน ซาโปนิน ฟีนอลิค เป็นต้น ก่อนหน้านี้มีการการศึกษาการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรเป็นสารเสริมเพื่อวัตถุประสงค์ปรับปรุงประสิทธิภาพกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Wanapat et al., 2008; Patra et al., 2017) นอกจากนี้ Khejornsart et al. (2021) ได้ศึกษาพืชสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ใบชะพลู ใบมะม่วงหิมพานต์ ใบกระโดน พบว่าสามารถนำมาใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อลดจำนวนโปรโตซัวในกระเพาะรูเมนและลดการปลดปล่อยแก๊สมีเทนลงได้ และ Polyorach et al. (2016) ได้ทดลองเสริมเปลือกมังคุดในอาหารโคปริมาณ 300 กรัม/ตัว/วัน ส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียในกระเพาะหมักทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ประชากรของโปรโตซัวและจุลินทรีย์กลุ่มผลิตแก๊สมีเทนลดลงเป็นผลให้ปริมาณแก๊สมีเทนลดลง Ma et al. (2017) รายงานว่าสารฟลาโวนอยด์ที่มีความสามารถในการช่วยลดจำนวนประชากรของจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตแก๊สมีเทน (methanogen) ในกระเพาะหมักของโคส่งผลให้การผลิตแก๊สมีเทนจากกระบวนการหมักภายในกระเพาะหมักลดลง นอกจากนี้มีรายงานว่า Kim et al. (2013) ศึกษาสารฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเข็มสนและใบแปะก๊วยต่อการย่อยได้ในหลอดทดลองพบว่ามีความสามารถในการส่งเสริมการทำงานของ *Fibrobacter succinogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมัก มีการศึกษาแพร่หลายแสดงให้เห็นว่าอาหารสัตว์ที่มีแทนนินสูงจะส่งผลให้กินอาหารลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยและรสชาติของสารอาหารที่เปลี่ยนไป (Min et al., 2002) อย่างไรก็ตามพืชที่มีแทนนินเข้มข้น (CT) สูง (โดยทั่วไป >50 ก./กก. DM) สามารถลดปริมาณการกินได้อาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ หากได้รับแทนนินในอาหารปานกลางหรือต่ำ (<50 ก./กก. DM) ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ (Wang et al., 2019) ในทางกลับกันการลดการสลายตัวของโปรตีนในกระเพาะและเพิ่มการไหลผ่านของโปรตีนจากกระเพาะหมัก ระดับแทนนินที่พอเหมาะ จะส่งผลดีต่อการกินได้ของอาหาร (Jayanegara et al., 2020) อีกทั้งในพืชเขตร้อนหลายชนิดพบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งความเครียดที่เกิดจากอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายระบบต่างๆ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคหลายชนิดที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการผลิตของโค (Iqbal et al., 2012) รวมไปถึงการเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น (Zhang et al., 2020) จากรายงานของ Swathi and Lakshman (2020) พบว่า มะกอกป่า (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) โดดเด่นด้วยคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลชีพ และต้านการอักเสบ ซึ่งสามารถเสริมสร้างสุขภาพและสมรรถภาพของปศุสัตว์ ขณะเดียวกันก็ส่งเสริมแนวทางปฏิบัติทางการเกษตรที่ยั่งยืนโดยการลดการปล่อย แก๊สมีเทน (Cherdthong et al., 2019) นอกจากนี้มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) เป็นที่รู้จักในด้านสารประกอบชีวภาพที่อุดมสมบูรณ์ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และกรดฟีนอลิค ซึ่งมีส่วนช่วยต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลชีพ ความสนใจที่เพิ่มขึ้นในการเสริมในปศุสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแก๊สมีเทน การเสริมด้วยมะขามป้อมในอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องส่งผลต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนและการปรับปรุงกระบวนการหมัก (Kholif et al., 2021) นอกจากนี้สะเดา (*Azadirachta indica*) ยังได้รับความสนใจอย่างมาก การนำสะเดามาใช้ในอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้น เป็นผลมาจากสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อุดมสมบูรณ์ ได้แก่ อะซาไดแรคติน ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการควบคุมกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนและปรับปรุงการใช้ ประโยชน์จากสารอาหารสามารถลดการผลิตแก๊สมีเทนได้ โดยการเปลี่ยนประชากรจุลินทรีย์และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมักโดยรวม (Elghandour et al., 2023) ทั้งนี้วัตถุดิบเหล่านี้มีความน่าสนใจในการใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต อย่างไรก็ตามวัตถุดิบที่นำมาใช้ควรต้องศึกษาคุณสมบัติการย่อยได้ก่อนใช้จริงในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยการศึกษาจลศาสตร์การผลิต ความสามารถในการย่อยได้โดยการเทคนิคการผลิตแก๊สในหลอดทดลอง (*In vitro gas* production technique) เป็นการประมาณค่าการย่อยได้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับนักโภชนาการสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นเทคนิคหนึ่งที่ช่วยในการประเมินการย่อยได้ของอาหารสัตว์ โดยมีหลักการว่า การหมักอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนทำให้เกิดแก๊สขึ้น (Menke and Steingass, 1988) ซึ่งปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น

สามารถนำมาใช้คำนวณอินทรียวัตถุที่ย่อยได้ (Degradability organic matter, DOM) และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) ในอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตาม สารสำคัญในพืช (Phytochemical) เช่น สารประกอบรองและน้ำมันหอมระเหย แทนนิน ซาโปนิน หรือฟีนอล ได้ให้ผลที่แตกต่างกันไป โดยมีสมมติฐานว่าจากการเสริมพืชบางชนิดที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงในอาหารโคสามารถปรับเปลี่ยนประสิทธิภาพกระบวนการหมักในรูเมนโดยไม่กระทบต่อการย่อยได้ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊ส ค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด และการผลิตจุลินทรีย์ของอาหารโคขุนที่ใช้สารเสริมจากพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงในอาหารโครยะขุนที่ใช้อัตราส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นต่างกัน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการใช้ทรัพยากรพืชในท้องถิ่นที่มีศักยภาพสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในเนื้อโคและลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างของอาหารโคขุนในหลอดทดลองเตรียมโดยสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารโคเนื้อจากฟาร์มโคขุนของสมาชิกสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ กรป กลาง จำกัด (สหกรณ์ฯ โพนยางคำ) ส่วนชนิดของพืชได้ทำการสุ่มเก็บในอุทยานป่าเต็งรังเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร ตัวอย่างพืช 4 ชนิด ได้แก่ ลูกมะกอกป่า (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz), ลูกมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*), ใบสะเดา (*Azadirachta indica*), สารเสริมอัดเม็ด Cysteamine-nitrate-mangosteen peel ตามลำดับ นำตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดผ่านรูตะแกรงขนาด 1.5 มม. บรรจุใส่ถุงเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าทำการทดลองขั้นต่อไป

การศึกษาจลนศาสตร์การผลิตแก๊สและความสามารถในการย่อยได้ในหลอดทดลอง

ในการศึกษานี้ทำการวัดศักยภาพการผลิตแก๊ส วางแผนการทดลองแบบ CRD จัดทรีตเมนต์เป็นแบบ 2 × 5 factorial ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัย A คือ อัตราส่วนอาหารข้น:อาหารหยาบ (A1 = 30:70 และ A2 = 70:30) และปัจจัย B คือ ชนิดของสารเสริมจากพืช 5 ชนิด ได้แก่ B1=ลูกมะกอกป่า, B2 = ลูกมะขามป้อม, B3 = ใบสะเดา, B4 = สารเสริมอัดเม็ด Cysteamine-nitrate- mangosteen peel, B5 = ไม่เสริม ใช้ขวดทดลองทรีทเมนต์ละ 6 ซ้ำ และ blank 4 ขวด รวมทั้งหมด 64 ขวด ทำการชั่งตัวอย่างอาหารตามกลุ่มทดลองลงในขวดๆละ 200 มิลลิกรัม และชั่งสารเสริมโดยสารเสริมทุกชนิดจะเสริมในอัตราส่วน 15 กรัม/กิโลกรัมอาหาร เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ตามวิธีการของ Menke and Steingass (1988) ทำการเตรียม buffer rumen inoculum โดยสุ่มเก็บของเหลวจากระเพาะหมักโคเนื้อจากโรงฆ่าสัตว์ในตอนเช้ากรองผ่านผ้าขาวบาง 4 ชั้นแล้วบรรจุลงในขวดรักษาอุณหภูมิแล้วรีบนำไปยังห้องปฏิบัติการอย่างรวดเร็ว ทำการผสมกับสารละลายน้ำลายเทียมในอัตราส่วนสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ต่อของเหลวจากรูเมน 1 ส่วน พร้อมทั้งทำการไล่ออกซิเจนออกด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ตลอดเวลา จากนั้นย้ายสารละลายลงในขวดวัคซีนขวดละ 40 มิลลิลิตรพร้อมด้วยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ไล่อากาศ แล้วนำไปบ่มในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวัดปริมาณผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใน 12 ชั่วโมงแรกทำการวัดทุก ๆ 1 ชั่วโมง ต่อมาทำการวัดทุกๆ 3 ชั่วโมงจนกระทั่งถึง 48 ชั่วโมง นำค่าที่ได้ไปแทนค่าในสมการ exponential คือ $y = a + b (1 - e^{-ct})$ (Ørskov and McDonal, 1979) เพื่อการอธิบายจลนศาสตร์ของการผลิตแก๊ส

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 = เวลาการเกิดแก๊สและค่าศักยภาพในการผลิตแก๊ส

(d) ประเมินจากสมการ d = |a| + b

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารเสริมจากพืชและตัวอย่างอาหารโคขุน โดยนำตัวอย่างที่บดแล้วมาวิเคราะห์หาค่าวัตถุแห้ง (dry matter; DM) อินทรียวัตถุ (organic matter: OM) โปรตีนหยาบ (crude protein: CP) ไขมันหยาบ (ether extract: EE) ตามวิธีการของ AOAC (2012) วิเคราะห์เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber: NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber: ADF) และลิกนิน (lignin: ADL) ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) วัดปริมาณสารฟีนอลิคโดยดัดแปลงจากวิธีของ Agbor et al. (2014) ใช้ตัวอย่างที่สกัดแล้วปริมาตร 12.5 ไมโครลิตรใส่ในไมโครเพลท 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย 0.2 N Folin-Ciocalteau phenol reagent ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 125 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรนำค่าที่ได้มาเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค (Gallic acid) ส่วนการวิเคราะห์องค์ประกอบของคอนเดนซ์แทนนินใช้สารสกัด HCl-butanol และวัดค่าดูดกลืนแสงตามวิธีการของ Terrill et al. (1992)

การตรวจนับจำนวนประชากรของโปรโตซัวโดยหลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะเปิดฝาขวดจากนั้นใช้ไซริงค์ดูดของเหลวในขวด 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 9 มิลลิลิตร สารละลาย 0.8% Normal saline ใน 4% Formaldehyde แล้วเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (hemacytometer) ตามวิธีการของ Galyean (1989)

การวัดการย่อยได้ในหลอดทดลอง (*in vitro* degradability) ทำการวัดค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (*in vitro* dry matter degradability: IVDMD) การย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (*in vitro* organic matter degradability: IVOMD) (Tilley and Terry, 1963) โดยหลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้เปิดฝาขวด จากนั้นกรองส่วนที่เหลือของขวดแต่ละขวดผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 และล้างขวดให้สะอาดเพื่อเก็บเศษอาหารที่เหลือ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อประเมินความสามารถในการย่อยสลายของวัตถุแห้ง การสูญเสียน้ำหนักหลังจากการอบแห้งถูกนำมาใช้เพื่อคำนวณ DM ความแตกต่างระหว่างปริมาณ DM ของสารตั้งต้นและ DM ที่ย่อยสลายไม่ได้ นอกจากนั้นทำการสุ่มตัวอย่าง ณ ชั่วโมงที่ 48 หลังการบ่ม เพื่อใช้ในการคำนวณการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (Organic matter degradability; OMD) คำนวณปริมาณการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนตามวิธีการของ Blümmel and Lebzien (2001) โดยประเมินการสังเคราะห์ชีวมวลจุลินทรีย์ (Microbial crude protein, MCP) ความสามารถในการย่อยสลายที่แท้จริงของ DM (TDDM) ถูกคำนวณจากความแตกต่างระหว่าง DM เริ่มต้นและปริมาณ NDF ของหลังบ่มตามวิธีที่ Van Soest et al. (1991) ค่านี้ได้รับการปรับสำหรับการผลิตแก๊สของตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม ตามสมการต่อไปนี้ SMB = (200 – TDDM200 มิลลิกรัม) – (GP * 2.20) โดยที่ TDDM200 มิลลิกรัม = การย่อยได้ที่แท้จริงของ DM ปรับสำหรับตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม และ GP = การผลิตแก๊สของอาหาร 200 มิลลิกรัม ในเวลา 24 ชั่วโมงของการบ่ม และประเมินค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy; ME) ด้วยสมการของ Menke and Stengass (1988) คือ ME = 2.20 + 0.136GP + 0.0057 CP (g/kg DM) โดยที่ ME = ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ม GP = ปริมาณแก๊สสะสมรวมที่ 24 ชั่วโมง และ CP = ค่าองค์ประกอบของโปรตีนของอาหารทดสอบ นอกจากนี้ทำการประเมินการสังเคราะห์กรดไขมันระเหยได้รวมทั้งหมด (Short chain volatile fatty acid, SCFA) ตามสมการของ Getachew et al. (2002) คือ SCFA (mmol/200 mgDM) = 0.0222GP -0.00425 เมื่อ GP = การผลิตแก๊สของอาหาร 200 มิลลิกรัม ในเวลา 24.0 ชั่วโมงของการบ่ม

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ ANOVA ตามแผนการทดลองแบบ 2 x 5 factorial in CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์โดยวิธี Duncan New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($P<0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (version 9.0) ซึ่งมีโมเดลทางสถิติดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \boldsymbol{\varepsilon}_{ijk}$$

เมื่อ Y_{ijk} คือค่าสังเกตจากทรีตเมนต์ (combination) ที่ ij ซ้ำที่ k เมื่อ k = 1 2 และ3 μ คือค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ทั้งหมด A_i คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัย A (main effect A) อัตราส่วนอาหารหยาบ:อาหารข้น ที่ i เมื่อ i = 70:30 และ 30:70, B_j คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัย B (main effect B) ชนิดของสารเสริมจากพืชที่ j เมื่อ j = 1 ถึง 5 AB_{ij} คืออิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัย A และ B (interaction AB) ที่ชนิด ij และ $\boldsymbol{\varepsilon}_{ijk}$ คือ error

ผลการศึกษา

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชที่มีองค์ประกอบแทนนินและฟีนอลสูงที่ใช้เป็นสารเสริม (**Table 1**) พบว่า ใบสะเดามีปริมาณวัตถุแห้งสูงกว่าตัวอย่างอื่น (36.4%) รองลงมา คือ ลูกมะขามป้อม (21.2%) และลูกมะกอกป่า (18.8) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอาหารอัดเม็ด Cysteamine-nitrate-mangosteen peel มีวัตถุแห้งสูงกว่าตัวอย่างอื่น (85.6%) ทั้งนี้เนื่องจากมีองค์ประกอบเป็นรำละเอียดและมันสำปะหลัง ใบสะเดามีปริมาณโปรตีนสูงกว่าตัวอย่างอื่นอีกด้วย (17.8%) นอกจากนี้ผลมะกอกป่าพบว่ามีปริมาณโปรตีนที่สูงเช่นกัน (15.2%) อย่างไรก็ตามทั้งใบสะเดา ผลมะขามป้อมและผลมะกอกป่ามีปริมาณเยื่อใย NDF และ ADF สูง (NDF 40.7-52.7; ADF 27.8-36.2%) ปริมาณของแทนนินของผลมะขามป้อมสูงที่สุด (25.4% DM) รองลงมา ได้แก่ ผลมะกอกป่า (9.8%) และใบสะเดา (6.9%) ตามลำดับ สำหรับปริมาณของสารฟีนอลิคพบว่า ผลมะกอกป่ามีปริมาณสารฟีนอลิคสูงที่สุด (654.03 mg%) เมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น รองลงมา คือ ผลมะขามป้อมและใบสะเดา (275.2 และ 174.9 mg%) อย่างไรก็ตาม อาหารอัดเม็ด Cysteamine-nitrate-mangosteen peel มีปริมาณสารฟีนอลิคน้อยที่สุด (97.2 mg%)

Table 1 The chemical composition of concentrate, rice straw and plant materials used as substrate of *in vitro* gas production trial

Items (% of DM)	Concentrate	Rice straw	B1	B2	B3	B4
DM	90.5	85.4	18.8	21.2	36.4	85.6
OM	92.1	89.7	92.4	98.3	93.2	93.5
CP	13.4	2.4	15.2	1.5	17.8	15.7
NDF	32.4	62.4	42.5	52.7	40.7	30.8
ADF	20.5	45.2	27.8	36.2	32.7	21.8
Tannin	-	-	9.8	25.4	6.9	4.7
Total phenolic, mg%	-	-	654.53	275.2	174.9	94.2

B1= *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, B2 = *Phyllanthus emblica*, B3 = *Azadirachta indica*, B4 = Cysteamine-nitrate-mangosteen peel, DM = Dry matter, OM = Organic matter, CP = Crude protein, NDF = Neutral detergent fiber, ADF = Acid detergent fiber

จากการทดลองวัดศักยภาพการผลิตแก๊สในหลอดทดลองของอาหารโคขุนในการเลี้ยงขุนโคเนื้อของสมาชิกสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ กรป.กลาง โพนยางคำ จำกัด (**Table 2**) พบว่า อิทธิพลร่วมของชนิดสารเสริมและอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบมีแนวโน้มอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย (P = 0.061) การเสริมสารเสริมไม่ส่งผลต่อผลผลิตแก๊สรวม แต่ชนิดอัดเม็ดและสะเดาบดให้ค่าผลผลิตแก๊สรวมสูงที่สุด 80.5 และ 80.7 มิลลิลิตร/200 มิลลิกรัมตัวอย่างอาหาร อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบที่ระดับ 70:30 ให้ค่าผลผลิตแก๊สรวมสูงกว่าอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบที่ระดับ 30:70 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อิทธิพลร่วมของชนิดสารเสริมและอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบและชนิดของสารเสริมไม่มีผลต่อค่าจลศาสตร์แก๊ส a, b และ c ยกเว้นอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบ ที่ระดับ 70:30 ให้ค่าผลผลิตแก๊สรวมสูงกว่าอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบที่ระดับ 30:70 มีผลต่อค่าจลศาสตร์การผลิตแก๊สอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ผลผลิตแก๊สสะสมรวมตลอดระยะเวลาการบ่มที่ 48

ชั่วโมง (**Figure 1**) พบว่า ระดับอาหารข้นที่สูงโดยเสริม Cysteamine-nitrate-mangosteen peel ให้ผลผลิตแก๊สรวมสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ไม่เสริมสารเสริม ส่วนกลุ่มที่มีผลผลิตแก๊สสะสมต่ำที่สุด คือ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*)

Table 2 Effect of high tannin containing plant additive in fattening feed on *in vitro* gas production kinetics

R:C	Additives	Gas at 24 h	Gas at 48 h	a	b	c	a + b	Protozoa, x 10^5 cell/ml
70:30	B1	67.38bc	96.00b	-2.18a	105.81abc	0.042bcd	103.60ab	5.75cd
	B2	61.93c	86.55c	-3.67a	92.13bc	0.077abcd	88.43ab	5.50cd
	B3	67.43bc	99.35ab	-3.57a	103.20abc	0.047bcd	99.63ab	6.75bcd
	B4	63.80c	95.40b	-3.05a	127.64ab	0.034d	124.58a	2.75d
	B5	65.10c	84.80c	-2.86a	112.53abc	0.040cd	109.68ab	10.00abc
30:70	B1	82.78ab	97.95ab	-7.20bc	103.80abc	0.083ab	96.58ab	4.75cd
	B2	94.33a	108.75a	-8.80c	122.55abc	0.076abcd	113.75ab	8.00abcd
	B3	92.73a	104.45a	-8.01bc	119.63abc	0.077bcd	111.60ab	5.50cd
	B4	97.20a	109.75a	-7.42bc	129.28a	0.070abcd	121.83a	2.50d
	B5	94.18a	108.40a	-8.37bc	115.83abc	0.090a	107.45ab	12.50a
SEM		3.2386	5.4035	0.6290	6.3107	0.0074	6.3219	0.9595
Comparison								
R:C		<.0001	0.0347	<.0001	0.7276	<.0001	0.7397	0.1867
70:30		65.27b	92.42b	-3.16b	110.72	0.0464a	107.55	6.13
30:70		88.72a	105.78a	-7.50a	112.94	0.0813b	105.43	7.42
Additives		0.1853	0.1274	0.5512	0.2687	0.5924	0.2831	0.0003
B1		75.07	96.97	-4.69	104.81	0.0621	100.09	5.25bc
B2		78.12	97.67	-6.24	107.34	0.0762	101.09	6.75b
B3		80.07	101.05	-5.79	111.41	0.0621	105.61	6.13bc
B4		80.50	102.34	-5.23	128.46	0.0518	123.2	2.63c
B5		79.64	96.61	-5.62	114.18	0.0648	108.56	11.25a
Interaction		0.061	0.2554	0.5075	0.0873	0.3479	0.1207	0.3367

B1= *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, B2 = *Phyllanthus emblica*, B3 = *Azadirachta indica*, B4 = Cysteamine-nitrate-mangosteen peel, B5 = no additive, a = gas production from soluble fraction; b = gas production from degradable fraction; c = rate of gas production; a+b = potential of gas production,

[a-d]Values on the same row with different superscripts differ at $P < 0.05$

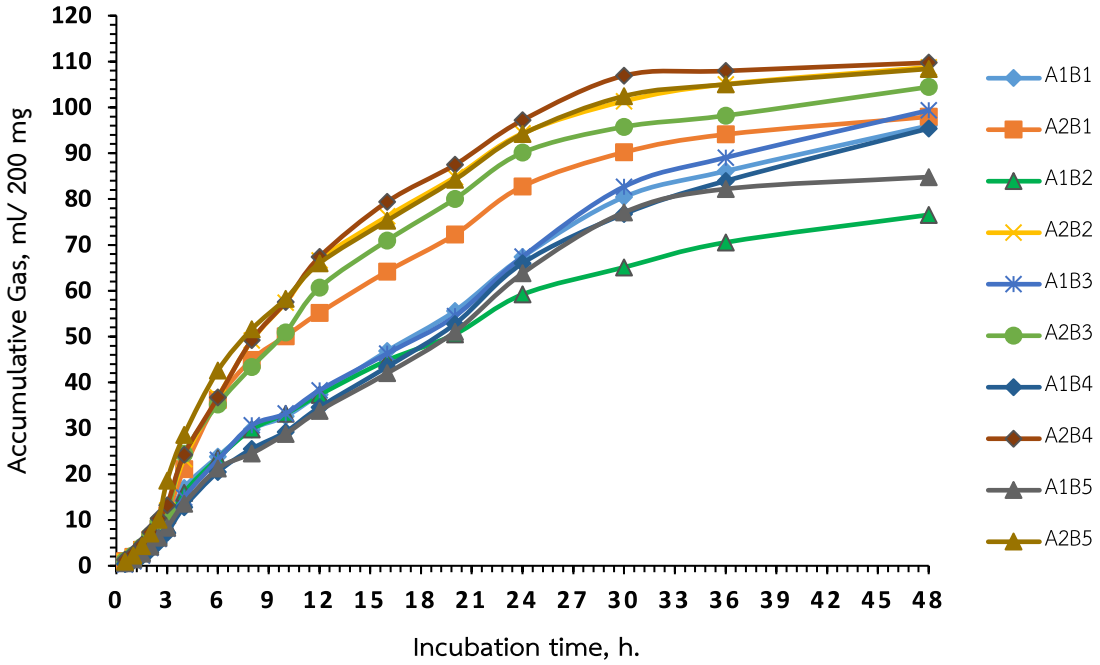


Figure 1 The effect of high tannin containing plant additives in fattening feed on accumulative gas at 48 hours of fermentation. The symbol A1B1 = R:C ratio of 30:70 + *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, A2B1 = R:C ratio of 70:30 + *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, A1B2 = R:C ratio of 30:70 + *Phyllanthus emblica,* A2B2 = R:C ratio of 70:30 + *Phyllanthus emblica,* A1B3 = R:C ratio of 30:70 + *Azadirachta indica*, A2B3 = R:C ratio of 30:70 + *Azadirachta indica*, A1B4 = R:C ratio of 30:70 + Cysteamine-nitrate-mangosteen peel, A2B4 = R:C ratio of 70:30 + Cysteamine-nitrate-mangosteen peel, A1B5 = R:C ratio of 30:70 and A2B5 = R:C ratio of 70:30.

จากการทดลองสารเสริมจากพืช ต่อค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้อาหารโคขุนในการเลี้ยงโคขุนของสมาชิกสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ กรป.กลาง โพนยางคำ (**Table 3**) จำกัด พบว่า อิทธิพลร่วมของชนิดพืชแทนนินและฟินอลิคสูงและอัตราส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบมีแนวโน้มของอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย (P = 0.0618) การเสริม Cysteamine-nitrate อัดเม็ดร่วมกับสัดส่วนอาหารข้นสูงให้ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุด 3.92 Mcal/kg กรดไขมันที่ระเหยได้และค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุปริมาณการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนไม่ได้รับผลกระทบจากการใช้เสริมพืชแทนนินและฟินอลิคสูง อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ระดับ 30:70 ให้ค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุ กรดไขมันที่ระเหยได้และปริมาณการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนสูงกว่าอัตราส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ระดับ 70:30 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้อิทธิพลของพืชแทนนินและฟินอลิคสูงที่เสริมมีผลต่อค่าพลังงานและกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด ในขณะที่อัตราส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ระดับ 30:70 ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ กรดไขมันที่ระเหยได้ การผลิตจุลินทรีย์ และการย่อยได้ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.001$)

Table 3 Effect of high tannin containing plant additives in fattening feed on degradability, metabolizable energy and microbial biomass synthesis by using *in vitro* gas production technique at 48 h of incubation

R:C	Additives	ME, Mcal/kg	SCFA, (mmol/L)	MCP, (mg/g DM)	%IVDMD	%IVOMD
70:30	B1	2.93bc	149.57bc	204.04bcd	66.63b	69.74b
	B2	2.75c	137.47c	191.87d	61.79b	65.33b
	B3	2.93bc	149.68bc	202.43bcd	66.68b	69.78b
	B4	2.81c	141.63c	194.75cd	63.45b	66.84b
	B5	2.85c	144.52c	199.52bcd	64.61b	67.90b
30:70	B1	3.44ab	183.76ab	234.52a	80.99a	82.80a
	B2	3.80a	209.40a	235.42a	86.25a	87.59a
	B3	3.77a	205.85a	225.48abc	83.86a	85.41a
	B4	3.92a	215.78a	226.87ba	85.81a	87.19a
	B5	3.82a	209.07a	218.72abcd	83.13a	84.74a
SEM		0.0981	6.5633	5.4347	2.6018	2.3677
Comparison						
R:C		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
70:30		2.86b	144.37b	198.45b	64.62b	68.03b
30:70		3.63a	204.92a	227.96a	84.63a	85.53a
Additives		0.0183	0.2185	0.8819	0.7402	0.7404
B1		3.18b	166.83	219.16	73.80	76.32
B2		3.28ab	173.48	213.17	74.02	76.46
B3		3.35a	177.58	213.85	75.24	77.59
B4		3.36a	178.08	213.17	74.63	77.02
B5		3.34ab	176.75	209.10	73.92	76.32
Interaction		0.0618	0.0610	0.7759	0.4366	0.4366

B1= *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz, B2 = *Phyllanthus emblica*, B3 = *Azadirachta indica*, B4 = Cysteamine-nitrate-mangosteen peel, B5 = Control, ME = Metabolizable energy, SCFA = Short chain fatty acids, MCP = Microbial crude protein, IVDMD = In vitro dry matter degradability, IVOMD = In vitro organic matter degradability

[a-d]Values on the same row with different superscripts differ at $P < 0.05$

วิจารณ์

การศึกษาจลนศาสตร์การผลิตแก๊ส และความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบหรือสารเสริมที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์มีความจำเป็นต้องศึกษาก่อน ตัวอย่างของพืชที่นำมาศึกษาครั้งนี้สามารถพบเห็นได้โดยง่ายและเป็นพืชที่นิยมปลูกหรือพบได้ในป่าเต็งรังในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ มะกอกป่า มะขามป้อม และสะเดา อย่างไรก็ตามปัจจัยที่ทำให้เกิดองค์ประกอบของสารสำคัญในพืชแตกต่างกัน เช่น สายพันธุ์ ฤดูกาล และเขตภูมิศาสตร์ สามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของพืช ซึ่งแตกต่างกันอย่างมากในแง่ของสารอาหารและปริมาณสารพฤกษเคมี (Phytochemical) (Marius et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีพืชหลายชนิดที่โคสามารถแทะเล็มใบอ่อนหรือกินลูกที่หล่นใต้ต้นได้โดยเฉพาะในช่วงที่ขาดแคลนอาหาร คือ การให้โคกินพุ่มไม้และใบไม้ ต้นไม้หลายชนิดมีสารอาหารที่จำเป็นซึ่งช่วยเพิ่มสุขภาพและสมรรถภาพของสัตว์ (Khejornsart et al., 2021) แม้ว่าจะมีปัญหาเรื่องปริมาณแทนนินและใยอาหาร

อย่างไรก็ตามในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการใช้ประโยชน์พืชท้องถิ่นที่มีศักยภาพและสรรพคุณด้านสมุนไพรในอาหารสัตว์เพื่อการผลิตปศุสัตว์ที่ปลอดภัยอีกด้วย จากการศึกษาพบว่า ใบสะเดาและผลมะกอกป่าเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูง นอกจากนี้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในพืช ยังพบสารสำคัญตามธรรมชาติ เช่น สารฟีนอลิคซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีความสามารถในส่งเสริมในการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดย Kim et al. (2013) รายงานว่า สารพฤกษเคมี เช่น ฟลาโวนอยด์จากสารสกัดเข็มสนและใบแปะก๊วยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัวและส่งเสริมการทำงานของ *Fibrobacter succinogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมัก โดยการศึกษานี้พบว่า ผลมะกอกป่า ใบสะเดา และผลมะขามป้อมเป็นพืชที่มีสารฟีนอลิคสูง ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานก่อนหน้านี้ที่รายงานของ Taethaisong et al. (2023) ที่พบว่าใบสะเดามีแทนนิน 10.66% นอกจากนี้มะกอกป่าและผลมะขามป้อมเป็นพืชที่มีปริมาณสารฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์สูง ตามรายงานของ Halim et al. (2022), Wu et al. (2022) และ Satpathy et al. (2011) อย่างไรก็ตามการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารสำคัญในพืชเป็นการประเมินคุณค่าทางอาหารเบื้องต้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการทดสอบในตัวสัตว์ต่อไป

ในการศึกษาการย่อยได้ในหลอดทดลองซึ่งเป็นการจำลองกระบวนการย่อยได้ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในหลอดทดลอง โดยทำการทดสอบจลศาสตร์การผลิตแก๊ส ผลผลิตแก๊สสะสม และความารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ พบว่า การเสริมพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงไม่มีผลต่อปริมาณผลผลิตแก๊ส แต่ในกลุ่มที่มีอาหารข้นสูงจะทำให้ผลผลิตแก๊สที่สูงกว่า ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่สูงกว่าและเป็นส่วนที่สามารถย่อยสลายได้เร็ว โดยสอดคล้องกับรายงานของ Sallam et al. (2007) พบว่าปริมาณแก๊สที่เกิดในกระบวนการหมักมาจากคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักมากกว่าโปรตีนหรือไขมัน นอกจากนี้ยังมีศักยภาพการย่อยสลายของอาหารได้ของจุลินทรีย์ โดยส่วนที่ไม่ถูกละลายแต่ถูกหมักย่อยเป็นส่วนที่บ่งบอกถึงศักยภาพในการย่อยได้ของอาหารสูงกว่า นอกจากนี้ผลมะกอกป่า ผลมะขามป้อมและใบสะเดามีปริมาณสารฟีนอลิคสูงโดยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มย่อยเยื่อใย เช่น *Fibrobacter succinogenes* (Kim et al., 2013) และ *Butyrivibrio fibrisolvens* และ *Streptococcus gallolyticus* (Taethaisong et al., 2023) ปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักมีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้

จากการศึกษาครั้งนี้ปริมาณแก๊สสะสมจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาในการบ่มนานขึ้นเป็นเพราะการเข้าหมักย่อยของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักจะสะดวกขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปซึ่งสอดคล้องกับ เมธา (2533) พืชในเขตร้อนมีหลากหลายชนิดพันธุ์และมีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งสรรพคุณทางยา และการนำมาประกอบเป็นอาหารมนุษย์ เช่น พืชสมุนไพรมีสารออกฤทธิ์สำคัญแตกต่างกันออกไป และในพืชสมุนไพรเขตร้อนมีสารสำคัญ (plant secondary compound) ที่มีผลต่อการใช้ในอาหารสัตว์ได้ (Jayanegara et al., 2011; Patra et al., 2017) ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าผลมะกอกป่า ผลมะขามป้อม และใบสะเดานั้นเป็นพืชที่นำมาเป็นอาหารมนุษย์และพบว่ามีสารฟีนอลิคสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลมะขามป้อมและผลมะกอกป่า นอกจากนี้ Wanapat et al. (2008) พบว่าการใช้พืชสมุนไพรในโคเนื้อมีผลในการเพิ่มปริมาณการกินได้ มีแนวโน้มเพิ่มปริมาณการย่อยได้ และลดประชากรของโปรโตซัวลงได้ อีกทั้ง Khejornsart et al. (2021) พบว่าการเสริมสมุนไพรในอาหารโคเนื้อมีผลทำให้เพิ่มปริมาณการกินได้การย่อยได้และลดประชากรของโปรโตซัว และปริมาณการผลิตแก๊สมีเทนลงได้ จากรายงานของ Brutti et al. (2023) และ Orzuna-Orzuna et al. (2021) แทนนินสามารถลดความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ (Short chain fatty acid, SCFA) ทั้งหมดและระดับ NH_3-N ในกระเพาะ ส่งเสริมการใช้ไนโตรเจนที่ดีขึ้นและลดการปล่อยก๊าซมีเทน จากผลการทดลองในกลุ่มที่เสริมสารประกอบ Cysteamine-nitrate-mangosteen peel (B4) มีค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ กรดไขมันที่ระเหยได้และมวลรวมจุลินทรีย์ที่สูง ในขณะ Guo et al. (2025) ได้ให้เหตุผลการรวมกันของซิสเทอามีนและไนเตรตแสดงให้เห็นถึงผลการทำงานร่วมกัน โดยปรับปรุงพารามิเตอร์การหมักในกระเพาะรูเมน และลดการผลิตก๊าซและมีเทนทั้งหมด Makkar (2003) รายงานว่าหากมีแทนนินในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่าหรือประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยสามารถป้องกันย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักได้ เช่นเดียวกับ Min et al. (2002) ได้ทำการวิเคราะห์การย่อยสลายได้ของพืชที่มีและไม่มีแทนนินด้วย *In vitro* และ *In situ* พบว่า พืชที่มีแทนนินจะมีการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักลดลงเทียบกับพืชที่ไม่มีแทนนินเพราะการละลายได้และอัตราการย่อยสลายของอาหารในกระเพาะหมักมีอัตราช้าลงเมื่อมีระดับแทนนินที่สูงมาก ซึ่งอัตราการย่อยสลายได้ของโปรตีนในกระเพาะหมักเป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถในการเกิดโปรตีนไหลผ่านได้ อย่างไรก็ตามการย่อยได้ของวัตถุแห้งและ

อินทรีย์วัตถุในกลุ่มที่เสริมไม่แตกต่างกัน อาจจะเนื่องมาจากปริมาณที่เสริมน้อยเกินไป ในการศึกษาในตัวสัตว์มีรายงานว่าการเสริมผลมะขามป้อมที่ระดับ 5 กรัม/วัน สามารถลดอาการท้องเสียในลูกโคได้ (Nguse et al., 2023) ส่วนการเสริมผลมะขามป้อมสดที่ระดับ 200-400 กรัม/วัน มีผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์กลุ่ม *Proteobacteria* และ *Desulfobacteriota* ในกระเพาะรูเมน (Tilahun et al., 2024) นอกจากนี้ Taethaisong et al. (2023) พบว่าการเสริมใบสะเดาในอาหารแพะ 6% ร่วมกับโพรพิลีนไกลคอลจะเพิ่มการกินได้ การย่อยได้ การใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนและลดประชากรโปรโตซัวลงดีกว่ากลุ่มไม่เสริม ในกระบวนการหมักย่อยอาหารในกระเพาะรูเมนจะมีการสร้างโมเลกุลไฮโดรเจน (H^+) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) อิสระจำนวนหนึ่ง จุลินทรีย์กลุ่มผลิตแก๊สมีเทนในกระเพาะรูเมน ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์เหล่านี้จะคิดเป็นเพียง 1% ของจุลินทรีย์ทั้งหมด แต่ก็มักได้รับความสนใจมากที่สุด จุลินทรีย์ที่สร้างแก๊สมีเทนเหล่านี้จะรวมโมเลกุลไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในกระเพาะรูเมนเข้าด้วยกันเพื่อสร้างมีเทนในกระเพาะหมัก (CH_4) ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จะขับแก๊สมีเทนออกมาโดยการเรอ จากนั้นแก๊สมีเทนจะเข้าสู่ชั้นบรรยากาศและเริ่มสร้างความร้อน มีจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตแก๊สมีเทนบางส่วนจะอาศัยร่วมกับโปรโตซัวหากแต่สามารถลดจำนวนโปรโตซัวลงจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการปลดปล่อยแก๊สมีเทนลงได้ (Wanapat et al., 2008; Khejornsart et al., 2021) อย่างไรก็ตามแม้ว่าประโยชน์ของสารเสริมนี้จะยังไม่ชัดเจน แต่ในการศึกษาวิจัยระบุว่าผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ซึ่งชี้ให้เห็นว่าจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อปรับให้การใช้สารเสริมนี้ในระดับที่เหมาะสมที่สุดในอาหารโคขุน

สรุป

จากการศึกษาครั้งนี้จึงนำไปสู่บทสรุปได้ว่า การเสริมพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตแก๊สและการย่อยได้ในหลอดทดลองแต่มีแนวโน้มต่อการลดลงของประชากรโปรโตซัวในรูเมน และการเสริมพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลิคสูงร่วมกับการใช้อัตราส่วนอาหารข้นสูงมีแนวโน้มทำให้เพิ่มค่าการใช้ประโยชน์ได้พลังงาน กรดไขมันที่ระเหยได้และการสังเคราะห์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจึงควรศึกษาผลของการใช้การเสริมพืชที่มีสารประกอบแทนนินและฟีนอลสูงต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของโคขุนในลำดับต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2568. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. แหล่งข้อมูล: https://ict.dld.go.th/webnew/index.php/th/service-ict/report/477-report-thailand-livestock/reportservey2568/2034-2568-monthly. ค้นเมื่อ 16 พฤษภาคม 2568.

เมธา วรรณพัฒน์. 2533. โภชนะศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. โรงพิมพ์ หจก. ฟันนี่พับลิชชิ่ง: กรุงเทพฯ.

Agbor, G. A., J. A. Vinson, and P. E. Donnelly. 2014. Folin-Ciocalteau Reagent for Polyphenolic Assay. International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics. 3: 147–156.

AOAC. 2012. Official Methods of Analysis. 19th Edition; Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD, USA.

Biennial Transparency reports (BTR). 2024. Thailand. 2024 Biennial Transparency Report (BTR). BTR1. Available: https://unfccc.int/documents/645098. Accessed Oct.23, 2025.

Blummel, M., and P. Lebzien. 2001. Predicting ruminal microbial efficiencies of dairy rations by in vitro techniques. Livestock Production Science. 68: 107–117.

Cherdthong, A., N. Unnawong, B. Khonkhaeng, and R. Prachumchai. 2019. Dietary Hog Plum (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz) could modulate fermentation process, and feed digestibility, as well as and reduce protozoal population: In vitro study. Advance in Animal and Veterinary Science. 7: 1054-1059.

Elghandour, M. M. M. Y., N. Acosta-Lozano, T. D. Alvarado, E. Castillo-Lopez, M. Cipriano-Salazar, M. Barros-Rodríguez, U. A. Inyang, R. A. P. Purba, and A. Z. M. Salem. 2023. Influence of *Azadirachta indica* and *Cnidoscolus angustidens* aqueous extract on cattle ruminal gas production and degradability in vitro. Frontier in Veterinary Science. 10: 1090729.

Galyean, M. 1989. Laboratory Procedure in Animal Nutrition Research; Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University: Lubbock, TX, USA.

Getachew, G., M. Hp, and K. Becker. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. Journal of Agriculture Science. 139: 341–352.

Guo, Y., F.-u. Hassan, M. Li, H. Xie, L. Peng, Z. Tang, and C. Yang. 2022. Effect of sodium nitrate and cysteamine on in vitro ruminal fermentation, amino acid metabolism and microbiota in buffalo. Microorganisms. 10: 2038.

Halim, B., R. A. Syahputra, I. Adenin, H. P. Lubis, F. Mendrofa, S. Lie, and S. E. Nugraha. 2022. Determination of phytochemical constituent, antioxidant activity, total phenol and total Flavonoid of extract ethanol *Phyllanthus emblica* Fruit. Pharmacognosy Journal. 14: 63-67.

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 (*Moru* ssp.): A Comparative Study. International Journal of Molecular Sciences. 13: 6651–6664.

Jayanegara, A., F. Leiber, and M. Kreuzer. 2011. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 96: 365–375.

Jayanegara, A., Y. Yogianto, E. Wina, A. Sudarman, M. Kondo, T. Obitsu, and M. Kreuzer. 2020. Combination effects of plant extracts rich in tannins and saponins as feed additives for mitigating in vitro ruminal methane and ammonia formation. Animals. 10: 1531.

Khejornsart, P., A. Cherdthong, and M. Wanapat. 2021. In vitro screening of plant materials to reduce ruminal protozoal population and mitigate ammonia and methane emissions. Fermentation. 7: 166.

Khejornsart, P., T. Juntanam, P. Gunun, N. Gunun, and A. Cherdthong. 2024. Effect of high-tannin and -polyphenol plant material supplement on rumen fermentation, nitrogen partitioning and nutrient utilization in beef cattle. Animals. 14: 3092.

Kholif, A. E., U. Y. Anele, A. K. Patra, and Z. Varadyova. 2021. Editorial: The use of phytogenic feed additives to enhance productivity and health in ruminants. Frontier in Veterinary Science. 8: 685262.

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.

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.

Makkar, H. P. S. 2003. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage-A Laboratory Manual. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Marius, L. N., M. N. T. Shipandeni, L. A. Rodríguez-Campos, E. L. K. Osafo, I. D. T. Mpofu, T. Ansah, K. L. Shiningavamwe, V. Attoh-Kotoku, and C. Antwi. 2021. Seasonal variation in chemical composition and in-vitro gas production of woody plant species of semi-arid condition of Namibia. Agroforest System. 95: 1191–1204.

Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research and Development. 28: 7-55.

Min, B. R., G. T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, J. S. Peters, T. N. Barry, and W. C. McNabb. 2002. Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Canadian Journal of Microbiology. 48: 911-921.

Nguse, M., Y. Yang, Z. Fu, J. Xu, L. Ma, and D. Bu. 2023. Optimizing amla (*Phyllanthus emblica*) fruit powder supplementation in liquid feed fed to Holstein dairy calves: Insights from growth performance and health events. Animal Feed Science and Technology. 298: 115608.

Ørskov, E. R., and I. McDonal. 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., T. Park, M. Kim, and Z. Yu. 2017. Rumen methanogens and mitigation of methane emissions by anti-methanogenic compounds and substances. Journal of Animal Science and Biotechnology. 8: 13.

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.

Satpathy, G., Y. K. Tyagi, and R. K. Gupta. 2011. Preliminary evaluation of nutraceutical and therapeutic potential of raw *Spondias pinnata* K., an exotic fruit of India. Food Research International. 7: 2076–2087.

Statistical Analysis System (SAS). 2010. SAS/STAT-User's Guide. 9.0.; SAS: Cary, NC, USA.

Swathi, S., and K. Lakshman. 2022. Phytopharmacological and biological exertion of *Spondias pinnata*: A review. Oriental Journal of Chemistry. 38.

Taethaisong, N., S. Paengkoum, W. Kaewwongsa, N. Onjai-Uea, S. Thongpea, and P. Paengkoum. 2023. The effect of neem leaf supplementation on growth performance, rumen fermentation, and ruminal microbial population in goats. Animals. 13: 890.

Terril, T. H., A. M. Rowan, G. B. Douglas, and T. N. Barry. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. Journal of the Science of Food and Agriculture. 58: 321–329.

Tilahun, M., L. Ma, T. R. Callaway, J. Xu, and D. Bu. 2024. The effect of *Phyllanthus emblica* (Amla) fruit supplementation on the rumen microbiota and its correlation with rumen fermentation in dairy cows. Frontiers in Microbiology. 15: 1365681.

Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops Current Contents. Journal of the British Grassland Society. 18: 104-111.

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.

Wanapat, M., P. Khejornsart, P. Pakdee, and S. Wanapat. 2008. Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. Journal of the Science of Food and Agriculture. 88: 2231–2237.

Wang, B., M. P. Ma, Q. Y. Diao, and Y. Tu. 2019. Saponin-induced shifts in the rumen microbiome and metabolome of young cattle. Frontiers Microbiology. 10: 356.

Wu, M., J. Cai, Z. Fang, S. Li, Z. Huang, Z. Tang, Q. Luo, and H. Chen. 2022. The composition and anti-aging activities of polyphenol extract from *Phyllanthus emblica* L. fruit. Nutrients. 14: 857.

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 acidilacticiJ17 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.