



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสัตว์)

ปริญญา

การปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสัตว์

สัตวบาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง อิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาของกากถั่วเหลือง
และสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

Influence of Crude Extract Product from Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Marc on the
Nutritive Value of Soybean Meal and Productive Performance of Growing Lambs

นามผู้วิจัย นางสาวนารีรัตน์ สอาดเยี่ยม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอชาติ บุญเอก, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สิรินทร์พร สินธุฉินช์, Dr. Agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ศิริรัตน์ บัวผัน, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์เนรมิตร สุขมณี, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

อิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาของกากถั่วเหลือง
และสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

Influence of Crude Extract Product from Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Marc on the Nutritive
Value of Soybean Meal and Productive Performance of Growing Lambs

โดย

นางสาวนารีรัตน์ สอาดเอี่ยม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสัตว์)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นารินทร์ สอาดเยี่ยม 2557: อิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาการของกากถั่วเหลืองและสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น ประญูวิทยาสาตรมหาบัณฑิต (การปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสัตว์) สาขาการปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอชาติ บุญเอก, Ph.D. 85 หน้า

การศึกษาอิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาการของกากถั่วเหลืองและสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาจนผลผลิตของการผลิตแก๊สของกากถั่วเหลืองที่ได้รับการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ หรือทรีตด้วยกรดแทนนิกระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี *In vitro* gas production technique พบว่า ค่าปริมาณผลผลิตแก๊สของส่วนที่สามารถละลายน้ำได้ (a), ส่วนที่ย่อยสลายได้ (b), ค่าศักยภาพในการย่อยสลายได้ (a+b) และค่าอัตราการผลิตแก๊ส (c) ของกากถั่วเหลือง มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนค่าผลผลิตแก๊สสะสมที่ 48 ชั่วโมงหลังจากการบ่ม พบว่ากากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยกรดแทนนิก ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุด และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ (80.38 และ 83.05 มิลลิลิตร ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้อาหารที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อค่าสมดุลไนโตรเจนในแกะรุ่นเพศผู้จำนวน 9 ตัว ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้อาหารผสมรวม (TMR) ที่มีข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบผสมกับอาหารข้นที่ประกอบด้วยกากถั่วเหลือง (TMR1) หรือกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (TMR2 และ TMR3) เป็นแหล่งโปรตีนหลัก พบว่าแกะที่ได้รับอาหารทั้ง 3 สูตร มีค่าสมดุลไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แกะที่ได้รับอาหารควบคุมแสดงค่าปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียน (เปอร์เซ็นต์) ในร่างกายต่ำกว่ากลุ่มที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเท่ากับ 70.40, 73.26 และ 75.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้อาหารที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อการเปลี่ยนแปลงอนุมูลอิสระ (TBARs), กลูโคส และยูเรียไนโตรเจนในเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น ใช้แกะรุ่นเพศผู้จำนวน 15 ตัว ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ พบว่าค่า TBARs, กลูโคส และยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด รวมถึงค่าสมรรถภาพการผลิตของแกะที่ได้รับอาหารทั้ง 3 สูตร มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

Nareerat Saardaium 2014: Influence of Crude Extract Product from Green Tea
(*Camellia sinensis* L.) Marc on the Nutritive Value of Soybean Meal and Productive
Performance of Growing Lambs. Master of Science (Animal Breeding and Production),
Major Field: Animal Breeding and Production, Department of Animal Science. Thesis
Advisor: Assistant Professor Lerchat Boonek, Ph.D. 85 pages.

Three experiments were conducted to study influence of crude extract product from green tea marc on the nutritive value of soybean meal and productive performance of growing lambs. Experimental 1 was to evaluate the effect of soybean meal (SBM) treated with 3 levels of crude extract product from tea marc (5, 10 or 15%) in comparison with soybean meal alone or treated with 10% tannic acid on kinetics of gas production *in vitro*. The results showed that there were no significantly different ($P>0.05$) among experimental groups in soluble fraction (a), insoluble fraction (b), potential degradability ($|a|+b$) and the gas production rate (c). The cumulative gas production at 48 h of soybean meal treated with 10% tannic acid and 15% of crude extract product from tea marc were lowest with mean value of 80.38 and 83.05 ml respectively compared to control and others group ($P<0.05$). Experimental 2 was to determine the effect of soybean meal treated with crude product from tea marc in diet of lambs on nitrogen retention. 9 lambs were randomly allocated to 3 experimental groups in Completely Randomized design trial. The experimental animal received total mixed ration containing corn silage as roughage source and concentrate comprised with either soybean meal (TMR1) or soybean meal treated with 5 and 10 % crude extract from tea marc (TMR2 and TMR3). The results showed that N retention of experimental lambs was not significant different among experimental groups ($P>0.05$). However it was noticed that percentage of nitrogen retention of lambs received TMR1 was numerically lower than TMR2 and TMR3 with the average value of 70.40, 73.26 and 75.53% respectively. Experimental 3 was carried out to investigate the effect of soybean meal treated with crude product from tea marc in diet of lambs on values of blood thiobarbituric acid reactive substance (TBARs), glucose and urea nitrogen and productive performances. The results showed that there was no statistically significant difference among treatments in all parameters observed.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เลอชาติ บุญเอก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ให้การช่วยเหลือทางด้านการศึกษา การวางแผนงานวิจัย การทดลอง และขอทุนสนับสนุนงานวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ศิริรัตน์ บัวผัน (หัวหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม) และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิรินทร์พร สีนุชฉินชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับการทำวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม สถาบันสุวรรณวาลกกลีศึกษา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวก และให้คำปรึกษาแนะนำต่างๆ ขอขอบคุณ หอปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และศูนย์คณควาและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาลกกลีศึกษา ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ผลการทดลองต่างๆ

ขอขอบพระครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ เพื่อนๆ และผู้เกี่ยวข้องทุกๆ คนที่คอยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือการวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์ด้วยดี สุดท้ายขอกราบขอบคุณบิดา มารดา และพี่สาวอันเป็นที่รักของข้าพเจ้า ที่เป็นแรงผลักดันให้กำลังใจ ในการศึกษาในครั้งนี้มาตลอดในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นารีรัตน์ สอาดเยี่ยม

พฤษภาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	39
สรุปและข้อเสนอแนะ	54
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	55
ภาคผนวก	67
ภาคผนวก ก วิธีการประเมินজনপদศาสตร์การย่อยสลายของอาหารทดลอง โดยวิธี <i>in vitro</i> gas production technique	68
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์หาปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน ด้วยวิธี Vanillin-HCL	74
ภาคผนวก ค การทดสอบฤทธิ์ที่ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธี Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARs)	78
ภาคผนวก ง ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว และกรดแทนนิก	81
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณโภชนะของกากถั่วเหลืองและถั่วเหลืองที่ใช้กระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน	9
2 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของกากเมล็ดทานตะวันและกากถั่วเหลืองที่มีการทรีตและไม่ทรีตด้วยฟอร์มาลดีไฮด์	10
3 การย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลอง และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน($\text{NH}_4\text{-N}$, 24 และ 72 h) ของถั่วอัลฟาฟาแห้งที่ได้รับแทนนินชนิดต่างๆในระดับที่แตกต่างกัน	15
4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารชั้น	32
5 องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะในกากถั่วเหลือง	39
6 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่าง ๆ ต่อคุณลักษณะการผลิตแก๊ส ผลผลิตแก๊สสะสม และค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	41
7 องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะในอาหารทดลอง	45
8 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่าง ๆ ต่อความสมดุลไนโตรเจน (N-balance) ของแคะรูน	47
9 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากใบชาที่ระดับต่าง ๆ ต่อค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ในเลือดแคะรูน	48
10 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากใบชาที่ระดับต่าง ๆ ต่อค่าชีวเคมีในเลือดของแคะรูน	50
11 การใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากใบชาที่ระดับต่าง ๆ ต่อค่าปริมาณการกินได้ของวัตถุดิบของแคะรูน	52

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของแทนนินชนิดต่างๆ	12
2 การรวมตัวกันของแทนนินและโปรตีน	13
3 การป้องกันการสลายตัวของโปรตีนโดยแทนนินในกระเพาะหมัก และการสลายตัวของ tannin-protein complex ในกระเพาะแทะและลำไส้เล็กของสัตว์กระเพาะรวม	14
4 โครงสร้างของของคาเทชินชนิดต่างๆ	18
5 โครงสร้างของของคาเฟอีน	19
6 ขั้นตอนการผลิตชาดำ	22
7 ขั้นตอนการผลิตชาอู่หลง	23
8 ขั้นตอนการผลิตชาเขียว	24
9 ปริมาณแก๊สสะสมที่ผลิตได้ (มิลลิลิตรต่อ 0.5 กรัมวัตถุแห้งของตัวอย่างวัตถุดิบ) ที่ประเมิน จากสมการ $y = a + b [1 - \text{Exp}^{(-ct)}]$	43
ภาพผนวกที่	
ก1 กระบวนการทดลองที่ 1	73
ข1 อุปกรณ์ ขั้นตอน และการวิเคราะห์หาปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน	77
ง1 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากชาเขียว และกรดแทนนิก	82
ง2 ลักษณะของอาหารทดลองทั้ง 5 กลุ่ม ในการทดลองที่ 1	83
ง3 ลักษณะของอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ในการทดลองที่ 2 และ 3	84

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ADF	=	acid detergent fiber
ADL	=	acid detergent lignin
BG	=	blood glucose
BUN	=	blood urea nitrogen
C	=	catechin
CF	=	crude fiber
CG	=	epicatechin
CP	=	crude protein
CRD	=	Completely Randomized Design
DM	=	dry matter
EE	=	ether extract
GA	=	gallic acid
ECG	=	epicatechin-3-gallate
EGCG	=	epigallocatechin-3-gallate
GC	=	gallocatechin
GCG	=	gallocatechin gallate
HHDP	=	hexahydroxydiphenic acid
IVRDP	=	<i>in vitro</i> rumen degradability of protein
LDL	=	low density lipoprotein
NDF	=	neutral detergent fiber
PRP	=	proline-rich protein
PUN	=	plasma urea nitrogen
QT	=	queracho tannin
ROS	=	reactive oxygen species
RUP	=	rumen undegradable protein
TA	=	tannic acid
TBARs	=	Thiobarbituric acid reactive substance
TMR	=	total mixed ratio

อิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนา
ของกากถั่วเหลืองและสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

**Influence of Crude Extract Product from Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Marc
on the Nutritive Value of Soybean Meal and Productive Performance
of Growing Lambs**

คำนำ

สารแทนนินเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล พบในพืชหลายชนิด เช่น กระถิน แค มะขามเทศ
ชา เป็นต้น ในสัตว์เคี้ยวเอื้องสารแทนนินเป็นสารที่มีผลต่อการยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโปรตีน
เนื่องจากมีคุณสมบัติที่สามารถจับตัวกับโปรตีน (Reed, 1995) ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (tannin-
protein complex) ซึ่งถูกย่อยได้ยากในกระเพาะรูเมน อย่างไรก็ตามในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีสาร
แทนนินในระดับต่ำถึงปานกลางจะช่วยป้องกันการเกิดท้องอืด เพิ่มการไหลผ่านของไนโตรเจนที่
ไม่ใช่แอมโมเนียและกรดอะมิโนมายังลำไส้เล็ก (McLeod, 1974) อัตราส่วนที่เหมาะสมของสาร
แทนนินกับโปรตีนในการจับตัวกันเพื่อเกิด tannin protein complex ซึ่งมีผลต่อการไหลผ่านของ
โปรตีนจากกระเพาะรูเมนไปถูกย่อยที่ลำไส้เล็กนี้ จึงเป็นอีกแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพในการ
ใช้ประโยชน์ของวัตถุดิบโปรตีนในอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากใบ
ชาเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเครื่องดื่มหยาที่ยังคงมีองค์ประกอบของแทนนิน และปริมาณ
สารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงใกล้เคียงกับชาเขียว หากมีการนำมาใช้ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง
นอกจากจะสามารถช่วยลดการถูกย่อยสลายของวัตถุดิบโปรตีนในกระเพาะรูเมน และเพิ่มสารต้าน
อนุมูลอิสระให้กับตัวสัตว์แล้ว ยังเป็นการเปลี่ยนผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มหยา
เขียวที่ปกติแล้วถูกกำจัดทิ้งโดยการเผาหรือฝังกลบ ให้เกิดมูลค่าเปลี่ยนเป็นผลผลิตเนื้อและนม
สำหรับผู้บริโภคต่อไป

ดังนั้นการศึกษการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากชาเขียวอย่างเหมาะสมในอาหาร
เพื่อให้สัตว์สามารถใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด จึงเป็นอีก
แนวทางหนึ่งที่สำคัญที่นอกจากจะเป็นการเพิ่มสมรรถภาพและลดต้นทุนการผลิตในสัตว์เคี้ยวเอื้อง
แล้วยังเป็นการช่วยรักษาสังแวดล้อมจากการนำของเหลือทิ้งจากภาคอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิด
ประโยชน์อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส (Kinetics of gas production) ของกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในระดับต่างๆ
2. เพื่อศึกษาค่าสมดุลไนโตรเจนของแคะรูน ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่ผ่านการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในระดับต่างๆ
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของสารอนุมูลอิสระ (TBARs) กลูโคสและยูเรียในโตรเจนในเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแคะรูนที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่ผ่านการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในระดับต่างๆ

การตรวจเอกสาร

อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โดยทั่วไปการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องแตกต่างจากการให้อาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว เนื่องจากความแตกต่างของระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะกระเพาะรูเมน ที่มีจุลินทรีย์ซึ่งสามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง เช่น เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลสได้ ทำให้สัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถใช้อาหารหยาบ (roughage) เป็นอาหารหลัก ส่วนอาหารข้นจะใช้เป็นอาหารที่ช่วยเสริมโภชนาที่สัตว์ได้รับจากอาหารหยาบไม่เพียงพอในแต่ละวัน อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ (บุญเสริม และบุญล้อม, 2542) คือ

1. อาหารหยาบ (Roughages)

อาหารที่มีความความเข้มข้นของโภชนาต่อหน่วยน้ำหนักน้อย มีความฟามมากและมีเยื่อใยสูงเกิน 18 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ย่อยได้ยาก สัตว์ต้องกินเป็นปริมาณมากจึงจะได้สารอาหารเพียงพอความต้องการของร่างกาย ส่วนใหญ่เป็นส่วนต้นและใบของพืช อาหารหยาบจัดเป็นอาหารหลักและมีความสำคัญกับสัตว์เคี้ยวเอื้องเพราะช่วยให้กระเพาะรูเมนทำงานเป็นปกติ มีการบีบตัวให้สัตว์ขยอกอาหารออกมาเคี้ยวเอื้อง กระตุ้นการขับน้ำลาย ช่วยด้านความเป็นกรดในกระเพาะรูเมน อาหารหยาบแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

1.1 อาหารหยาบสด (succulent feed) ได้แก่ หญ้าสด ต้นข้าวโพดสด ต้นและใบถั่วสด เศษเหลือจากไร่นา และโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ต้นและเปลือกข้าวโพดฝักอ่อน ยอดอ้อย และเปลือกสับปะรด เป็นต้น

1.2 อาหารหยาบแห้ง (hay) หมายถึง ต้นหรือใบพืชที่นำมาทำให้แห้ง โดยการตากแดดหรืออบเพื่อระเหยน้ำ สามารถเก็บได้นานโดยไม่เสียและมีคุณภาพสม่ำเสมอ ได้แก่ หญ้าแห้ง ฟางข้าว ต้นและเปลือกใบถั่วแห้ง หรือพืชอื่นๆ

1.3 พืชหมัก (silage) หมายถึง ส่วนของต้นและใบพืชที่นำมาหมักไว้ในสภาพที่อวบน้ำในที่ไม่มีอากาศเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น หญ้าหมัก และต้นข้าวโพดหมักเป็นต้น ข้อดีของพืชหมัก คือ สามารถทำได้ทุกฤดู สามารถเก็บได้เป็นเวลานาน โดยไม่ส่งผลต่อคุณภาพ

2. อาหารข้น (Concentrates)

อาหารที่มีความเข้มข้นของโภชนาต่อหน่วยน้ำหนักสูง มีเชื้อยต่ำกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบ ประกอบไปด้วยโภชนาที่ครบถ้วนทั้งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุสามารถย่อยได้ง่าย แม้สัตว์จะกินเข้าไปน้อยจะได้รับสารอาหารที่มีประโยชน์มาก อาหารข้นเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในการดำรงชีพ การเจริญเติบโต มีสุขภาพที่ดีและสามารถให้ผลผลิตได้ตามศักยภาพทางพันธุกรรม

โภชนาโปรตีนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีโครงสร้างซับซ้อน เป็นโภชนาที่มีความสำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง ร่างกายมีความต้องการ โปรตีนในแต่ละวันเป็นปริมาณมากเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารและเซลล์ต่างๆ เช่น สมอ กล้ามเนื้อ เอนไซม์ ฮอร์โมน การเจริญเติบโต การให้ผลผลิต การสืบพันธุ์ และการดำรงชีพ (NRC, 2001) นอกเหนือจากแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ ที่สัตว์จำเป็นต้องได้รับอย่างครบถ้วน เพื่อทำให้เมแทบอลิซึม และปฏิกิริยาชีวเคมีในร่างกายเป็นไปตามปกติ (McDowell, 1992) อาหารโปรตีนส่วนใหญ่จะมีโปรตีนรวมสูงกว่า 16 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มักใช้ผสมกับอาหารพลังงานหรือเสริมในอาหารหยาบเพื่อให้อาหารมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น เพียงพอกับความต้องการของสัตว์ แบ่งออกได้ตามแหล่งที่มาดังนี้ (บุญเสริม และบุญล้อม, 2542)

1. โปรตีนจากสัตว์ (animal protein) มักมีราคาแพงและมีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณมาก และมีสัดส่วนที่เหมาะสมกับความต้องการของสัตว์ เช่น ปลา ป่น เนื้อป่น นมผง นอกจากนั้นยังมีเศษเหลือจากโรงงานฆ่าสัตว์ เช่น เลือดแห้ง และขนไก่ป่น เป็นต้น

2. โปรตีนจากพืช (plant protein) มักได้จากกากพืชน้ำมัน คือ จากเมล็ดพืชที่อัดเอาน้ำมันออกไปแล้ว เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากเมล็ดปาล์ม กากงา กากมะพร้าว และกากเมล็ด

ทานตะวัน เป็นต้น นอกจากนี้ใบพืชบางชนิดก็อาจใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนได้เช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ไบกระดิน ไบมันสำปะหลัง และใบถั่วเหลือง เป็นต้น

3. แหล่งโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยง หรือการหมัก จุลินทรีย์เพื่อให้ได้โปรตีนจากยีสต์ รา แบคทีเรีย และสาหร่าย

4. แหล่งไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen, NPN) สามารถใช้ทดแทน โปรตีนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ เช่น ปุ๋ยยูเรีย ไบยูเรท และมูลสัตว์ เป็นต้น สารเหล่านี้มีราคาถูก จึงช่วยลดต้นทุนอาหารได้มาก แต่ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เพราะถ้าใช้ในระดับที่สูงเกินไปหรือ ใช้ไม่ถูกต้องอาจเป็นพิษทำให้สัตว์ตายได้

โปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) และความสำคัญในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

แหล่งโปรตีนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องจะได้รับมาจาก 3 แหล่ง คือ โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) โปรตีนไหลผ่าน (by-pass protein; rumen undegradable protein, RUP) และโปรตีนที่ได้จากระบบภายในตัวสัตว์ (endogenous protein) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่หมักอายุหรือน้ำย่อยต่างๆ โปรตีนจากอาหาร (dietary protein) จะถูกย่อยในกระเพาะรูเมนประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ ได้กรดอะมิโน และแอมโมเนีย โดย 29 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณโปรตีนจากอาหารที่ถูกย่อยจะถูกใช้ประโยชน์ในรูปของกรดอะมิโน และอีก 71 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนีย (วิศิษฐ์พร, 2538) ส่วนโปรตีนไหลผ่านที่ไม่ถูกย่อยสลายจะไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมน ไปถูกย่อยและดูดซึมที่ลำไส้เล็กเพื่อใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ต่อไป อาหารที่มีโปรตีนระดับสูงอาจทำให้การย่อยสลายในกระเพาะรูเมนสูงตามไปด้วย ก่อให้เกิดแอมโมเนียในปริมาณมากจนแบคทีเรียนำไปใช้ได้ไม่หมด ซึ่งจะดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตไปที่ตับและกำจัดทิ้งพร้อมปัสสาวะในรูปของยูเรีย แต่ถ้าหากมีการสะสมในปริมาณสูงจนสัตว์กำจัดทิ้งไม่หมดก็จะสะสมมากเกินไปจนเป็นพิษที่ทำให้สัตว์ถึงตายได้ นอกจากนี้การสะสมอย่างต่อเนื่องยังส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์ด้วย โดยทำให้ยูเรียในเลือด (plasma urea nitrogen, PUN) สูงขึ้น ซึ่งถ้าความเข้มข้นของยูเรียทั้งในน้ำเลือดและในน้ำนมสูงเกิน 19 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง ปกติแล้วในโคให้นมช่วงต้นจะมีความต้องการพลังงานที่สูงในการสร้างน้ำนม พลังงานที่ได้รับจากอาหารไม่เพียงพอจึงต้องมีการสลายไขมันในร่างกายเพิ่มขึ้น (Schroeder and Gagliostro, 2000) ดังนั้นหากร่างกายสัตว์มีปริมาณความเข้มข้นของยูเรียในเลือดที่สูง สัตว์ก็就会有ความต้องการพลังงานส่วนหนึ่งเพิ่มขึ้นไปอีกในการขับไนโตรเจนออกมาในรูปของยูเรียในปัสสาวะ โดยในทุกๆ 1 กรัมของไนโตรเจนที่ถูกขับออกมาทางปัสสาวะจะต้องสูญเสียพลังงาน 5.45 กิโลแคลอรี

โดยทั่วไปในสัตว์เคี้ยวเอื้อง แหล่งของโปรตีนคุณภาพต่ำในอาหารควรจะถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน และโปรตีนคุณภาพสูงควรมีสัดส่วนการถูกย่อยในกระเพาะรูเมนที่เหมาะสมโดยมีส่วนหนึ่งไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมนไปถูกย่อยสลายที่กระเพาะแท้และลำไส้เล็ก ได้เป็นกรดอะมิโนซึ่งจะถูกดูดซึมนำไปใช้เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์โดยตรง ซึ่งในสัตว์ที่ให้ผลผลิตสูงยังต้องการโปรตีนไหลผ่านมากขึ้น มีหลายปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยสลายของวัตถุดิบโปรตีนในกระเพาะรูเมน เช่น ระยะเวลาที่อาหารอยู่ในกระเพาะหมัก ถ้าระยะเวลาในการย่อยในกระเพาะรูเมนน้อย จะทำให้จุลินทรีย์มีระยะเวลาในการเข้าย่อยสลายโปรตีนได้น้อยลง หรืออาจเป็นเพราะความสามารถในการละลายได้ของโปรตีน โดยโปรตีนที่ละลายได้นี้ (soluble protein) เมื่อเข้าสู่กระเพาะรูเมน จุลินทรีย์จะสามารถย่อยได้ในเวลาที่รวดเร็ว (กรมปศุสัตว์, 2550)

วิธีการลดการถูกย่อยสลายของวัตถุดิบโปรตีนในกระเพาะรูเมน

1. การใช้กระบวนการทางกายภาพ (Physical treatment)

1.1 การเคลือบโปรตีน (protein encapsulation) เป็นการป้องกันโดยการเคลือบโปรตีนด้วยแคปซูลต่างๆ หรืออาจเคลือบด้วยไขมันหรือเล็คติน เพื่อเป็นการป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน และสามารถแตกตัวดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (Schwab *et al.*, 2002) ซึ่งวิธีการนี้ไม่เหมาะกับอาหารประเภทโปรตีน แต่เหมาะกับกรดอะมิโนอิสระ เช่น เมทไธโอนีน และไลซีน เพราะในร่างกายของสัตว์เคี้ยวเอื้องมักขาดเมทไธโอนีน และไลซีน ซึ่งกรดอะมิโนทั้ง 2 นี้มีบทบาทต่อการให้ผลผลิตของน้ำนม และเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนในนม

1.2 การพริตด้วยความร้อน (heat treatment) เป็นวิธีการให้ความร้อนในอาหารโปรตีน เช่น การคั่ว อบ หรือนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการเอ็กซทรูชัน (Extrusion) ซึ่งสามารถป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนได้ โดยความร้อนจะทำให้โปรตีนเสียสภาพ และเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) (Broderick *et al.*, 1991) ระหว่าง carbonyl group ของน้ำตาล กับกรดอะมิโน เกิดเป็น amino-sugar complex (Wang *et al.*, 1999) โดยทำให้โปรตีนเกิดการเกาะกัน เป็นผลทำให้ลดพื้นที่ที่เอนไซม์เข้าย่อยได้ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและแป้งหลังจากได้รับความร้อน จะส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ในรูเมน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ได้รับ ระยะเวลา และความชื้นที่อยู่ในกระบวนการผลิต (Stem *et al.*, 1985) ในส่วนของขนาด และเปลือกหุ้มเมล็ดจะมีผลต่อการถ่ายเทความร้อนและความชื้นระหว่างกระบวนการผลิต (Goelma *et al.*, 1997) โดยปกติแล้ว การให้ความร้อนที่มากเกินไปจะไปลดประสิทธิภาพการย่อยได้ของกรดอะมิโนที่บริเวณลำไส้ (Van Soest, 1994) ดังนั้น การให้ความร้อนในระดับที่เหมาะสมในการผลิตวัตถุดิบอาหารสัตว์จะช่วยทำให้

ประสิทธิภาพการย่อยได้ดีขึ้น และความร้อนยังช่วยทำลายสารพิษที่ยับยั้งการใช้โภชนะที่สำคัญอีกด้วย วิธีการให้ความร้อนและแปรรูป เพื่อการผลิตและเพิ่มคุณภาพวัตถุดิบอาหารโปรตีน เช่น ถั่วเหลือง (De Schutter and Morris, 1990) ได้แก่

- การคั่วหรืออบ (roasting) เป็นการเคลื่อนที่ของถั่วเหลืองที่ผ่านตู้อบ ที่อุณหภูมิประมาณ 140 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3-5 นาที อุณหภูมิของถั่วเหลืองที่ออกจากตู้อบจะมีค่าประมาณ 125 องศาเซลเซียส Faldet *et al.* (1991) พบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการอบ ทำให้โปรตีนไม่สามารถย่อยสลายในกระเพาะรูเมนอยู่ในช่วง 36-58 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม และทำให้ปริมาณไลซีนลดลง อาจเป็นผลเนื่องมาจากการอบที่อุณหภูมิสูงเกินไป

- Expeller processing เป็นวิธีการอัดบีบน้ำมันจากเมล็ดพืชน้ำมันเช่น ถั่วเหลือง และเมล็ดทานตะวัน เป็นต้น ขั้นตอนเริ่มจากการทำความสะอาดเมล็ด บดให้แตก และทำให้แห้ง จากนั้นนำเข้าเครื่องเพื่อให้ความร้อนก่อนส่งเข้าเครื่องบีบอัดน้ำมันเมล็ดที่ผ่านการบีบน้ำมันออกแล้วจะมีลักษณะเป็นแผ่น จากนั้นจะถูกบดให้มีขนาดเล็กลงเป็นผลพลอยได้ที่เรียก กากพืชน้ำมัน เช่น กากถั่วเหลือง เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ต่อไป กากถั่วเหลืองที่ได้จากการบีบน้ำมันจะประกอบไปด้วยโปรตีน 42-46 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 4.5-6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด (ตารางที่ 1)

- กระบวนการเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) เป็นกระบวนการผลิตที่มีการหมุน ผลักพาวัตถุดิบให้ไหลไปตามแนวสกรู (screw) ภายในท่อ วัตถุดิบจะถูกดันผ่านรูหน้าแปลนให้มีรูปร่างตามต้องการ ขณะที่วัตถุดิบเคลื่อนที่จะทำให้เกิดความดันและความร้อน ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแป้งในวัตถุดิบอาหาร (ณัฐชนก, 2548) ถ้าปริมาณความร้อนมากพอจะทำให้แป้งในอาหารเปลี่ยนรูปเป็นเจลาคิน ทำให้การย่อยดีขึ้นเหมาะที่จะใช้ในการผลิตอาหารในเชิงอุตสาหกรรม (อุทัย, 2529)

กระบวนการเอกซ์ทรูชัน แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ แบบร้อนชื้น (hydrothermal extrusion) เป็นระบบที่ต้องใช้ไอน้ำปรับสภาพอาหาร อุณหภูมิอาหารประมาณ 103-110 องศาเซลเซียส และแบบร้อนแห้ง (thermal extrusion) เป็นระบบที่ไม่ต้องใช้ไอน้ำ แต่ต้องใช้ความร้อนที่สูงในการทำให้อุณหภูมิที่เกิดจากแรงอัดและแรงเสียดสี อุณหภูมิอาหารประมาณ 140-180 องศาเซลเซียส

หลักการทำงานโดยทั่วไปในระบบแห้งอาหารจะถูกส่งเข้ากระบอบกอัดโดยตรง ขณะที่ในระบบเปียกอาหารจะเคลื่อนเข้ากระบอบกอัดได้รับการปรับสภาพด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 95-103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-40 นาที (low-temperature long-time; LTLT) ส่วนอาหารแห้งในกระบอบกอัดจะถูกเกลียวอัดขับให้เคลื่อนไปข้างหน้าด้วยแรงอัดประมาณ 35-40 เท่าแรงดันบรรยากาศ ความร้อนจากแรงเสียดสี และแรงอัดทำให้อาหารมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 140-180 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิและแรงอัดขนาดนี้ทำให้เกิดแรงตัด (shear force) โครงสร้างของเซลล์ในวัตถุดิบถูกทำลาย แป้งจะสุก ใช้ระยะเวลาประมาณ 30 วินาที (high-temperature short-time; HTST) ส่วนในระบบเปียก อาหารซึ่งแป้งสุกแล้วจะถูกดันโดยเกลียวอัดออกจากชุดอัดภายในเวลาใกล้เคียงกัน แต่แรงอัดในกระบอบกอัดไม่สูงเท่ากับระบบแห้ง อุณหภูมิของอาหารเมื่อถูกอัดผ่านรูปเปิดอยู่ในระดับ 103 องศาเซลเซียส และโครงสร้างของเซลล์ในวัตถุดิบถูกทำลาย อาหารที่ถูกอัดออกมาจะมีลักษณะเหมือนกับระบบแห้ง (สาริธ, 2547) โดยเฉพาะโปรตีนในถั่วเหลือง อันเนื่องจากแรงเค้นความร้อน และความดันที่เกิดขึ้นในกระบวนการเอกซ์ทรูชัน จะเปลี่ยนรูปร่างของโปรตีนที่มีรูปร่างพับซ้อนให้กลายเป็น โครงสร้างเส้นตรง และเมื่ออุณหภูมิการผลิตสูงขึ้นจะทำให้เกิดพันธะข้ามระหว่างเส้นสายหลักของโปรตีน ทำให้เกิดโครงสร้างเป็นร่างแห ที่ทำให้ได้เนื้อสัมผัสที่คล้ายกับโปรตีนจากสัตว์ (รุ่งนภา, 2544)

Aldrich and Merchen (1995) ได้รายงานค่าโปรตีนไหลผ่านของถั่วเหลืองไขมันเต็มที่ได้ผ่านการเอกซ์ทรูชันที่ 104 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ และเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิขึ้นไปถึง 160 องศาเซลเซียส จะทำให้ค่าโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายสูงขึ้นไปอีก ส่วนในกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน Deacon *et al.* (1988) รายงานว่าการเอกซ์ทรูชันไม่ทำให้โปรตีนในกากถั่วเหลืองถูกย่อยสลายลดลงแต่อย่างใด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Maiga *et al.* (1994) พบว่าเมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชันที่อุณหภูมิ 149 องศาเซลเซียส ในอาหารโคสาว ไม่พบความแตกต่างของค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมน ซึ่งอาจเป็นเพราะอุณหภูมิที่ต่ำ (149 องศาเซลเซียส) รวมไปถึงระยะเวลาการเอกซ์ทรูชันที่สั้น ที่อาจไม่มีผลต่อการเพิ่มการป้องกันการย่อยสลายโปรตีนของกากถั่วเหลืองในกระเพาะรูเมนได้ Stern *et al.* (1985) ได้ศึกษาการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมนของโคนม ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด และถั่วเหลืองทั้งเมล็ดที่ผ่านการเอกซ์ทรูดที่อุณหภูมิ 132 และ 149 องศาเซลเซียส พบว่าค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้งมีค่าเท่ากับ 73, 80, 66 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนที่จำเป็น และการดูดซึมในลำไส้เล็กของถั่วเหลืองทั้งเมล็ดที่ผ่านการเอกซ์ทรูชันมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับอาหารที่ใช้กากถั่วเหลือง และถั่วเหลืองทั้งเมล็ดที่ไม่ผ่านการเอกซ์ทรูชัน

ตารางที่ 1 ปริมาณโภชนะของกากถั่วเหลืองและถั่วเหลืองที่ใช้กระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน

อาหาร	CP	UIP	EE	NE _L	NE _g
	%DM	%CP	%DM	Mcal/kg	Mcal/kg
ถั่วเหลืองดิบ	40.30	25.00	18.80	2.11	1.64
ถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อน	40.30	66.00	20.00	2.18	1.64
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	55.10	34.00	1.00	2.01	1.48
กากถั่วเหลือง expeller	48.30	60.00	5.10	2.07	1.45

หมายเหตุ CP = โปรตีน, UIP = โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลาย, EE = ไขมัน, NE_L = พลังงานสุทธิ

สำหรับการให้นม, NE_g = พลังงานสุทธิสำหรับการเจริญเติบโต

ที่มา: Chunjan and Limin (1997)

2. การใช้กระบวนการทางเคมี (Chemical treatment)

สารเคมีที่ใช้ป้องกันการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมนมีหลายชนิดซึ่งสารเหล่านี้จะไปสร้างพันธะกับกรดอะมิโนที่บริเวณหมู่ amide ของโปรตีน ทำให้การละลายของโปรตีนในกระเพาะลดลง (Chalupa, 1974)

2.1 การทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)

ฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) เมื่อทำปฏิกิริยากับโปรตีนจะกลายเป็นสารประกอบเมไธลอล (methylol) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อไป ทำให้เกิดการจับกันแบบ methylene cross linkage ระหว่างสายโซ่โปรตีน ทำให้จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนไม่สามารถย่อยได้ (บุญล้อม, 2546) จากการทดลองของ ภมร (2546) พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ 0.3 เปอร์เซ็นต์เพื่อลดการถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน และใช้กากถั่วเหลือง 7 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหารขึ้นเปรียบเทียบกับ กากถั่วเหลืองปกติและปลาป่น พบว่า ปริมาณน้ำนมและนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ของโคทั้ง 3 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่าโคกลุ่มที่ได้รับกากถั่วเหลืองทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ และกลุ่มที่ได้รับปลาป่นให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่ากลุ่มควบคุม และจากการศึกษาของ Amos *et al.* (1974) ที่ใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ที่ระดับ 1.1 เปอร์เซ็นต์ ทรีตในกากถั่วเหลืองและกากเมล็ด

ทานตะวัน พบว่าสัมประสิทธิ์การย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมนของโปรตีนและเซลลูโลสของกากถั่วเหลืองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของกากเมล็ดทานตะวันและกากถั่วเหลืองที่มีการทรีต และไม่ทรีตด้วยฟอร์มาลดีไฮด์

ส่วนประกอบ	ประสิทธิภาพการย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน			
	กากถั่วเหลือง	กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยฟอร์มาลดีไฮด์	กากเมล็ดทานตะวัน	กากเมล็ดทานตะวันที่ทรีตด้วยฟอร์มาลดีไฮด์
โปรตีน	56.90 ^a	37.80 ^b	59.20 ^a	58.80 ^a
เซลลูโลส	35.30 ^a	31.90 ^b	44.20 ^b	39.20 ^b
วัตถุแห้ง	66.20	59.90	66.20	64.80

หมายเหตุ ^{a,b} อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา: Amos *et al.* (1974)

2.2 การทรีตด้วยลิกโนซัลโฟเนต (Lignosulfonate)

ลิกโนซัลโฟเนต (lignosulfonate) เป็นสารที่ได้ระหว่างขบวนการย่อยซัลไฟต์ของไม้ซึ่งทำให้เกิดของเหลวซัลไฟต์ที่ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส น้ำตาล และกรดลิกโนซัลโฟนิกหรือเกลือของกรด ในการใช้ลิกโนซัลโฟเนตเพื่อลดการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของกากถั่วเหลือง Winowiski and Stern (1987) พบว่าความร้อนที่ใช้และปริมาณน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบ เช่น ไซโลส (xylose) สามารถป้องกันไม่ให้โปรตีนถูกย่อยได้ในกระเพาะรูเมน Winowiski and Stern (1988) ทำการวัดอัตราการย่อยสลายโปรตีนในอาหารโคนมที่ใช้กากถั่วเหลืองปกติ กากถั่วเหลืองที่ผ่านการใช้ออน้ำ, กากถั่วเหลืองที่ผ่านการใช้ไซโลส และกากถั่วเหลืองที่มีทรีตด้วยแคลเซียมลิกโนซัลโฟเนต พบว่าอัตราการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมนมีค่าเท่ากับ 70.60, 67.80, 40.60 และ 40.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2.3 การทรีตด้วยสารแทนนิน (Tannin)

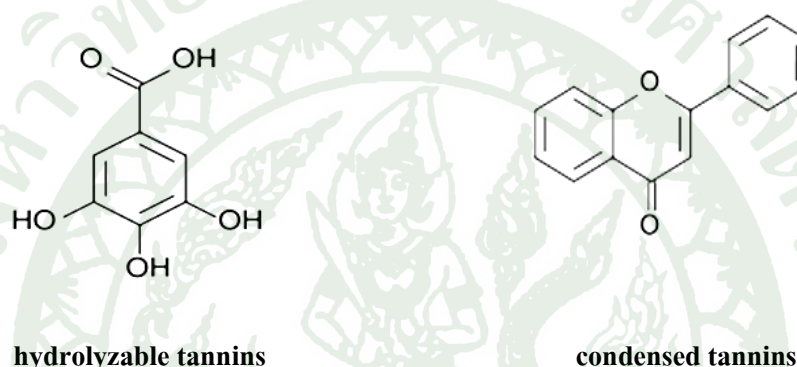
แทนนินเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ละลายน้ำ ในโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500–3,000 จึงเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน (ภาพที่ 1) มีสถานะเป็นกรดอ่อนๆ เป็นสารให้ความฝาดในพืช พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ชา กระถิน และสะเดา เป็นต้น (Brune *et al.*, 1989) แทนนินแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ตามความสามารถในการทนต่อการสลายตัวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) (ชวลิต, 2539) ดังนี้

2.3.1 ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannins) สารประกอบที่มีโครงสร้าง 2 ส่วน คือ ส่วนที่หนึ่งเป็นส่วนของน้ำตาล (กลูโคสเป็นส่วนใหญ่) ส่วนที่สองกรดฟีนอลิก (phenolic acid) เช่น gallic acid (hexahydroxydiphenic acid, HHDP) มักอยู่ในสภาพออกไซด์ โดยส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิกจะมากกว่าส่วนของน้ำตาล หรือ polyols มาเชื่อมโยงกันด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester linkage) ที่เรียกว่า depside linkage ซึ่งพันธะเอสเทอร์จะถูกไฮโดรไลซ์ในสภาวะที่มีน้ำและถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดค่างหรือเอนไซม์ (Haslam, 1966) หลังการแยกสลายด้วยน้ำจะได้ carboxylicphenol acid และแอลกอฮอล์เกิดขึ้น โดยทั่วไปแล้วแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นจะเป็นพวกน้ำตาล ส่วนกรดจะเป็นอนุพันธ์ของกรดกัลลิก (gallic acid) เมื่อนำไปกลั่นแบบแห้ง (dry distillation) กรดฟีนอลิกจะเปลี่ยนเป็น pyrogallol ดังนั้น ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน จึงเรียกอีกอย่างว่า pyrogallol tannins สารประกอบกลุ่มไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยดังนี้

- กลุ่มแรก Gallo tannin คือ แทนนินที่เกิดมาจากกรดกัลลิก หรือเป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยกรดกัลลิกเชื่อมต่อกับน้ำตาลกลูโคส ด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยกรดจะได้กรดกัลลิกและน้ำตาลกลูโคส ตัวอย่างของ gallo tannin ได้แก่ กรดแทนนิก (tannic acid หรือ chinese gallotannin) และ tara gallotannin (Leinmuller *et al.*, 1991)

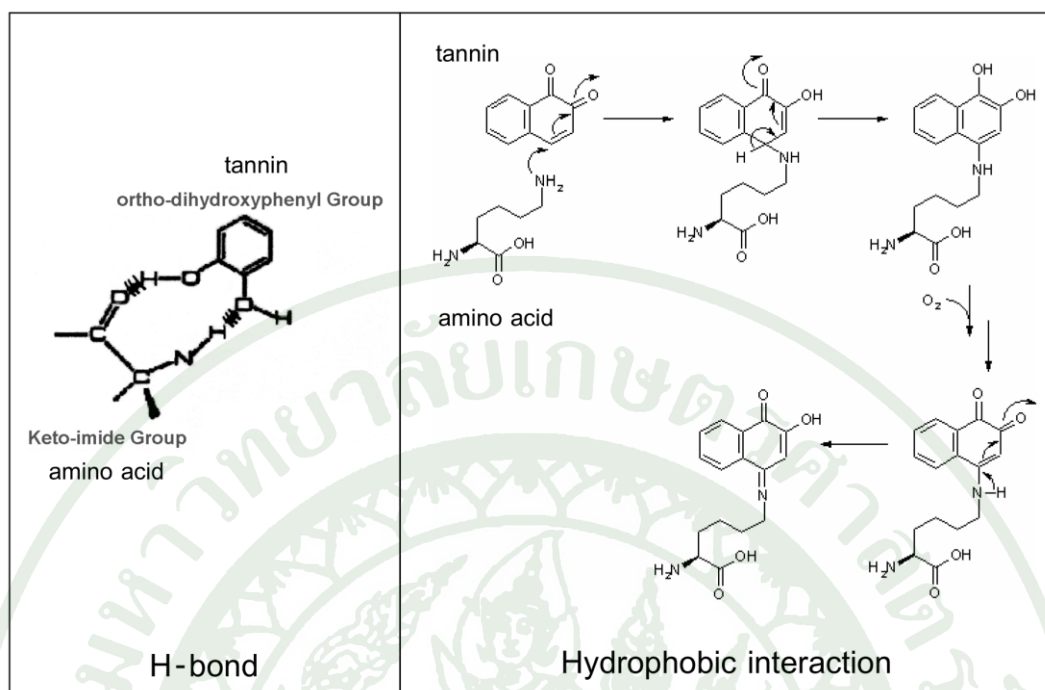
- กลุ่มสอง Ellagi tannin คือ แทนนินที่เกิดจากกรดเอลละจิก (ellagic acid) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่ประกอบด้วย hexahydroxydiphenic acid หรือ modified form เช่น chebulic acid, dehydrohexahydroxydiphenic acid เป็นต้น อยู่รวมกับน้ำตาล ellagi tannin เมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยกรด ส่วนของ hexahydroxydiphenic acid จะแยกออกและเกิดปฏิกิริยา lactonization ให้กรดเอลละจิก (Leinmuller *et al.*, 1991)

2.3.2 คอนเดนซ์แทนนิน (Condensed tannins) สามารถละลายได้ในสภาพที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูง (Haslam, 1966) และเมื่อนำมากลั่นแบบแห้งหรือผ่านความร้อนจะได้ catechols จึงอาจเรียกชื่อ แทนนิน ประเภทนี้ว่า catechol tannins หรือ catechin tannins หรือ phloba tannins (VIII) Turkish gallotannin (IX), Taragallotannin (X) และ Dhava tannin (XI) เป็นต้น ซึ่งพืชที่เป็นแหล่งของคอนเดนซ์แทนนิน ได้แก่ เปลือกอบเชย เปลือกชินโคนา เปลือกหลิ่ว เปลือกโอ๊ค เปลือกโกโก้ เปลือกและใบของ hamamelis ราก krameria ราก male fern ใบชา crown vetch (*Coronilla varia*) (Leinmuller *et al.*, 1991)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของแทนนินชนิดต่างๆ
ที่มา: Smith and Swain (1962)

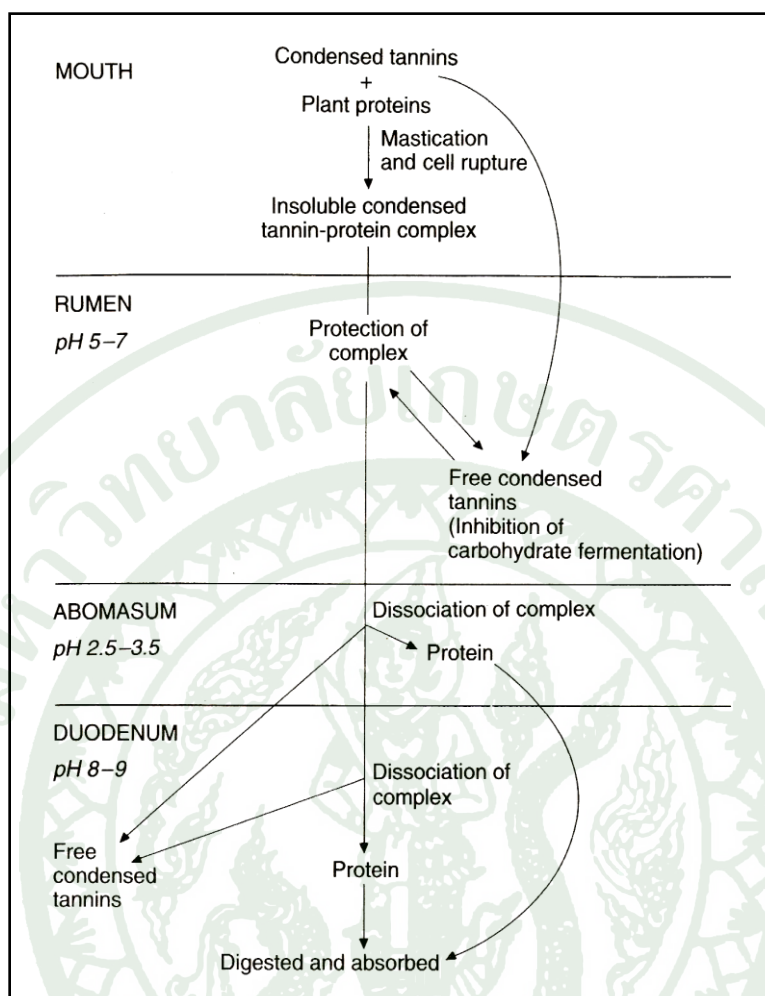
การรวมตัวกันของแทนนินและโปรตีนเป็นการจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (H-bond) ระหว่างกลุ่ม phenolic ของแทนนินกับกลุ่ม ketoimide ของโปรตีน และโดย hydrophobic interaction ระหว่างโครงสร้างที่เป็นวงแหวนของแทนนินกับส่วนที่เป็น hydrophobic ของโปรตีน เกิดเป็น tannin-protein complex (ภาพที่ 2) กระบวนการในการรวมตัวกันของแทนนินและโปรตีน เป็นกระบวนการที่สามารถผันกลับได้ โดยโปรตีนที่มีขนาดใหญ่จะจับกับแทนนินได้แน่น (Kumar and D'Mello, 1995) การสลายตัวของ tannin-protein complex ในกระเพาะแท้ของสัตว์ กระเพาะรวม เกิดได้ในสภาพ pH ต่ำกว่า 3 และสูงกว่า 8 ได้เป็นโปรตีน และ free tannin สภาวะภายในกระเพาะแท้ของสัตว์มี pH 2.5-3.5 มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพของ tannin-protein complex โดยทำให้โปรตีนถูกทำลายจนเสียสภาพ และคลายพันธะที่จับกับแทนนิน หลังจากนั้นโปรตีนจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ในกระเพาะแท้ และลำไส้เล็ก (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 การรวมตัวกันของแทนนินและโปรตีน

ที่มา: Kumar and D' Mello (1995)

กลไกของการสลายตัวของ tannin-protein complex นี้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีความแตกต่างจากสัตว์กระเพาะเดี่ยวโดยจะมีการผลิต proline-rich protein (PRP) ในน้ำลาย ซึ่งโคเป็นสัตว์กระเพาะรวมที่มีการผลิตน้ำลายเป็นจำนวนมาก ทำให้มี PRP มากพอที่จะไปจับกับ tannin-protein complex ในขณะที่มีการเคี้ยวเอื้องและอยู่ในกระเพาะรูเมน และเมื่อ tannin-protein complex เกิดการแตกตัวที่กระเพาะจริงจึงมีส่วนช่วยลดพิษของ free tannins ที่แตกตัว เพราะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีเสถียรภาพสูง ส่วนโปรตีนที่แตกตัวจะถูกย่อยและไปใช้ประโยชน์ต่อไป ส่งผลให้สามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้มากขึ้น



ภาพที่ 3 การป้องกันการสลายตัวของโปรตีนโดยแทนนินในกระเพาะหมัก และการสลายตัวของ tannin-protein complex ในกระเพาะแท้และลำไส้เล็กของสัตว์กระเพาะรวม
ที่มา: Kumar and D' Mello (1995)

Getachew *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาการใช้สารแทนนินที่ผลิตทางการค้า 3 ชนิด คือ GA (gallic acid), OT (queracho tannin) และ TA (tannic acid) ที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนที่สลายในกระเพาะรูเมน โดยใช้กระเพาะรูเมนจำลอง (*in vitro* rumen degradability of protein: IVRDP) พบว่าการสลายตัวของโปรตีนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) การสลายตัวของโปรตีนในกระเพาะรูเมนมีความสัมพันธ์กับระดับของแทนนิน คือ เมื่อใช้แทนนิน TA และ QT มากขึ้นในปริมาณ 50 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง ทำให้โปรตีนสามารถสลายตัวได้น้อยลง ส่งผลให้ปริมาณแอมโมเนียลดลงได้ แต่ GA ต้องใช้ในปริมาณที่สูงกว่า 150 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง ซึ่งการทรีตแทนนินสังเคราะห์ที่ระดับ 50-150 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง มีผลช่วยเพิ่มโปรตีนไหลผ่านจากร้อยละ 40 เป็นร้อยละ 55 มากกว่าการไม่ทรีตร้อยละ 30 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลอง และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน($\text{NH}_4^+\text{-N}$, 24 และ 72 h) ของถั่วอัลฟาฟาแห้งที่ได้รับแทนนินชนิดต่างๆในระดับที่แตกต่างกัน

แทนนิน		ระดับของแทนนิน (กรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุแห้ง)			
		0	50	100	150
GA	IVRDP (hr. 24)	0.71	0.74	0.73	0.81
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.24)	7.72	7.73	7.65	7.85
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.72)	3.40	3.43	3.35	3.28
QT	IVRDP (hr. 24)	0.71 ^c	0.61 ^b	0.49 ^{a*}	0.45 ^{a*}
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.24)	7.71	6.71	6.03	5.70
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.72)	3.40 ^d	2.99 ^c	2.35 ^b	1.66 ^a
TA	IVRDP (hr. 24)	0.71 ^b	0.61 ^{a*}	0.53 ^{a*}	0.37 ^{a*}
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.24)	7.72	6.73	6.10	5.33
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg (hr.72)	3.40 ^d	2.93 ^c	2.52 ^b	1.82 ^a

หมายเหตุ^{a,b,c,d} อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$), * = ($P < 0.01$)

GA = gallic acid

QT = queracho tannin

TA = tannic acid

ที่มา: Getachew *et al.* (2008)

ใบชาและการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ของกากชาในการเลี้ยงสัตว์

1. ลักษณะทั่วไปและองค์ประกอบทางเคมีของใบชา

ชามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* มี 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน และ สายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย สายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนเจริญเติบโตในแถบพื้นที่สูง อากาศหนาวเย็น มีลักษณะใบเล็ก โดยมีใบขนาดกว้าง 1 นิ้ว ยาวประมาณ 3 นิ้ว ส่วนสายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียเจริญเติบโตได้ดีในภูมิอากาศร้อนปานกลาง มีลักษณะใบที่ใหญ่กว่า ขนาดกว้าง 4 นิ้ว ยาว 10 นิ้ว ส่วนของต้นชาที่ใช้นำมาทำ

เครื่องดื่ม คือ ส่วนใบบริเวณยอด จะมีคุณภาพดีที่สุด จึงนิยมนักยาระดับของต้นชาให้สูงประมาณ 3-5 ฟุต เพื่อให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยว และได้ชาที่มีคุณภาพดี (รัตนภรณ์, 2552)

ชาเป็นพืชใบเลี้ยงคู่จัดอยู่ในวงศ์ Theaceae ในวงศ์นี้ประกอบด้วยพืชถึง 20 สกุล (genera) มี 200 ชนิด (species) พืชในวงศ์นี้มีทั้งไม้ยืนต้น (tree) และไม้พุ่ม (shrubs) อยู่ในเขตร้อนและเขตอบอุ่น โดยมีศูนย์กลางอยู่บริเวณทวีปอเมริกา และเอเชีย ลักษณะสำคัญของพืชในวงศ์นี้คือ ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตัวสลับกัน 1 ใบ ต่อ 1 ช่อ สีใบเขียวสด แผ่นใบหนา ดอกเป็นดอกเดี่ยว (อรพิน, 2550) สำหรับชาชนิดที่ปลูกเป็นการค้าทั่วโลกนั้น มีชื่อสามัญว่า tea ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* (L.)

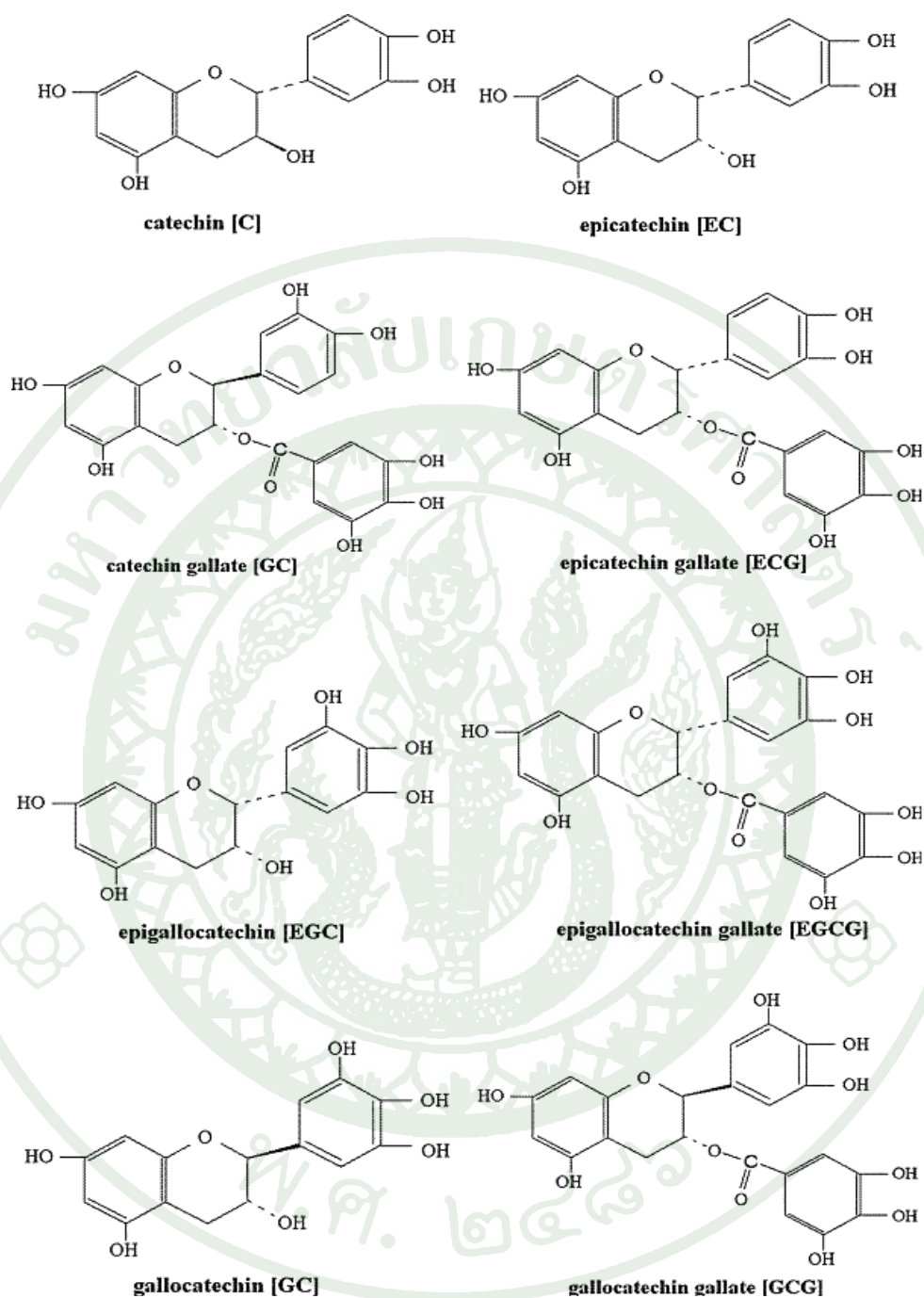
การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของใบชาเริ่มมีมาตั้งแต่ ค.ศ. 1827 โดยศึกษาส่วนประกอบของสารเคมีในใบชา การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกิดขึ้นในใบชาระหว่างขั้นตอนของกระบวนการผลิต ตลอดจนองค์ประกอบทางเคมีของสารละลายชาที่ได้จากการชงชาที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่า สารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบของใบชา มีหลาย ชนิด และสารต่าง ๆ ที่พบในใบชาสดและใบชาแห้ง (ใบชาที่ผ่านขั้นตอนการผลิตแล้ว) มีปริมาณที่แตกต่างกันไป (ไพโรจน์, 2532)

2. สารประกอบในใบชา

- โพลีฟีนอล (polyphenol) ในชามีสารโพลีฟีนอล ประมาณ 30-42 % ของน้ำหนักแห้ง (Haslam, 1966) ซึ่งสารในกลุ่มโพลีฟีนอล ที่พบในชาธรรมชาตินั้น พบว่ามี (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Epicatechin-3-gallate (ECG) และ Epicatechin (CG) (Bradfield *et al.*, 1947) นอกจากนั้นยังพบคาเทชินตัวอื่นๆ อีก คือ Gallocatechin (GC), gallocatechin gallate (GCG), catechin gallate (CG) และ catechin (C) (Mahindroo, 2000) สารโพลีฟีนอลที่พบมากในใบชาเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอล (flavonols) พบประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ จากสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในใบชา หรือคิดเป็น 18-32 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักใบชาสด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Chopra and David, 2000) เรียกสารกลุ่ม ฟลาโวนอลที่พบได้ในใบชานี้ว่า สารคาเทชิน (Chen and Ho, 1995)

- สารคาเทชิน (catechins) ในชาเขียวมีคาเทชิน ประมาณ 8-15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักใบชาแห้ง (Goto *et al.*, 1996) ขณะที่ชาดำมีคาเทชิน ประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักใบชาแห้ง (Sanderson, 1972) ละลายน้ำได้ มีรสขมฝาด สี กลิ่น และรสของชาขึ้นอยู่กับปริมาณคาเทชินในชา (Balentine *et al.*, 1997) คุณสมบัติเด่นของคาเทชิน คือ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินซีและวิตามินอี 100 เท่า (Varilek *et al.*, 2001) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง epigallocatechin gallate (EGCG) ซึ่งพบได้ในปริมาณสูง และพบเฉพาะในใบชาเท่านั้น (Ninomiya *et al.*, 1997) จึงเป็นสารสำคัญในใบชาที่นิยมใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชกรรม (พนม, 2550) คาเทชินแต่ละชนิดในใบชาอาจมีจำนวนของวงแหวนเบนซีน และหมู่ไฮดรอกซิลที่แตกต่างกัน (Wang *et al.*, 2000) หรือมีการจัดเรียงของโครงสร้างทางเคมีที่ต่างกัน (Gramza and Korczak, 2005) ดังแสดงในภาพที่ 4 (พนม, 2550)

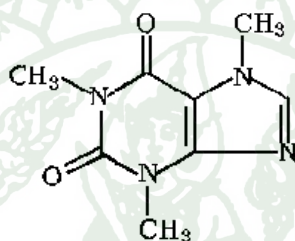
- แทนนิน (tannin) เป็นสารประกอบฟีนอลที่ละลายน้ำ (water-soluble phenolic compounds) ในโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500–3,000 จึงเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสถานะเป็นกรดอ่อนๆ เป็นสารให้ความฝาดในพืช แทนนินที่พบในใบชาเป็นแทนนินในกลุ่มคอนเดนซ์แทนนิน สามารถละลายได้ในสภาพที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูง (Haslam, 1966) และเมื่อนำมากลั่นแบบแห้งหรือผ่านความร้อนจะได้ catechols จึงอาจเรียกชื่อ แทนนิน ประเภทนี้ว่า catechol tannins หรือ catechin tannins หรือ phloba tannins (VIII) Turkish gallotannin (IX), Taragallotannin (X) และ Dhava tannin (XI) เป็นต้น สารกลุ่มนี้ยังสามารถแสดงคุณสมบัติของการเกิดปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจงของฟีนอลได้ เช่น สามารถตกตะกอนกับโปรตีนต่าง ๆ อัลคาลอยด์ รวมทั้งสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เช่น เซลลูโลสและเพคตินได้ พบแทนนินในใบชาประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Scalbert, 1991) เป็นสารที่มีรสขมและฝาด มีฤทธิ์สมาน ใช้บรรเทาอาการท้องเสียหรือท้องเดิน ซึ่งเกิดจากเนื้อเยื่อที่ผนังลำไส้ใหญ่มีการระคายเคืองจากเชื้อโรคสารเคมี หรืออาหารบางชนิด ทำให้ลำไส้ใหญ่บีบตัวมากกว่าปกติ สารแทนนินที่มีอยู่ในชาเมื่อสัมผัสกับผนังลำไส้ จะรวมกับโปรตีนที่ผิวเนื้อเยื่อแล้วตกตะกอนเคลือบเนื้อเยื่อไว้ ทำให้ลดการระคายเคืองและการบีบตัวของลำไส้ นอกจากนี้แทนนินยังสามารถจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ของเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส หรือทำให้เชื้อโรคเหล่านี้ไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้ (Jean, 1995)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของคาเทชินชนิดต่างๆ

ที่มา: Gramza and Korczak (2005)

- คาเฟอีน (caffeine) อาจเรียกชื่ออื่นว่า โคเฟอีน (coffeine) หรือเมทิลทีโอโบรมีน (methyltheobromine) มีสูตรโมเลกุล $C_8H_{10}N_4O_2$ (ภาพที่ 5) และมีน้ำหนักโมเลกุล 194.19 มีจุดเดือด 178 องศาเซลเซียส คาเฟอีนเป็นผงผลึกสะท้อนแสง สีขาว ละลายน้ำ ไม่มีกลิ่น รสขมเล็กน้อย พบคาเฟอีนในใบชาประมาณ 1.4-3.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง คาเฟอีนช่วยกระตุ้นสมองให้ตื่นตัว เนื่องจากมีฤทธิ์กระตุ้นประสาท นอกจากนี้ยังเพิ่มการเผาผลาญอาหารโดยเพิ่มการใช้คาร์โบไฮเดรตในร่างกาย ลดน้ำตาลและกรดไขมันในเลือด รวมทั้งลดปริมาณไกลโคเจน (glycogen) ในตับ เพิ่มการทำงานของหัวใจและไต อย่างไรก็ตามหากได้รับคาเฟอีนมากเกินไป อาจทำให้อ่อนไม่หลับ ใจสั่น (Das, 1962)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของคาเฟอีน
ที่มา: O' Connell (2000)

3. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบชา

3.1 ต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ (Free radical) สามารถเกิดขึ้นได้จากการที่สารต่างๆ เช่น กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอนให้กับสารตัวกลางออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาสูงได้อนุมูลเปอร์ออกไซด์ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันอื่นได้อีกได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) และจะเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป โดยอิเล็กตรอนเดี่ยวที่อยู่ในโครงสร้างของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดการจับเรียงตัวใหม่ ทำให้เกิดการแตกสลายของโมเลกุลได้เป็นสารประกอบมาโลนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde) และสารประกอบลิปิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide) ที่เสถียร เมื่อมีอนุมูลอิสระมากขึ้นจะทำปฏิกิริยากันเองและส่งผลในที่สุด (บุญล้อม, 2546) สารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย โดยจะไปทำลายผนังเซลล์ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นฟอสโฟลิปิด เกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ขึ้นทำให้เซลล์เสื่อมสภาพ และทำให้การทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงไป (พนม, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) เป็นสารที่มีคุณสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ดูดซับอิเล็กตรอนเดี่ยวจากสารอนุมูลอิสระไว้ ทำให้อนุมูลอิสระไม่เกิดการออกซิไดซ์ต่อไป และหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการทำลายสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน และ ดีเอ็นเอ อนุมูลอิสระมีผลทำให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติ เซลล์ตาย และอาจนำไปสู่การสร้างยีนที่ผิดปกติจนเกิดเป็นเซลล์มะเร็ง (Pietta, 2002) สารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง สารจำพวกคาเทชินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยจัดการไอออนของโลหะหนัก, oxygen species และ อนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่า EGCG สามารถยับยั้งการทำงานของ Lipoxygenase ในถั่วเหลือง นอกจากนั้น EGCG ยังสามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของเบสในดีเอ็นเอของ Hela cells (Bhimani *et al.*, 1993) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low-density lipoprotein (LDL) ลดการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Yochino *et al.*, 1994) ยับยั้งการสร้าง reactive oxygen species (ROS) ที่ได้จาก NADPH (Blazovics *et al.*, 2000) EGCG ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ยังสามารถยับยั้งการเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอของ Jurkat T-cell โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และ 3-morpholino sydnonimine อย่างไรก็ดี EGCG ที่มีความเข้มข้นสูงสามารถทำให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอของเซลล์ได้เช่นกัน (Johnson and Loo, 2000)

3.2 ด้านจุลินทรีย์ สารสกัดชามีฤทธิ์ยับยั้งและทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae* และ *Vibrio* spp. (Toda *et al.*, 1989, Ryu *et al.*, 1982, Kawamura and Takeo, 1989) รวมทั้งแบคทีเรียทั้งกลุ่ม *Salmonella* spp., *Shigella* spp. และ *Vibrio cholerae* (Hamilton and Miller, 1995) โดยสารโพลีฟีนอลในชาทำให้โปรตีนของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวแข็งตัว (solidifying) เสียสภาพไม่สามารถทำงานได้ และถูกเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำลายในที่สุด (Ryu *et al.*, 1982) นอกจากนี้สารโพลีฟีนอลที่สกัดจากชาสามารถช่วยเพิ่มปริมาณแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ใหญ่ของสัตว์ (Ishihara and Chu, 2001)

Mbata (2007) ได้ศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของชาจากประเทศไนจีเรียและจากประเทศเคนยา โดยใช้ชาในรูปแบบของสารสกัดที่ได้จากผลิตภัณฑ์ชา (tea bags) ใน 3 ระดับความเข้มข้นคือ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองโดยใช้ agar-gel diffusion method กับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, เชื้อ *Staphylococcus aureus*, เชื้อ *Vibrio cholerae*, เชื้อ *Salmonella* sp., เชื้อ *Proteus* sp. และเชื้อ *Escherichia coli* ผลจากการศึกษาดังกล่าวพบว่าสารสกัดชาจากทั้ง 2 ประเทศ แสดงผลในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ เชื้อ *S. aureus*,

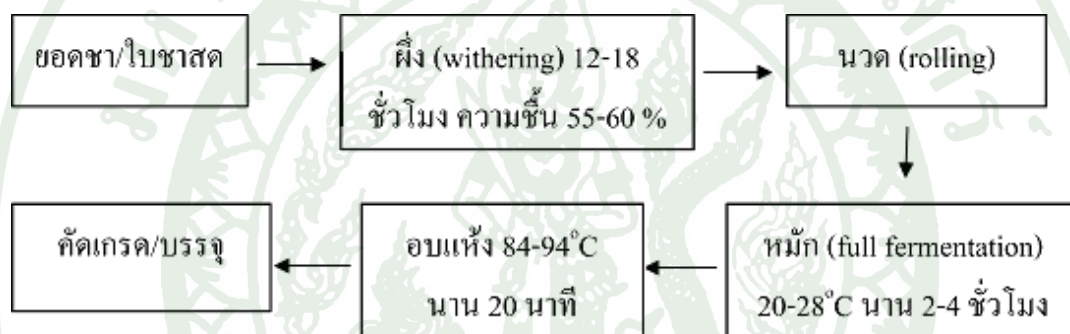
เชื้อ *V. cholerae*, เชื้อ *Proteus* sp. และ เชื้อ *E. coli* และการตอบสนองของสารสกัดจากชาต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดชา

3.3 ด้านการอักเสบ การอักเสบเป็นกลไกของร่างกายที่เกิดขึ้นในบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดบาดแผลและเนื้อเยื่อที่มีสิ่งแปลกปลอมเข้ามารุกราน เป็นจุดเริ่มต้นในการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ร่างกายจะมีกลไกการเคลื่อนที่ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันไปยังบริเวณนั้นๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ แอนติบอดี (antibody) และคอมพลีเมนต์ (complement) เป็นต้น ในขณะที่เดียวกันจะมีการหลั่งสารไซโตไคน์ (cytokine) หลายชนิด เช่น tumor necrosis factor α (TNF- α) และ interleukin-1 (IL-1) เป็นต้น เพื่อเรียกเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้มากำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามา รุกราน สาร EGCG ในชาสามารถลดการแสดงลักษณะยีนที่กระตุ้นการสร้าง interleukin-8 ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบ และยับยั้ง TNF- α ได้ (Chen *et al.*, 2003) และนอกจากนี้ยังพบว่า EGCG ในสารสกัดจากชาเขียว ช่วยลดการอักเสบของผิวหนัง โดยยับยั้งการแบ่งตัวของ keratinocyte ปกติของคนที่ถูกกระตุ้นด้วย tumor necrosis factor- α (TNF- α) โดยไม่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ ลดการหลั่ง vascular endothelial growth factor (VEGF) และยับยั้งการหลั่ง IL-8 ด้วย (Trompezinski *et al.*, 2003)

ผลิตภัณฑ์จากชาและกระบวนการผลิต

ใบชาสดที่นิยมนำมาผลิตชาเพื่อให้ได้คุณภาพชาที่ดีนั้น จะใช้ยอดชาที่มีลักษณะเป็นสองใบกับหนึ่งยอด มาเข้ากระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชาที่เป็นลักษณะเฉพาะ มีกลิ่น รสชาติน้ำชาที่แตกต่างกันออกไป ขั้นตอนการผลิตที่หลากหลายสามารถกำหนดคุณภาพชาในตอนสุดท้าย ทั้งนี้ยังรวมไปถึงชนิดของพันธุ์ชาที่นำมาใช้ในขบวนการผลิตชาอีกด้วย ทำให้ชาที่มีคุณภาพ และราคาที่แตกต่างกัน โดยหลักการแล้ว การผลิตใบชาแห้งเพื่อชงดื่มนั้นก็ถือ การเอาใบชาสดมาผึ่ง คั่ว นวดอบ เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งลักษณะทางกายภาพ และทางเคมี โดยใช้พลังงานความร้อน และพลังงานกลที่เหมาะสม มีการใช้เครื่องมือในโรงงานชนิดต่างๆ มาสร้างผลิตภัณฑ์ การทำชาแห้งในครัวเรือนยังพบเห็นได้ในบางพื้นที่ โดยอาศัยเครื่องมือการผลิตและวิธีการผลิตที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552) ชาแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด คือ ชาดำ (black tea), ชาอูหลง (oolong), ชาขาว (white tea) และชาเขียว (green tea) ชาทุกชนิดต่างก็ได้มาจากใบของพืชชนิดเดียวกัน แต่เรียกชื่อแตกต่างกันก็เนื่องมาจากกระบวนการผลิต (การหมัก) ใบชาที่แตกต่างกัน (ปริญญ์, 2549)

1. ชาดำ (black tea) จัดอยู่ในกลุ่มของชาที่มีการผลิตแบบ fermented tea processing หมายถึง เป็นการผลิตชาที่มีปฏิกิริยาให้เกิดหมักอย่างเต็มที่ สารโพลีฟีนอลในใบชาจะถูกเปลี่ยนรูปไปเป็นไปเป็นสารพวก theaflavins และ thearubigins ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เมื่อชงดื่มแล้วจะได้ชาที่มีกลิ่นหอม น้ำชาจะมีสีน้ำตาลแดงเข้ม ตัวอย่างเช่น ชาลิปตัน ชาดำจะเป็นชาที่มีผู้บริโภคสูงสุดในโลกเมื่อเทียบกับชาชนิดอื่น จากการสำรวจพบว่าผู้ที่บริโภคชาดำประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่จะเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในแถบตะวันตกและแถบทวีปเอเชีย (ปริยพันธ์, 2549) ขั้นตอนในกระบวนการผลิตที่เกิดการหมักเป็นการเอาใบชาสดมาผึ่ง ก่อนเข้ากระบวนการนวด และในขั้นกระบวนการหมัก ที่มีการปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเคมีเกิดอย่างเต็มที่ก่อนที่จะมีการอบชาให้แห้งในขั้นตอนสุดท้าย (ภาพที่ 6) (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552)



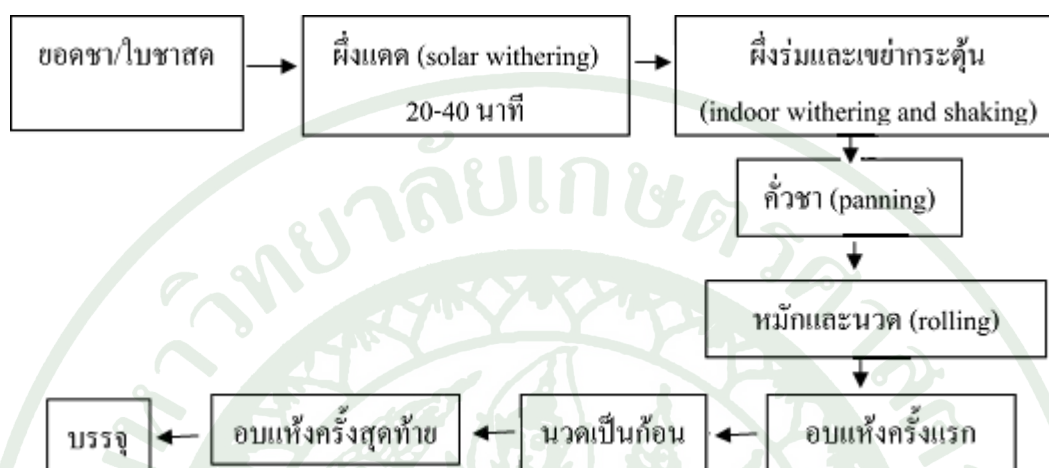
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการผลิตชาดำ

ที่มา: พนม (2550)

2. ชาอูหลง (oolong) หรือ ชาจีน มีกระบวนการผลิตชาที่เป็นแบบ semi-fermented tea processing คือ ในขั้นตอนการผลิตจะมีการปล่อยให้เกิดหมักในบางส่วน การผลิตชาอูหลงนั้นจะมีวิธีการที่ค่อนข้างประณีต ละเอียดยิ่ง และต้องการผู้เชี่ยวชาญในการดูแลการผลิตอย่างใกล้ชิด รวมทั้งต้องการเทคโนโลยีการผลิตที่ค่อนข้างซับซ้อน (ภาพที่ 7) เพื่อให้ได้ชาที่มีกลิ่นหอม มีรสชาติดี ชาอูหลงเป็นชาที่มีผู้บริโภคน้อยที่สุดประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าผู้บริโภคมกในประเทศไต้หวันและทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน (ปริยพันธ์, 2549)

ขบวนการหลักสำคัญที่มีการให้เกิดหมัก ได้แก่การปล่อยให้ใบชาสดไปผึ่ง (withering) ทั้งแบบกลางแจ้ง (solar withering) และการผึ่งในร่ม (indoor withering) การผึ่งในร่มในบางโรงงานมีการปรับอุณหภูมิให้คงที่โดยใช้ห้องที่มีเครื่องปรับอากาศปรับอุณหภูมิการผึ่งที่เหมาะสมด้วย

เทคโนโลยีที่ทันสมัยและกระบวนการผลิตที่ซับซ้อน ต้นทุนการผลิตสูง ทำให้โรงงานที่มีการผลิตชาอูหลงส่วนใหญ่จะมีเจ้าของเป็นผู้ผลิตชารายใหญ่และไร่ชาขนาดใหญ่เป็นของตัวเอง ราคาของชาอูหลงนั้นค่อนข้างสูง (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552)



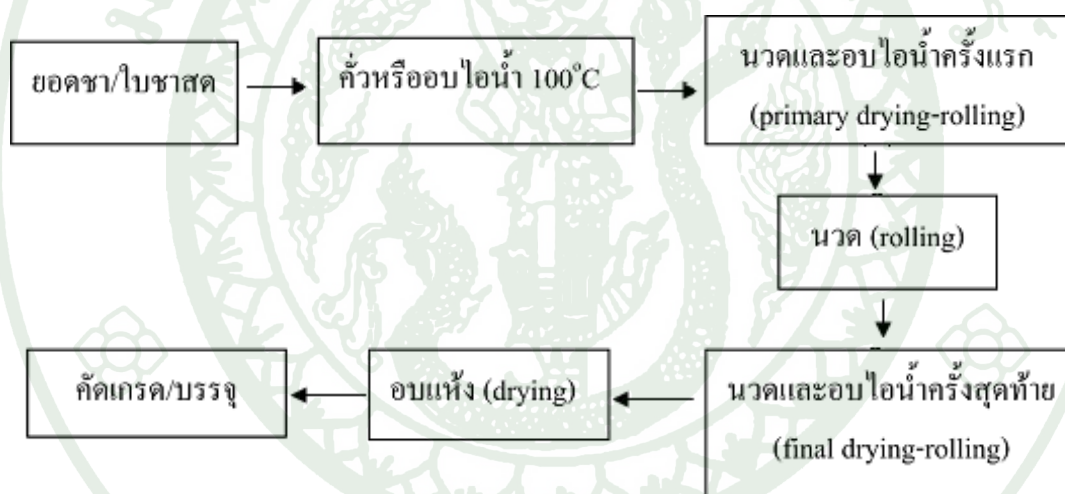
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการผลิตชาอูหลง
ที่มา: พนม (2550)

3. ชาขาว (white tea) จัดอยู่ในกลุ่มชาที่มีการผลิตแบบ Semi-fermentation เช่นเดียวกับชาอูหลง ขั้นตอนจะนำใบชาและยอดอ่อนมาอบไอน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธีง่ายๆ ในแต่ละปีจะสามารถเก็บเกี่ยวได้เฉพาะบางวันเท่านั้นและช่วงการเก็บเกี่ยวแต่ละครั้งก็สั้นมากและต้องทำอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่ยอดอ่อนของต้นชาเพิ่งจะผลิออกมาใหม่ และยังคงมีเส้นไหมหรือเส้นขนละเอียดสีเงินปกคลุมอยู่ การเก็บเกี่ยวจะเลือกเอายอดอ่อนที่เต็มไปด้วยขนสีขาวปกคลุม ทำให้ได้ชาที่มีลักษณะพิเศษคือมีสีขาว (ปริยพันธ์, 2549)

4. ชาเขียว (green tea) เป็นชาชนิดหนึ่งที่มีความนิยมนิยมมากในปัจจุบัน มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มากมายที่บ่งชี้ว่าชาเขียวมีสารในกลุ่มคาเทชิน โดยเฉพาะสารอีพิกัลโลคาเทชิน แกลเลท (epigallocatechin gallate / epigallocatechin gallette; EGCG) (Juskiewicz *et al.*, 2008) ชาเขียวมีกระบวนการผลิตที่เป็น Non-fermented tea processing ถือเป็นกระบวนการที่ไม่ปล่อยให้เกิดกระบวนการหมักเกิดขึ้นเลย โดยมีการยับยั้งปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่จะเกิดขึ้นได้กับสารโพลีฟีนอลในใบชาสด อาศัยความร้อนสูงไปทำให้ Enzyme เสียสภาพ ไม่สามารถไปเปลี่ยนแปลงสารในกลุ่มโพลีฟีนอลให้กลายเป็นสารเคมีชนิดอื่น ชาเขียวจึงเป็นชาที่มีการคงอยู่ของปริมาณคาเทชินอยู่สูงเมื่อเทียบกับชาชนิดอื่น ทำให้มีการใช้ชื่อของชาเขียว หรือ Green tea กันอย่างแพร่หลายเพื่อกล่าว

อ้างอิงสรรพคุณในการใช้ประโยชน์ทางด้านสุขภาพ เนื่องมาจากการมีคุณสมบัติในการป้องกัน และรักษาโรคของสารเคมีกลุ่มคาเธซินที่ยังคงอยู่ในปริมาณสูงในชาเขียว

ขั้นตอนในการทำให้เอนไซม์เสียสภาพนั้น คือการนำเอาใบชาสดมาอบด้วยไอน้ำร้อนด้วยความรวดเร็วซึ่งจะเป็นเทคนิคการผลิตชาเขียวแบบญี่ปุ่น ในขณะที่โรงงานผลิตชาในประเทศไทยนั้นนิยมใช้วิธีการคั่วด้วยความร้อนเป็นการทำให้ เอนไซม์เสียสภาพ ซึ่งเป็นเทคนิคการทำชาเขียวแบบจีน จากนั้นจะมีการนวด คั่ว อบชาเพื่อเป็นการลดความชื้น และการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ในใบชา จนทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ชาที่แห้ง มีกลิ่นหอม และมีลักษณะทางกายภาพตามที่ต้องการ ขั้นตอนที่แสดงไว้ในแผนภาพเป็นขั้นตอนการผลิตชาเขียวโดยทั่วไป (ภาพที่ 8) เทคนิคการผลิตชาเขียวในแต่ละโรงงานนั้นยังมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกัน ซึ่งบางโรงงานก็จะมีเทคนิคที่เป็นความลับ เพื่อให้ได้ชาเขียวที่มีเอกลักษณ์เฉพาะ เป็นที่นิยมของผู้บริโภค (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552)



ภาพที่ 8 ขั้นตอนการผลิตชาเขียว

ที่มา: พนม (2550)

การใช้ประโยชน์ของผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ชา

น้ำชา (tea) จัดเป็นเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ที่นิยมมากเป็นอันดับที่สองรองจากน้ำทั่วโลกได้มีการนำใบชามาผลิตและบริโภคปีละประมาณสามพันล้านกิโลกรัม (Khan and Mukhtar, 2007) ประกอบกับในช่วงระยะไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีการเผยแพร่ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับคุณประโยชน์ของชาเขียวอย่างมากมาย ทำให้มีความนิยมในการบริโภคชาเขียวมีเพิ่มมากขึ้น

จนปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของชาเขียวนอกเหนือจากในรูปแบบของชาชงออกมาสู่ท้องตลาดจำนวนมาก ทำให้มีกากชาเขียวที่เหลือใช้ภายหลังจากการผลิตเครื่องดื่มชาเขียว โดยปกติกากชาเขียวจะถูกจำกัดโดยการเผาหรือการฝังกลบ ซึ่งก่อให้เกิดกระทบผลต่อสิ่งแวดล้อม (Kondo *et al.*, 2004) กากชาเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่ม เมื่อผ่านกระบวนการผลิตแล้วอาจทำให้คุณสมบัติในกากชาเกิดการเปลี่ยนแปลงไป เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติของกากชาเขียว พบว่าสารแทนนินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Yang *et al.*, 2003) และเนื่องจากมีองค์ประกอบของโปรตีนที่ยังคงหลงเหลืออยู่บ้าง จึงเหมาะสมในการพัฒนาเป็นอาหารเสริมหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มคุณค่าของอาหารสัตว์ (Yang *et al.*, 2003; Kondo *et al.*, 2004) และยังพบว่ากากชาเขียวมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงใกล้เคียงกับชาเขียว ซึ่งสามารถลดอนุมูลอิสระในเลือดได้

การใช้กากชาเขียวและสารสกัดจากกากชาเขียวในอาหารสัตว์

อาหารสัตว์ปีก

การใช้กากชาเขียวต่อสมรรถภาพการผลิตและองค์ประกอบซากของไก่เนื้อ พบว่ากลุ่มที่มีการเสริมกากชาเขียวในระดับ 0.5, 1 และ 2% ในสูตรอาหารมีแนวโน้มช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลชนิด LDL ในกระแสเลือดได้และยังช่วยเพิ่มระดับกรดไขมันโดโคซาเฮกซาโนอิก (docosahexaenoic acid, DHA) ในพลาสมาได้ด้วย ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการเกิดอนุมูลอิสระ (TBARs) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในกลุ่มที่มีการเสริมกากชาเขียว และกลุ่มที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณไขมันในช่องท้องเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในกลุ่มที่มีการเสริมกากชาเขียวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Yang *et al.*, 2003) Tang *et al.* (2002) ได้ทำการเสริมสารคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียวในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร พบว่าทุกกลุ่มทดลองสามารถช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อไก่ได้ และยังช่วยรักษาระดับของวิตามินอีในเนื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะที่ระดับ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร

สุภาพรณ (2552) ได้ทำการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 100, 200, 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยมีระดับคาเทชินเท่ากับ 21.36, 42.72, 64.08 และ 85.44 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ พบว่าคุณภาพไข่ของกลุ่มที่เสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในอาหารมีค่าความสูงไข่ขาว และค่าฮอกยูนิตมากกว่ากลุ่ม

ควบคุมที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นและไม่เสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) นอกจากนี้พบว่า การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในระดับ 100-200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน สามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อทรีดที่ระดับ 200-400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลในการลดค่า TBARs ในซีรัมและในไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

อาหารสุกร

การใช้สารสกัดจากชาเขียว (40% epigallocatechingallate, 24% epigallocatechin, 12% epicatechingallate และ 10% epicatechin) ในอาหารสุกร ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่ามีผลช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อสุกรได้ (Mason *et al.*, 2005) Ko *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้กากชาเขียว (green tea by-product) ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และโปรไบโอติกชาเขียว (green tea probiotics) ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเนื้อและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในสุกรขุน พบว่าสุกรในแต่ละกลุ่มทดลองมีปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่ม น้ำหนักตัวสุดท้าย และอัตราแลกเนื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระดับคอเลสเตอรอลในเนื้อของแต่ละกลุ่มทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า TBARs ในเนื้อของสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกชาเขียวที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับการเสริมกากชาเขียวที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ขุนพล และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากกากชาในสุกรขุนที่ระดับ 100, 200, 300, 400 และ ผลิตภัณฑ์สารแทนนินทางการค้าที่ระดับ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสุกรช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์ ในกลุ่มที่มีการเสริมผลิตภัณฑ์สารแทนนินทางการค้า มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดหยาบจากกากชาทุกระดับและกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับสุกรช่วงอายุ 21-24 สัปดาห์ พบว่าสุกรกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดหยาบจากกากชาที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราแลกเนื้อดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการทรีดผลิตภัณฑ์สารแทนนินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่า TBARs กลูตาไธโอน เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และเอนไซม์แคทาเลส ระหว่างกลุ่มทดลอง ระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดสในสุกรกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดหยาบจากกากชาที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

จากการศึกษาของจิติมนต์ และคณะ (2552) ได้ทำการเสริมกากชาเขียวในอาหารผสมรวมในโคนม พบว่าการเสริมกากชาเขียวที่ระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ ปริมาณน้ำนม และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แต่พบว่าโปรตีนในน้ำนมเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริมกากชาเขียวที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Kondo *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาอาหารแพะที่ใช้ข้าวโอ๊ตหมักร่วมกับกากชาเขียวที่ 0, 50 และ 200 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด และหมัก 50 วัน พบว่าหลังการหมักอาหารหมักมีค่า pH น้อยกว่า 4.13 และมีความเข้มข้นของกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนปริมาณการกินได้ไม่แตกต่างกัน และมีปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับต่อวันสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ปริมาณไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะมีความใกล้เคียงกันทุกกลุ่ม นอกจากนี้การทรีดกากชาเขียวที่ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ในกากถั่วเหลือง พบว่าไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการให้นมในช่วงปลายของการให้นม แต่อย่างไรก็ตามกากชาเขียวยังคงมีคุณค่าทางโภชนาไม่ว่าจะเป็นโปรตีน กรดอะมิโน ฟลาโวนอยด์ และวิตามิน จึงสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้โดยไม่ทำให้เกิดผลเสียหากใช้ในระดับที่เหมาะสม (Yamamoto *et al.*, 1997; Kondo *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2006)

อย่างไรก็ตามการศึกษการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ยังมีข้อมูลไม่มากนัก จากรายงานที่ผ่านมามากาไบชามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เช่น สารแทนนิน (tannin) และคาเทชิน (catechin) เป็นต้น ด้วยเหตุนี้การนำผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจึงอาจเป็นแนวทางในการลดต้นทุนและเพิ่มผลผลิตของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ อีกทั้งยังอาจสามารถช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดในช่วงเครียด โดยเฉพาะช่วงหลังคลอดหรือเลี้ยงลูก รวมถึงช่วยลดของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเครื่องดื่มน้ำซึ่งเป็นการรักษาสภาพแวดล้อมได้อีกด้วย การนำมาใช้ในรูปแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบ นอกจากจะสามารถลดปริมาณการให้กากชาแก่สัตว์โดยไม่รบกวนต่อระดับโภชนาอื่นๆของอาหารแล้ว ยังสามารถควบคุมปริมาณสารสำคัญให้คงที่ ซึ่งจะทำการตอบสนองของสัตว์มีความแน่นอนและแม่นยำยิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้ จึงมุ่งเน้นการวิจัยอิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาของกากถั่วเหลืองและสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินการวิจัยเพื่อให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ ได้แบ่งงานวิจัยออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้ คือ

การทดลองที่ 1 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊สของกากถั่วเหลืองที่ได้รับการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว โดยใช้วิธี *In vitro* gas production technique

สัตว์ทดลอง

ใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนเพศผู้ อายุประมาณ 8-9 ปี ที่ได้รับการเจาะกระเพาะรูเมน จำนวน 2 ตัว เลี้ยงในคอกเลี้ยงเดี่ยวขนาดกว้าง 2.5 เมตร ยาว 5 เมตร สูง 1.5 เมตร มีรางอาหารหยาบและอ่างน้ำด้านหน้าคอก มีหญ้าให้กินตลอดเวลา

สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวและกรดแทนนิก

สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ใช้ในการทดลอง มีความเข้มข้นของสารคาเทชิน และอนุพันธ์ทั้งหมดเท่ากับ 13.89 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และมีระดับคอนเดนซ์แทนนินเท่ากับ 1.61 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวจะถูกคั่งคาเฟอีนออก โดยมีขั้นตอนการผลิตคือนำกากชาเขียวจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มชา ไปสกัดด้วยการต้มในน้ำเดือด เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งภายใต้ความดันสุญญากาศจนได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น แล้วนำมาผสมกับ modified starch และทำให้แห้งโดยวิธี spray dry จนได้สารสกัดที่ผสม modified starch ส่วนสารสกัดเข้มข้นที่ยังเหลืออีก นำไปทำให้แห้งโดยวิธี spray dry เช่นเดียวกัน (นันทวัน และประพิณศร, 2550) ผลิตโดยบริษัท Thai-china flavours and fragrances industry Co., Ltd.

กรดแทนนิก (Tannic acid, ACS) มีสูตรโมเลกุล $C_{76}H_{52}O_{46}$ เป็นไฮโดรไลซ์แทนนินที่ได้จากธรรมชาติ ผลิตโดยบริษัท HiMedia laboratories Pvt. Ltd.

อาหารทดลอง

กากถั่วเหลืองถูกทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวและกรดแทนนิกที่ระดับต่างๆโดยใช้น้ำประมาณ 10 มิลลิลิตร วัตถุดิบทั้ง 2 ชนิดรวมตัวกัน จากนั้นคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปผึ่งในที่ร่มแห้ง ซึ่งวัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการศึกษา มีทั้งหมด 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยกรดแทนนิก 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 15 เปอร์เซ็นต์

แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยแบ่งสูตรอาหาร 5 สูตร แต่ละสูตรอาหารมีทั้งหมด 5 ซ้ำ

หน่วยทดลอง

ใช้ขวดวัคซีนขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุกากถั่วเหลืองบดที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวและกรดแทนนิก และเติมสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสม (rumen inoculums) 40 มิลลิลิตร เป็นหน่วยการทดลองสำหรับวัดปริมาณผลผลิตแก๊ส (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกน้ำหนักอาหารที่ใส่ในขวดวัคซีน
2. วัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นหลังการบ่มชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 18, 24 และ 48 นำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาหาค่าคงที่ a, b และ c โดยใช้โปรแกรม SAS 6.12 (1996) เพื่ออธิบายจลนศาสตร์ของการผลิตแก๊สตามแบบจำลองสมการของ Ørskov and McDonald (1982)

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิเคราะห์ค่าทางโภชนาของกากถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยกรดแทนนิก และกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ ด้วยวิธี proximate analysis ตามวิธีการ AOAC (1990)

2. วิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) จากตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการหมักย่อยในระบบ *In vitro* เมื่อวัดปริมาณก๊าซที่ 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมงหลังจากการบ่ม แล้วดูดสารละลายในขวดวัดขึ้น 10 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 2 มิลลิลิตร (เพื่อหยุดขบวนการหมักจุลินทรีย์ และตกตะกอนโปรตีน) และเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ ทศนีย์ และจรงค์ (2542)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดย Duncan's New Multiple Range Test โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ คือ

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากทรีตเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$ และ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากรทั้งหมด

τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทรีตเมนต์ที่ i เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

การทดลองที่ 2 ผลของอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว เป็นแหล่งโปรตีนหลักต่อค่าสมดุลไนโตรเจนของแกะรุ่น

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองใช้แกะเพศผู้ลูกผสมพื้นเมือง อายุ 1-1.5 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 15 กิโลกรัม จำนวน 9 ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยวขนาดกว้าง 0.5 เมตร ยาว 1.1 เมตร สูง 0.6 เมตร และคอกสูงจากพื้น 0.5 เมตร มีรางอาหารอยู่ด้านหน้า รวมถึงถังใส่น้ำ

อาหารทดลอง

กากถั่วเหลืองถูกทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว โดยการนำกากถั่วเหลืองมาผสมกับผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ จากนั้นใช้น้ำปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พ่นลงไปบนกากถั่วเหลืองที่เตรียมไว้คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปผึ่งในร่มที่มีอากาศถ่ายเทเป็นเวลา 2-3 วัน จนกว่าจะแห้ง ก่อนนำมาให้แกะทดลองกินโดยผสมร่วมกับวัตถุดิบอื่นดังแสดงในตารางที่ 4 อาหารที่ใช้เป็นอาหารผสมรวม (Total Mixed Ration) โดยใช้ต้นข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบหลัก มีกากถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก โดยใช้อัตราส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นเท่ากับ 60:40 ซึ่งอาหารทดลองที่แกะได้รับประกอบด้วย 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม, TMR1)

กลุ่มที่ 2 อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนประกอบ (TMR2)

กลุ่มที่ 3 อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนประกอบ (TMR3)

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารขึ้น

วัตถุดิบ (%)	สูตร1	สูตร2	สูตร3
มันสำปะหลัง	37.0	37.0	37.0
กากถั่วเหลือง	10.0	-	-
กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจาก	-	10.0	-
กากชาเขียว 5%	-	-	-
กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจาก	-	-	10.0
กากชาเขียว 10%	-	-	-
รำละเอียด	5.0	5.0	5.0
รำข้าวสาลี	15.0	15.0	15.0
กากมะพร้าว	12.1	12.1	12.1
กากปาล์มน้ำมัน	15.0	15.0	15.0
รำสกัดน้ำมัน	5.0	5.0	5.0
ไคแคลเซียม ฟอสเฟต	0.4	0.4	0.4
แร่ธาตุรวม	0.5	0.5	0.5
รวม	100.0	100.0	100.0

อุปกรณ์ทดสอบหาค่าสมรรถภาพของแคะรุ่น

1. เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลองขนาด 60 กิโลกรัม ชนิดแขวน และเครื่องชั่งน้ำหนักอาหาร

2. อุปกรณ์ในการเก็บมูลและปัสสาวะ ประกอบด้วยชุดเก็บมูลทำมาจากตะแกรงเหล็กซึ่งมีความถี่ของบนรางอะลูมิเนียมสำหรับรองเก็บปัสสาวะ ทำการวางไว้ใต้กรงเพื่อใช้แยกมูล และมีถึงพลาสติกเก็บรวบรวมปัสสาวะ ถังพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างมูล ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างปัสสาวะขนาด 120 มิลลิลิตร และตู้เย็นสำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง

3. อุปกรณ์การเจาะเลือดและสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen, BUN) ตามวิธีของ Tiffany *et al.* (1972) และกลูโคสในกระแสเลือด (blood glucose, BG) ตามวิธีของ Slein (1963)

แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยใช้แกะเพศผู้จำนวน 9 ตัว สุ่มออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 3 ตัว

การจัดการสัตว์ทดลอง

1. การจัดการอาหารแบ่งออกเป็น 3 ระยะ

ก. ระยะปรับอาหาร เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารทดลองโดยให้แกะกินอาหารทดลองร่วมกับข้าวโพดหมัก โดยวันแรกให้อาหารทดลองเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับอาหารเดิม แล้วค่อยๆ เพิ่มปริมาณอาหารทดลองขึ้นวันละ 10 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 100 เปอร์เซ็นต์

ข. ระยะเตรียมการทดลอง (preliminary period) ระยะที่ให้อาหารทดลองให้สัตว์กินอาหารอย่างเต็มที่ เพื่อให้แกะปรับตัวตามชนิดของอาหารเป็นเวลา 7 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่กินได้ในแต่ละวันเพื่อหาความสามารถในการกินได้ปริมาณอาหารต่ำสุดและสูงสุดที่สัตว์กินได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว

ค. ระยะเก็บข้อมูล โดยการเก็บปริมาณการจับถ่ายมูลและปัสสาวะในแต่ละวันของแกะเป็นเวลา 7 วัน

2. แกะได้รับอาหารแบบเต็มที่ (ad libitum) แบ่งออกเป็น 2 มื้อ คือ 8.00 น. และ 16.00 น. แกะทุกตัวสามารถดื่มน้ำสะอาดได้ตลอดเวลา

การบันทึกข้อมูล

1. การชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อนเริ่มการทดลอง จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยทำการชั่งในตอนเช้าก่อนการให้อาหาร เพื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว
2. ทำการชั่งและบันทึกอาหารที่เหลือจากการกินแต่ละวันของแกะแต่ละตัวทุกครั้งก่อนให้อาหารครั้งถัดไป เพื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณการกินได้ในหน่วยกรัมต่อวัน
3. สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาด้วยวิธี proximate analysis ตามวิธีการของ AOAC. (1990) และวิเคราะห์องค์ประกอบเซลล์พืชตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970)
4. เก็บมูล และปัสสาวะ ในตอนเช้าของทุกวัน ก่อนการให้อาหารครั้งต่อไป ชั่งน้ำหนักมูล และสุ่มเก็บตัวอย่างมูล เพื่อนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร และทำการวัดปริมาณปัสสาวะ รวมไปถึงสุ่มเก็บปัสสาวะของแกะแต่ละตัว เก็บไว้ในตู้เย็นทุกวันตลอดระยะเวลาการทดลอง เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจน

การคำนวณหาค่าสมดุลไนโตรเจน

ค่าสมดุลไนโตรเจนตามวิธีของ อังคณา และดวงสมร (2532) สูตรที่ใช้ในการคำนวณคือ สมดุลไนโตรเจน = ปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับ - ปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกในมูลและปัสสาวะ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลอง ตาม Duncan's New Multiple Range test และวิเคราะห์แนวโน้มค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์ โดยวิธี orthogonal polynomial โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ คือ

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากทริทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$ และ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากรทั้งหมด

τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทริทเมนต์ที่ i เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

การทดลองที่ 3 ผลของอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว เป็นแหล่งโปรตีนหลักต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของสารอนุมูลอิสระ(TBARS) กลูโคส และ ยูเรียไนโตรเจนในเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองใช้แกะเพศผู้ไม่ตอนลูกผสมพื้นเมือง อายุ 1-1.5 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 15 กิโลกรัม จำนวน 15 ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยวขนาด กว้าง 0.5 เมตร ยาว 1.1 เมตร สูง 0.6 เมตร และคอกสูงจากพื้น 0.5 เมตรมีรางอาหารอยู่ด้านหน้า รวมถึงถังใส่น้ำ

การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารผสมรวม (Total Mixed Ration) โดยใช้ต้นข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบหลัก มีกากถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก เตรียมกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวโดยนำกากถั่วเหลืองมาผสมกับผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ จากนั้นจะใช้น้ำปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พ่นลงไปในกากถั่วเหลืองที่เตรียมไว้คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปฟ้งในร่มที่มีอากาศถ่ายเทเป็นเวลา 2-3 วัน จนกว่าจะแห้ง ก่อนนำมาให้แกะทดลองโดยผสมร่วมกับวัตถุดิบอื่นดังแสดงในตารางที่ 4 อัตราส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นเท่ากับ 60:40 ซึ่งอาหารที่แกะได้รับทั้งหมด 3 กลุ่ม เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยใช้แกะเพศผู้จำนวน 15 ตัว สุ่มออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 5 ตัว

การจัดการสัตว์ทดลอง

1. การจัดการอาหารแบ่งออกเป็น 3 ระยะ

ก. ระยะปรับอาหาร เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารทดลองโดยให้แกะกินอาหารทดลองร่วมกับข้าวโพดหมัก โดยวันแรกให้อาหารทดลองเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับอาหารเดิม แล้วค่อยๆเพิ่มปริมาณอาหารทดลองขึ้นวันละ 10 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 100 เปอร์เซ็นต์

ข. ระยะเตรียมการทดลอง (preliminary period) ระยะที่ให้อาหารทดลองให้สัตว์กินอาหารอย่างเต็มที่ เพื่อให้แกะปรับตัวตามชนิดของอาหารเป็นเวลา 7 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่กินได้ในแต่ละวันเพื่อหาความสามารถในการกินได้ปริมาณอาหารต่ำสุดและสูงสุดที่สัตว์กินได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว

ค. ระยะทดลอง เก็บข้อมูลปริมาณการกินได้ตลอดการทดลองเป็นเวลา 2 เดือน

2. แกะได้รับอาหารแบบเต็มที่ (ad libitum) แบ่งออกเป็น 2 มื้อ คือ 8.00 น. และ 16.00 น. แกะทุกตัวสามารถดื่มน้ำสะอาดได้ตลอดเวลา

การบันทึกข้อมูล

1. การชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อนเริ่มการทดลอง จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยทำการชั่งในตอนเช้าก่อนการให้อาหาร เพื่าคำนวณการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

2. ทำการชั่งและบันทึกอาหารที่เหลือจากการกินแต่ละวันของแกะแต่ละตัวทุกครั้งก่อนให้อาหารครั้งถัดไป เพื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณการกินได้ในหน่วยกรัมต่อวัน

3. เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein) ของแกะแต่ละตัวในวันสุดท้ายของการทดลอง โดยเจาะที่เวลา 0, 2 และ 4 ภายหลังการให้อาหารในตอนเช้า ปริมาณ 3 มิลลิกรัมโดยใช้เข็มเบอร์ 18 ความยาว 1.5 นิ้ว และหลอดเก็บตัวอย่างที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดสำเร็จรูป เพื่อตรวจหาความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจน (blood urea nitrogen, BUN) ในกระแสเลือด กลูโคสในกระแสเลือด (blood glucose, BG) และวิเคราะห์หาค่าอนุมูลอิสระ เพื่อหาค่าการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในรูปของค่า TBARs

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. อาหารทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลอง เพื่อนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของโภชนะต่างๆ ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter), เถ้า (ash) และโปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ตามวิธีของ AOAC (1985) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อใย ได้แก่ เยื่อใยในรูปผนังเซลล์ (neutral-detergent fiber, NDF) และเยื่อใยในรูปลิกโนเซลลูโลส (acid-detergent fiber, ADF) ตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970)

2. นำเลือดมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อทำการวิเคราะห์หายูเรียไนโตรเจนในเลือด ตามวิธีการของ Helmut and Lapointe (1959) วิเคราะห์หากลูโคสในเลือด ตามวิธีของ Slein (1963) และวิเคราะห์หาค่าอนุมูลอิสระ เพื่อหาค่าการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในรูปของค่า TBARs ดัดแปลงจากวิธีของ Asakawa and Matsushita (1980) และ Uchiyama and Mihara (1978)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลอง ตาม Duncan's New Multiple Range test และวิเคราะห์แนวโน้มค่าเฉลี่ยที่พหุคูณด้วยวิธี orthogonal polynomial โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ คือ

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากทริทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$ และ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากรทั้งหมด

τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทริทเมนต์ที่ i เมื่อ $i = 1, 2, 3, \dots, n$

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

สถานที่และระยะเวลาการวิจัย

1. ศูนย์คั้นคว่ำและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาทกสิกิจเพื่อการคั้นคว่ำและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม สถาบันสุวรรณวาทกสิกิจเพื่อการคั้นคว่ำและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง: เดือนพฤษภาคม 2555

สิ้นสุดการทดลอง: เดือนสิงหาคม 2556

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาจนผลศาสตร์ของการผลิตแก๊สของกากถั่วเหลืองที่ได้รับการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว โดยใช้วิธี *In vitro* gas production technique

1. องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง

ผลการวิเคราะห์กากถั่วเหลืองทั้ง 5 กลุ่ม พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการที่ไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นค่าโปรตีนหยาบของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้รับการทรีต (กลุ่มการทดลองที่ 1) มีค่าโปรตีนหยาบ สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการทรีตเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 44.76, 44.45, 42.14, 41.09 และ 41.23 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวลงในกากถั่วเหลือง โดยค่าโปรตีนของกากถั่วเหลืองในแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าลดลงเล็กน้อยตามปริมาณการใช้ของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่เพิ่มขึ้น ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มรแป้งเป็นสื่อผสมเมื่อถูกนำมาผสมกับกากถั่วเหลืองจึงส่งผลให้องค์ประกอบโปรตีนของกากถั่วเหลืองลดลง

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะในกากถั่วเหลือง

องค์ประกอบทางเคมี (%วัตถุดิบแห้ง)	กลุ่ม1	กลุ่ม2	กลุ่ม3	กลุ่ม4	กลุ่ม5
โปรตีน	44.76	44.45	41.14	41.09	41.23
เถ้า	6.25	5.91	6.08	6.05	5.98
เยื่อใยในรูปผนังเซลล์	21.57	21.50	20.42	19.78	19.02
เยื่อใยในรูปลิกโนเซลลูโลส	10.38	10.34	10.45	10.58	10.61

หมายเหตุ กลุ่มที่ 1 = กากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยกรดแทนนิก 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 15 เปอร์เซ็นต์

2. จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส และค่าแอมโมเนีย ในโตรเจนของกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆ

2.1 จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส

ค่าจลนศาสตร์การผลิตแก๊สเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถในการย่อยสลายอาหารได้ของจุลินทรีย์ในแต่ละหน่วยการทดลอง ซึ่งประเมินได้จากสมการ $y = a + b [1 - \exp^{-ct}]$ ดังแสดงในตารางที่ 6 และภาพที่ 9 ผลการประเมินพบว่าค่าความสามารถในการย่อยสลายของค้ประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ (a) ซึ่งเป็นค่าปริมาณการผลิตแก๊ส ณ เวลาที่ 0 (จุดตัดแกน y) ค่าที่บ่งบอกถึงผลผลิตแก๊สส่วนที่ไม่ละลายน้ำแต่เป็นส่วนที่หมักย่อยได้ (b) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 111.31, 107.98, 113.12, 107.98 และ 102.64 มิลลิลิตร ตามลำดับ และค่าอัตราการผลิตแก๊สโดยเฉลี่ยตลอดเวลาการหมัก (c) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.040, 0.035, 0.042, 0.045 และ 0.044 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ส่วนปริมาณการผลิตแก๊สสะสมที่ชั่วโมงที่ 2 และ 4 หลังจากการบ่ม พบว่าไม่แตกต่างกันทุกกลุ่มการทดลอง ($P > 0.05$) ในขณะที่กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยกรดแทนนินระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณการผลิตแก๊สสะสมลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวทุกระดับ ที่ 8, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม อย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการบ่ม (48 ชั่วโมง) กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยกรดแทนนินระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณผลผลิตแก๊สใกล้เคียงกัน (80.38 และ 83.05 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 6 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่าง ๆ ต่อคุณลักษณะการผลิตแก๊ส ผลผลิตแก๊สสะสม และค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

	กลุ่มที่1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่3	กลุ่มที่4	กลุ่มที่5	SEM	P-value
คุณลักษณะการผลิตแก๊ส							
a, มิลลิลิตร	-4.51	-2.90	-5.21	-3.13	-3.67	1.46	0.11
b, มิลลิลิตร	111.31	107.98	113.12	107.98	102.64	7.12	0.21
c, มิลลิลิตรต่อ							
ชั่วโมง	0.040	0.035	0.042	0.045	0.044	0.01	0.16
a +b, มิลลิลิตร	115.82	110.88	118.33	110.37	106.31	8.26	0.20
ผลผลิตแก๊ส (มิลลิลิตรต่อ 0.5 กรัม วัตถุแห้งของวัตถุดิบ)							
ชั่วโมงที่ 2	3.70	4.02	3.84	4.68	4.57	1.06	0.59
ชั่วโมงที่ 4	12.10	9.34	10.46	13.57	11.79	3.85	0.55
ชั่วโมงที่ 8	22.96 ^a	16.58 ^b	23.18 ^a	25.91 ^a	22.26 ^a	3.09	<0.01
ชั่วโมงที่ 12	42.91 ^a	31.27 ^c	42.51 ^a	39.51 ^{ab}	38.05 ^b	3.19	<0.01
ชั่วโมงที่ 24	71.41 ^a	55.74 ^c	71.46 ^a	69.50 ^{ab}	65.01 ^b	3.42	<0.01
ชั่วโมงที่ 48	93.37 ^a	80.38 ^c	91.41 ^{ab}	89.23 ^b	83.05 ^c	2.15	<0.01
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)							
ชั่วโมงที่ 3	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.28
ชั่วโมงที่ 6	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.60
ชั่วโมงที่ 9	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.10

หมายเหตุ a = ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ละลายน้ำได้, b = ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ต้องใช้เวลาในการย่อยสลาย, c = ค่าอัตราการผลิตแก๊ส, |a|+b = ค่าศักยภาพในการผลิตแก๊ส
^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$)

SEM = standard error of mean

กลุ่มที่ 1 = กากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม)

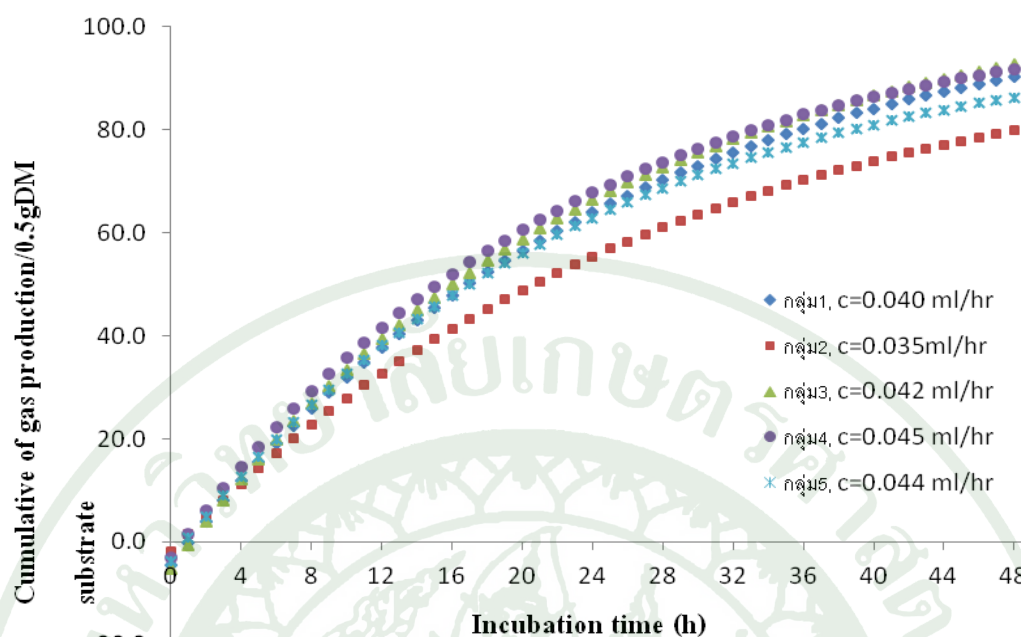
กลุ่มที่ 2 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยกรดแทนนิก 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 = กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 15 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณแก๊สสะสมที่ผลิตได้มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณการย่อยสลายได้ขององค์ประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ และที่ถูกหมักย่อยได้ (Sallam *et al.*, 2007) การที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแก๊สสะสมที่ผลิตได้สูงสุดเนื่องจากเป็นกลุ่มวัตถุดิบถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการทรีตด้วยวิธีใดๆ โดยทั่วไปกากถั่วเหลืองจะมีค่าการย่อยสลายได้ที่กระเพาะรูเมน (RDP) ก่อนข้างสูง คือมีค่าประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ (Stern *et al.*, 1985) แต่เมื่อผ่านกรรมวิธีการให้ความร้อนจะมีอัตราการย่อยสลายที่ลดลงเนื่องมาจากความร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยามอลดาร์ด (maillard reaction) (Broderick *et al.*, 1991) เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและแป้งที่ส่งผลกระทบต่อ การย่อยสลายในรูเมน ในการทดลองนี้การย่อยสลายของโปรตีนโดยการทรีตด้วยสารเคมีคือ ไฮโดรไลซ์แทนนินจากกรดแทนนิก (กลุ่ม 2) และคอนเดนซ์แทนนินจากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจาก กากชาเขียว (กลุ่ม 3, 4 และ 5) ทำให้เกิดการรวมตัวกันของแทนนินและโปรตีนที่จับกันด้วยพันธะ ไฮโดรเจน (H-bond) ระหว่างกลุ่ม phenolic ของแทนนินกับกลุ่ม ketoimide ของโปรตีน เกิดเป็น tannin-protein complex ขึ้น (Kumar and D'Mello, 1995) ผลการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับ การทดลองของ Hervas *et al.* (2000) ที่ทำการเสริมกรดแทนนิก ที่ระดับ 1, 5, 10, 15 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ลงในกากถั่วเหลืองให้แก่เพศเมียกิน พบว่าการเสริมกรดแทนนิกทุกระดับสามารถลด การสลายตัวของไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการเสริมที่ระดับ 10, 15 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ยังช่วยลดการย่อยสลายของวัตถุแห้งได้อีกด้วย เช่นเดียวกับ Frutos *et al.* (2004) และ Santos *et al.* (2000) ที่ทำการศึกษาผลการทรีตด้วยไฮโดรไลเซเบิลแทนนินต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมน พบว่ากลุ่มที่ทรีตด้วยไฮโดรไลเซเบิลแทนนินมีค่าประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนลดลง ซึ่งหมายความว่าโปรตีนจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป จะถูกย่อยสลายที่กระเพาะรูเมนได้น้อยลง ทำให้โปรตีนจากอาหารสามารถผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่างได้มากขึ้น ในขณะที่การใช้คอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์ในระดับที่ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหารในรูปวัตถุแห้งมีผลดีต่อระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายอันเป็นผลจากการลดลงของการถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน อย่างไรก็ตามเมื่อใช้สูงเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พบว่าการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนและระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายจะลดลง (Woodward *et al.*, 1999) หรือ คอนเดนซ์แทนนินที่สูงเกินกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ของอาหารในรูปวัตถุแห้ง จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Reed *et al.*, 1982; Barry and Manley, 1984)



ภาพที่ 9 ปริมาณแก๊สสะสมที่ผลิตได้ (มิลลิลิตรต่อ 0.5 กรัมวัตถุแห้งของตัวอย่างอาหาร) ที่ประเมินจากสมการ $y = a + b [1 - \text{Exp}^{-ct}]$

2.2 ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

จากการทดลอง กากถั่วเหลืองกลุ่มควบคุม (กลุ่ม 1) กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยกรดแทนนิก (กลุ่ม 2) และกากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับ 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่ม 3, 4 และ 5) พบว่า ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยช่วงเวลาที่ 3 หลังจากการบ่มมีค่าแต่ละกลุ่มเท่ากับ 0.02, 0.01, 0.02, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนช่วงเวลาที่ 6 หลังจากการบ่มมีค่าเท่ากับ 0.02, 0.01, 0.01, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไปในช่วงเวลาที่ 9 หลังจากการบ่ม พบว่าค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนมีค่าเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกกลุ่ม ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนเป็นผลจากการย่อยสลายวัตถุดิบโปรตีน มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ microbial protein ตลอดจนการได้รับโปรตีนของสัตว์กระเพาะรวม เนื่องจาก microbial protein เป็นโปรตีนคุณภาพดี มีสมดุลของกรดอะมิโนเหมาะสมกับสัตว์กระเพาะรวม โดยทั่วไปค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมน มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทและคุณสมบัติการถูกย่อยสลายของวัตถุดิบโปรตีนที่สัตว์ได้รับ รวมถึงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่สัตว์

ได้รับเพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการสังเคราะห์ microbial protein (บุญล้อม, 2546) สำหรับการทดลองนี้เนื่องจากเป็นกากถั่วเหลืองเหมือนกัน ซึ่งมีองค์ประกอบโปรตีนในระดับที่ไม่ต่างกันมากนัก ดังนั้นค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนซึ่งเป็นผลจากการย่อยสลายขององค์ประกอบโปรตีนอย่างเดียวจึงมีค่าใกล้เคียงกัน ต่างจากค่าการสะสมแก๊สที่เป็นผลจากการหมักย่อยขององค์ประกอบโดยรวมทั้งหมดของกากถั่วเหลือง

การทดลองที่ 2 ผลของอาหารที่มีกากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว เป็นแหล่งโปรตีนหลักต่อค่าสมดุลไนโตรเจนของแกะรุ่น

1. องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

อาหารทดลองเป็นอาหารผสมรวม (Total Mixed Ration, TMR) ที่ใช้ข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ ส่วนวัตถุดิบอื่นๆที่ใช้ในสูตรอาหารผสมรวมมีชนิดและปริมาณเท่ากัน ยกเว้นกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งของโปรตีนหลักในสูตรอาหาร โดยกลุ่มควบคุม (TMR1) ใช้กากถั่วเหลืองธรรมดา ส่วนกลุ่มที่ 2 (TMR2) และกลุ่มที่ 3 (TMR3) ใช้กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) พบว่าค่าเฉลี่ยของโปรตีนหยาบ มีค่าเท่ากับ 13.42, 13.11 และ 12.96 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบโปรตีนของอาหาร TMR1 มีค่ามากกว่า TMR2 และ TMR3 เล็กน้อย ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการใช้กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวลงในอาหาร ส่วนถั่วมีค่าเท่ากับ 5.51, 5.51 และ 5.49 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าเชื้อใยในรูปผนังเซลล์ มีค่าเท่ากับ 48.67, 48.55 และ 48.58 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ และค่าเชื้อใยในรูปลิกลินเซลลูโลส มีค่าเท่ากับ 22.42, 22.35 และ 22.31 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอาหารทดลองมีองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะในอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบ)	TMR1	TMR2	TMR3
โปรตีน	13.42	13.11	12.96
เถ้า	5.51	5.51	5.49
เยื่อใยในรูปผนังเซลล์	48.67	48.55	48.58
เยื่อใยในรูปลิกโนเซลลูโลส	22.42	22.35	22.31

หมายเหตุ TMR1 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม)

TMR2 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

TMR3 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

2. ค่าการสะสมไนโตรเจนในกระดูก

การศึกษานี้กระดูกได้รับอาหารผสมสำเร็จที่มีกากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก (ตารางที่ 8) พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับ มีค่าลดลงแบบเส้นตรง (linear) และเส้นโค้ง (quadratic) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าเท่ากับ 24.39, 23.60 และ 23.13 กรัมต่อวัน ตามลำดับ กลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่า TMR2 และ TMR3 อาจเป็นสาเหตุมาจากการกินได้ของวัตถุดิบที่สูงกว่ากลุ่มที่มีการรีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว ซึ่งอาจมีสาเหตุจากกลิ่นที่ผิดธรรมชาติ หรือรสชาติของอาหารที่เปลี่ยนแปลงอันเกิดจากการมีองค์ประกอบแทนนินที่เพิ่มขึ้น ทำให้กลุ่มที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวมีค่าการได้รับไนโตรเจนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ประกอบกับองค์ประกอบโปรตีนที่ลดลงของอาหาร TMR2 และ TMR3 ก็มีผลทำให้การได้รับไนโตรเจนของสัตว์ทดลองลดลงเช่นกัน นักวิจัยส่วนใหญ่เชื่อกันว่าการได้รับแทนนินทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลงแต่หากได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะไม่มีผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ โดยจากงานทดลองของ Barry and Duncan (1984); Barry and Manley (1984); Waghorn *et al.* (1994) พบว่าการใช้ปริมาณแทนนินที่สูง (มากกว่า 50 กรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ) มีผลทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลง แต่ถ้าใช้ในระดับกลางหรือต่ำ (น้อยกว่า 50 กรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ) จะไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ของสัตว์ และ McSweeney *et al.* (1999) รายงาน

ว่าแคะที่ได้รับไฮโดรไลเซเบิลแทนนินจาก *Terminalia oblongata* ในระดับ 34 กรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ของแคะ การที่แทนนินทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลงอาจจะเป็นผลมาจาก กลิ่นหรือรสชาติขององค์ประกอบแทนนินที่มีผลทำให้ความน่ากินของอาหารลดลง

ส่วนปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกทางมูล ปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกทางปัสสาวะ และปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียนในร่างกาย มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งค่าไนโตรเจนที่ขับออกทางมูล มีค่าเท่ากับ 4.53, 4.18 และ 3.36 กรัมต่อวัน ตามลำดับ และปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกทางปัสสาวะมีค่าเท่ากับ 2.69, 2.13 และ 2.30 กรัมต่อวัน ตามลำดับ จากตัวเลขแสดงให้เห็นว่าการขับออกของไนโตรเจนทางมูลและปัสสาวะมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อคำนวณการสะสมของไนโตรเจนในร่างกาย พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 70.40, 73.26 และ 75.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเป็นที่น่าสังเกตว่าเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่หมุนเวียนของแคะรุ่นที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองธรรมดามีค่าต่ำสุด และมีค่าตัวเลขที่สูงขึ้นตามระดับของการทรีดที่มากขึ้น โดยทั่วไปโปรตีนจากกากถั่วเหลืองถูกย่อยสลายในอัตราที่ค่อนข้างสูงโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ซึ่งอาจส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในอาหารลดลง กระทั่งต่อสมรรถภาพการผลิตในระยะยาวและในระยะที่สัตว์ให้ผลผลิตที่สูง การทรีดกากถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่าง ๆ จึงเป็นวิธีการเพื่อลดการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนและเพิ่มบายนพาสโปรตีนให้สัตว์นำไปใช้ได้โดยตรงเพียงพอต่อความต้องการเพื่อสร้างผลผลิต แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาให้ผลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของสัตว์ที่ใช้ทดลอง และประเภทของอาหารที่ใช้ โดยการศึกษาของ Woodward *et al.* (1999) รายงานว่าระดับการใช้คอนเดนซ์แทนนินในพืชอาหารสัตว์มีผลต่อระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายในโคนม ถ้าระดับที่ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหารในรูปวัตถุดิบจะให้ผลดี อันเป็นผลจากการลดลงของการถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน แต่อย่างไรก็ตามหากใช้สูงเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหารพบว่า การย่อยได้ในกระเพาะรูเมนและระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายจะลดลง ในขณะที่ผลการศึกษาถึงแม้ผลจะมีแนวโน้มค่าตัวเลขปริมาณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่หมุนเวียนที่ดีขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วน Dreidger and Hatfield (1972) ที่รายงานจากการศึกษาเปรียบเทียบระดับไนโตรเจนที่เก็บกักในร่างกาย (nitrogen retention) ของแคะที่ได้รับอาหารชั้นชนิดเม็ด (pelletized food) ที่มีกากถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองที่ทรีดด้วยแทนนิน 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระดับไนโตรเจนที่กักเก็บของแคะแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 8 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่างๆต่อความสมดุลไนโตรเจน (N-balance) ของแกะรุ่น

ปริมาณไนโตรเจน	TMR1	TMR2	TMR3	SEM	P-value	
					L	Q
ปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับ (กรัมต่อวัน)	24.39	23.60	23.13	0.22	0.01	0.01
ปริมาณไนโตรเจนในมูล (กรัมต่อวัน)	4.53	4.18	3.36	1.34	0.76	0.33
ปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะ (กรัมต่อวัน)	2.69	2.13	2.30	0.58	0.28	0.80
ปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียน (กรัมต่อวัน)	17.17	17.29	17.47	1.43	0.92	0.82
ปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียน (เปอร์เซ็นต์)	70.40	73.26	75.53	5.70	0.43	0.21

หมายเหตุ SEM = standard error of mean

L = linear, Q = quadratic

TMR1 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม)

TMR2 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

TMR3 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 ผลของอาหารที่มีกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวเป็นแหล่งโปรตีนหลักต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของสารอนุมูลอิสระ และสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น

1. ค่ายอนุมูลอิสระ (Thiobarbituric acid reactive substance , TBARs) ในเลือดแกะ

การวัดปริมาณสารมาลอนดีไฮด์ (malondialdehyde, MAD) เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิดะชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เป็นวิธีการหนึ่งในการวัดระดับการเกิด lipid peroxidation โดยการใช้กรดไทโอบาร์บิวิทริกทำปฏิกิริยากับสารมาลอนดีไฮด์ที่เกิดขึ้นได้เป็นสารที่เรียกว่า TBARs (thiobarbituric acid reactive substances) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า TBARs ที่วัดได้ จึงเป็นค่าประเมินความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทดสอบได้

สาร EGCG เป็นสารสำคัญในกลุ่มคาเทชินที่พบในชา (Yoneda *et al.*, 1995) สามารถช่วยต้านอนุมูลอิสระโดยทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชันซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งให้ไฮโดรเจนเพื่อรวมตัวกับอนุมูลอิสระส่งผลให้สารอนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้นและไม่เกิดปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ต่อไป (Heim *et al.*, 2002) สารกลุ่มคาเทชินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินซีและวิตามินอี 100 เท่า (Varilek *et al.*, 2001) จากผลการศึกษาในครั้งนี้การทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวทั้ง 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่า TBARs มีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันไม่แตกต่างกันมากนักในทุกระยะของการทดลอง (ตารางที่ 9) และเป็นค่าที่แสดงระดับการเกิด lipid peroxidation ในสภาวะปกติที่ไม่ก่อให้เกิดความเครียดได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Salar and Baghbanzadeh (2010) ที่เปรียบเทียบการเกิด oxidative stress ในแกะสุขภาพดีที่มีอายุแตกต่างกัน โดยวัดการเปลี่ยนแปลงค่า TBARs พบว่า ค่า TBARs ในแกะรุ่น (10-30 เดือน) มีค่าต่ำสุด และสูงสุดในแกะที่มีอายุมาก (71-90 เดือน) แสดงถึงระดับการเกิด oxidative stress ที่มีความสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้น โดยความสัมพันธ์นี้ยังต้องมีการศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติม ทั้งอายุที่แน่นอนที่สัมพันธ์ต่อ oxidative stress และกลไกการเกิดที่อาจมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย รวมถึงสภาพแวดล้อมของสัตว์ด้วย

ตารางที่ 9 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากใบชาที่ระดับต่างๆต่อค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ในเลือดแกะรุ่น

ค่าอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)	TMR1	TMR2	TMR3	SEM	P-value	
					L	Q
ก่อนการทดลอง	1.96	1.98	1.93	0.35	0.78	0.66
ระหว่างการทดลอง (20 วัน)	0.98	0.98	1.01	0.19	0.88	0.44
สิ้นสุดการทดลอง (60 วัน)	0.95	0.96	0.99	0.10	0.67	0.07

หมายเหตุ SEM = standard error of mean

L = orthogonal contrast linear, Q = orthogonal contrast quadratic

TMR1 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม)

TMR2 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

TMR3 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

2. ค่าชีวเคมีในเลือดของแกะ

2.1 กลูโคสในเลือด

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องกลูโคสจัดเป็นแหล่งพลังงาน โดยสัตว์ต้องการกลูโคสเพื่อใช้ในการดำรงชีพ ซึ่งปริมาณกลูโคสในกระแสเลือดสามารถบอกถึงการใช้ประโยชน์ของพลังงานในสูตรอาหาร (Blowey *et al.*, 1973) โดยทั่วไปสัตว์มีปริมาณกลูโคสในเลือดประมาณ 50 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ และมีความต้องการเพื่อดำรงชีพ 40-60 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เนื้อเยื่อทำงาน (เมธา, 2533) หากมีปริมาณต่ำกว่า 30 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จะบ่งบอกถึงการได้รับโภชนาที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ (O'Doherty and Crosby, 1998) จากการทดลองนี้แกะรุ่นได้รับอาหารผสมสำเร็จที่ใช้กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก พบว่า ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดทั้งก่อนให้อาหารและหลังการให้อาหาร (ชั่วโมงที่ 2 และ 4) มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) โดยก่อนการให้อาหารมีค่าเท่ากับ 53.60, 57.00 และ 53.60 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อวัดที่ 2 ชั่วโมง หลังจากการให้อาหาร ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดมีค่าเท่ากับ 50.00, 53.40 และ 52.40 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าเพิ่มขึ้นหลังการกินอาหารผ่านไป 4 ชั่วโมง คือ มีค่าเท่ากับ 59.00, 63.00 และ 63.60 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ซึ่งจากผลการทดลองนี้ปริมาณกลูโคสในกระแสเลือดอยู่ในระดับที่เหมาะสมที่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

2.2 ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด

ยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดเป็นค่าหนึ่งที่สามารถบ่งชี้ถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ มีความสัมพันธ์กับค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะรูเมน โดยแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ถูกจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนนำไปใช้ประโยชน์ได้ไม่หมด จะดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนเข้าสู่ระบบหมุนเวียนของเลือด จากการทดลองนี้แกะรุ่นได้รับอาหารผสมรวมที่ใช้กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก (ตารางที่ 10) ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดทั้งก่อนให้อาหารและหลังการให้อาหาร (ชั่วโมงที่ 2 และ 4) มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) โดยก่อนการให้อาหารมีค่าเท่ากับ 14.44, 13.33 และ 11.00 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อวัดที่ 2 ชั่วโมง หลังจากการให้อาหาร มีค่าเท่ากับ 13.67, 14.00 และ 12.33 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหารมีค่าเท่ากับ 13.00, 13.33 และ 14.00 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Lewis (1975) รายงานว่า ปริมาณยูเรียใน

เลือดของสัตว์กระเพาะรวม ปกติแล้วมีค่าประมาณ 5-25 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ ดังนั้นปริมาณของยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดจึงบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการถูกหมักย่อยของโปรตีนและสารประกอบ NPN ในอาหาร รวมถึงการสูญเสียโปรตีนจากกระเพาะหมักในรูปของยูเรีย จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ากากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด และยังมีค่าความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ปกติที่ไม่เป็นผลเสียต่อสุขภาพของตัวสัตว์

ตารางที่ 10 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาใบชาที่ระดับต่างๆต่อค่าชีวเคมีในเลือดของแกะรุ่น

ค่าเลือด	TMR1	TMR2	TMR3	SEM	P-value	
					L	Q
กลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)						
0 ชั่วโมง	53.60	57.00	53.60	3.82	0.25	0.45
2 ชั่วโมง	50.00	53.40	52.40	6.09	0.42	0.75
4 ชั่วโมง	59.00	63.00	63.60	6.69	0.36	0.49
ยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)						
0 ชั่วโมง	14.44	13.33	11.00	1.59	0.47	0.06
2 ชั่วโมง	13.67	14.00	12.33	1.49	0.79	0.20
4 ชั่วโมง	13.00	13.33	14.00	2.91	0.89	0.69

หมายเหตุ SEM = standard error of mean

L = orthogonal contrast linear, Q = orthogonal contrast quadratic

TMR1 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม)

TMR2 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

TMR3 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

3. ปริมาณการกินได้ และสมรรถภาพการผลิต

จากการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้วัตุแห้งมีค่าเฉลี่ยลดลงแตกต่างกันแบบเส้นโค้ง (quadratic) ส่งผลให้ค่าปริมาณโปรตีนที่สัตว์ทดลองได้รับมีค่าเฉลี่ยลดลงแตกต่างกันทั้งแบบเส้นตรง (linear) และเส้นโค้ง (quadratic) ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 11 โดยปริมาณการกินได้วัตุแห้งมีค่าเท่ากับ 695.81, 687.16 และ 679.92 กรัมต่อวัน และปริมาณโปรตีนที่ได้รับมีค่าเท่ากับ 93.29, 90.18 และ 88.11 กรัมต่อวัน สำหรับ TMR1 TMR2 และ TMR3 ตามลำดับ โดยทั่วไปแกะที่มีอายุประมาณ 1 ปี น้ำหนัก 20-30 กิโลกรัม จะมีปริมาณการกินได้วัตุแห้งอยู่ระหว่าง 400-1,200 กรัมต่อวัน และสามารถกินอาหารได้ถึง 6.5-11 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว สุติมนต์ และคณะ (2552) ค่าปริมาณการกินของโคในทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง เฉลี่ยประมาณ 690 กรัมต่อวัน ซึ่งเป็นผลจากคุณภาพอาหารหยาบที่ต่ำ และมีสัดส่วนที่ค่อนข้างสูงคือ 60 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยรวม กลุ่ม TMR2 และ กลุ่มTMR3 มีการกินได้ที่ลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ส่งผลให้ได้รับโปรตีนลดลงไปด้วย ทั้งนี้ปัจจัยคือองค์ประกอบโปรตีนในอาหารที่ลดลงตามระดับการทรียภาพถั่วเหลืองที่เป็นส่วนประกอบในอาหารด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว รวมถึงผลของแทนนินต่อความน่ากิน การย่อยได้ของโภชนาอาหารในกระเพาะรูเมน ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ และการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของแทนนินและโปรตีน หรือคาร์โบไฮเดรต รวมไปถึงคุณสมบัติของแทนนินที่เป็นสารอินทรีย์ที่จับกับแร่ธาตุบางตัวทำให้แร่ธาตุที่จำเป็นต่อจุลินทรีย์ลดลง ดังที่ได้อภิปรายไปแล้วในผลการทดลองที่ 2

ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร มีความสัมพันธ์กับปริมาณการหมุนเวียนไนโตรเจนในร่างกายดังที่แสดงในผลการทดลองที่ 2 กลุ่มควบคุมที่มีปริมาณการหมุนเวียนไนโตรเจนในร่างกายต่ำสุด ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร มีค่าตัวเลขต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ไปด้วย โดยอัตราการเจริญเติบโตมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 107.15, 110.71 และ 108.93 กรัมต่อวัน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร มีค่าเท่ากับ 6.52, 6.23 และ 6.30 สำหรับกลุ่มควบคุม กลุ่ม TMR 2 และกลุ่ม TMR 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 11 ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวที่ระดับต่าง ๆ ต่อปริมาณการกินได้ของแกะรุ่น

ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง	TMR1	TMR2	TMR3	SEM	P-value	
					L	Q
ปริมาณการกินได้ทั้งหมด						
(กรัมต่อวัน)	695.36	687.96	679.92	9.44	0.23	0.04
ปริมาณโปรตีนที่ได้รับ						
(กรัมต่อวัน)	93.29	90.18	88.11	1.23	0.01	0.01
อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน						
(กรัม)	107.15	110.72	108.93	9.45	0.60	0.99
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น						
น้ำหนักตัว	6.52	6.23	6.30	0.53	0.46	0.81

หมายเหตุ SEM = standard error of mean

L = orthogonal contrast linear, Q = orthogonal contrast quadratic

TMR1 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ (กลุ่มควบคุม)

TMR2 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์

TMR3 = อาหารผสมรวมที่มีกากถั่วเหลืองทรีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายสัตว์ขึ้นอยู่กับระดับพลังงาน และสัดส่วนของกรดอะมิโนที่ได้รับ หากสัตว์ได้รับกรดอะมิโนต่าง ๆ และพลังงานในสัดส่วนที่สมดุลแล้ว จะสามารถนำไปสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โปรตีนจากกากถั่วเหลืองปกติถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนได้ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำมาทรีดด้วยขบวนการต่าง ๆ จะสามารถลดการย่อยสลายในกระเพาะหมักลงได้ หากถั่วเหลืองมีโปรตีนที่ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนในอัตราที่สูงที่ทำให้สมดุลของกรดอะมิโนสูญเสียไปบางส่วน จะส่งผลต่อการใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนที่จำเป็นที่ร่างกายสัตว์ดูดซึมไปใช้ลดลงไปด้วย จากการศึกษาของการใช้ถั่วเหลืองในอาหารแกะขุน Dysli *et al.* (1976) พบว่า การทรีดถั่วเหลืองโดยการผ่านความร้อนให้

นานขึ้นมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับอัตราการเจริญเติบโตของลูกแกะขุน ($P < 0.05$) โดยการตอบสนองในทางบวกนี้ เนื่องจากแกะมีการใช้โปรตีนในถั่วเหลืองในรูปของโปรตีนไหลผ่านได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการเพิ่มโปรตีนไหลผ่านโดยการทรีตด้วยแทนนินจากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว ถึงแม้ไม่พบความแตกต่างของสมรรถภาพการผลิตของแกะทดลองในทุกพารามิเตอร์ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากระยะเวลาการทดลองที่สั้น (60 วัน) และการเพิ่มโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ในสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจะให้ผลชัดเจนเฉพาะในสัตว์ที่ให้ผลผลิตสูงหรืออยู่ในช่วงของสมดุลอาหารเป็นลบ เช่น โคนมให้นมสูงในช่วงแรกของการให้นม หลังคลอดเท่านั้น (Faldet *et al.*, 1991) แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ก็ยิ่งแสดงให้เห็นถึงสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาอิทธิพลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวต่อคุณค่าทางโภชนาของกากถั่วเหลืองและสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่นสรุปได้ว่าถึงแม้ว่ากากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว จะมีค่าการถูกย่อยสลายตลอดเวลาการบ่ม กับของเหลวจากกระเพาะรูเมน ที่ 48 ชั่วโมงลดลง อันแสดงถึงการมีคุณสมบัติถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนได้น้อยลงและกลายเป็นโปรตีนไหลผ่านที่ถูกย่อยและนำไปใช้ได้โดยตรงที่ลำไส้เล็ก ซึ่งมีความสำคัญสำหรับการนำไปใช้ในสัตว์เคี้ยวเอื้องก็ตาม แต่ผลของการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวทั้งระดับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าสมรรถภาพการผลิตต่างกันไม่มากนัก เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามผลการทดลองได้แสดงให้เห็นถึงทิศทางที่ดีขึ้นจากค่าปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียนในร่างกาย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่เนื่องจากประโยชน์ของการเพิ่มโปรตีนไหลผ่านในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีความสำคัญและแสดงผลชัดเจนในช่วงที่สัตว์มีสมดุลพลังงานเป็นลบ หรือในช่วงที่ทำให้ผลิตสูง ดังนั้นเพื่อให้เห็นการทดสอบที่อาจจะที่ชัดเจนขึ้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในสัตว์ที่ให้ผลิตสูงเช่น โคนมในช่วงหลังคลอด เนื่องจากแม่โคหลังคลอดมีการสร้างผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่การได้รับโภชนาในแต่ละวันไม่เพียงพอแก่ความต้องการ ทำให้เกิดภาวะสมดุลพลังงานเป็นลบ (negative energy balance) การเพิ่มบายพาสโปรตีนในอาหารโคนมจึงเป็นสิ่งสำคัญ และการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว ก็อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เป็นไปได้ในการแก้ไขปัญหาด้านอาหารในช่วงนี้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2550. **สัดส่วนของโปรตีน**. ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา. แหล่งที่มา:

http://www.dld.go.th/ncna_nak/indek/report.html, 15 พฤษภาคม 2557.

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. 2552. **การผลิตชาเขียวและชาอูหลงแบบซองในจังหวัดเชียงราย**.

ส่วนบริหารจัดการข้อมูลและปรึกษาแนะนำ. สำนักบริหารยุทธศาสตร์.

ขุนพล พงษ์มณี อรประพันธ์ สงทริต และวรรณิ ชิวปริษา. 2552. **การใช้สารสกัดหยาบจากกากชาใน**

สุกรขุน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).

กรุงเทพฯ.

จิตตินันต์ ชีวะภักดีสินนท์ สมชาติ จันทร์ผ่องแสง ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร และศักดิ์ชัย โดภาณุรักษ์. 2552.

ผลของการใช้กากชาเขียวในอาหารผสมรวมต่อลักษณะการผลิตของโคนมพันธุ์ผสม.

ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ณัฐชนก อมรเทวภัทร. 2548. **เอกสารประกอบการสอนวิชา เทคโนโลยีการผลิตอาหารสัตว์**.

โครงการจัดตั้งภาควิชาเทคโนโลยีทางกระบวนการทางเคมีและฟิสิกส์ คณะอุตสาหกรรม
การเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และ จงรักย์ จันทร์เจริญสุข. 2542. **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน**

และพืช. พิมพ์ครั้งที่ 7. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

กรุงเทพฯ.

นันทวัน บุญยะประภัศร และประพิณศรา สอนเล็ก. 2550. **การเตรียมสารสกัดน้ำจากกากชา และ**

ผลิตภัณฑ์ทรีตอาหารสัตว์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการ

วิจัย, กรุงเทพฯ.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่.

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2542. **พื้นฐานสัตวศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่.

ปรียนันท์ บัวสด. 2549. **การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ของเครื่องดื่มชาโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี**. สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พนม วิญญายอง. 2550. **ชาเขียวราย: รูปแบบการผลิตสู่ประโยชน์ทางด้านสุขภาพ และการป้องกันโรค**. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงใหม่.

ไพโรจน์ พงศ์ศุภสมิทธิ. 2532. **เทคโนโลยีการผลิตชา เล่ม 1**. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, กรุงเทพฯ. อ้างถึง สันต์ ละอองศรี. 2535. **ชา**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ภมร ปันมาเรือง. 2546. **วิธีการย่อยสลายโปรตีนของกากตัวเหลืองในกระเพาะรูเมนและผลต่อการผลิตน้ำนม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เมธา วรรณพัฒน์. 2533. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. สำนักพิมพ์ฟีนีქซ์ลิขชิง จำกัด, กรุงเทพฯ.

รัตนภรณ์ ศิริวงษ์. 2552. **การแยกสลายกากใบชาด้วยความร้อน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2544. **วิศวกรรมอาหาร: หน่วยปฏิบัติการในอุตสาหกรรม**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ. 2538. **เอกสารประกอบการสอนโภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. นครราชสีมา: สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สาโรช คำเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. โรงพิมพ์คลังนันทธรรมวิทยา, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สุภาภรณ์ โฉมนนุรักษ์. 2552. การที่ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวในอาหารไก่ไข่.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรพิน โทนเคี้ยว. 2550. การบำบัดสังกะสีและทองแดงในน้ำเสียจากโรงงานผลิตโลหะโดยใช้กากชา.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อังคณา หาญบรรจง และดวงสมร สีนเจิมสิริ. 2532. การวิเคราะห์และประเมินคุณภาพอาหารสัตว์.
ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัย กันโร. 2529. อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยง
สุกรแห่งชาติ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Aldrich, C.G. and N.R. Merchen. 1995. Heat treatment of whole soybeans: influence on
protein digestion by ruminant. **J. Anim. Sci.** 73:95

Amos H.E., A.R.S., Southern and T.L. Huber. 1974. Effect of formaldehyde treatment of
sunflower and soybean meal on nitrogen balance in lambes. **J. Anim. Sci.** 38:702-707.

AOAC. 1990. Officials Methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists.
Washington, D.C.

Asakawa, T. and S. Matsushita. 1980. Coloring condition of thiobarbituric acid test for
detecting lipid hydroxide. **Lipid** 15: 137-140.

Balentine, D.A., Wiseman and L.C. Bouwens. 1997. The chemistry of tea flavonoids. **Crit.
Rev. Food Sci. Nutr.** 37: 693-704.

Barry T.N. and S.J. Duncan, 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus
pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. Brit **J. Nutr.** 51: 485- 491.

- Barry, T.N. and T.R. Manley. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of 102 *Lotus pedunculatus* for sheep 2. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. **Br. J. Nutr.** 51: 493-504.
- Bhimani, R.S., W. Troll , Gruberger, D. and K. Frenkel. 1993. Inhibition of oxidative stress In HeLa-cells by chemopreventive agents. **Cancer Res.** 53: 4528-4533.
- Blazovics, A., A., Lugasi, T. Kemeny, K. Hagymasi and A. Kery. 2000. Membrane stabilizing effects of natural polyphenols and flavonoids from *sempervivum tectorum* on hepatic microsomal. **J. Ethnopharmacology.** 73(3): 479-485.
- Blowey, R.W., D.W. Wood and J.R. Davies. 1973. A national monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. **Veterinary Record** 92:691-696.
- Bradfield, A.E., Penny, M. and Wright, W.B. 1947. The catechins of green tea Part I. **J. Chem. Soc.:** 32
- Broderick, G. A., R. J. Wallace and E. R. Ørskov. 1991. Control of Rate and Extent of Protein Degradation. *In Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminant*, Inc, San Diego, California, U.S.A..
- Brune, M., L. Rossander and L. Hallberg. 1989. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. **Eur. J. Clin. Nutr.** 43 (8): 547-557.
- Chalupa, W. 1974. Rumen bypass and protection of protein and amino acid. **J. Dairy Sci.** 58(8):1198-1212.
- Chen, C.N., C.M. Liang, J.R. Lai, Y.J. Tsai, J.S. Tsay and J.K. Lin. 2003. Capillary electrophoretic determination of theanine, caffeine and catechins in fresh tea leaves and oolong tea and their effects on rat neurosphere adhesion and migration. **J. Agr. Food Chem.** 51: 7495-7503.

- Chen, C.W. and C.T. Ho. 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. **J. Food Lipids**. 2: 35-46.
- Chopra, D. and S. David. 2000. **The Chopra Centre Herbal Handbook**. Three Rivers Press, New York.
- Chunjian, L. and K. Limin. 1997. **Heat-treated soybeans and soybean meal in ruminant nutrition**. American Soybean Association.
- Das, D.N. 1962. Studies on the antibiotic activity of tea. **J. Ind. Chem. Soc.** 39: 849-854.
- Deacon, M.A., G. De Boer and J.J. Kennelly. 1988. Influence of Jet-sploding and extrusion on ruminal and intestinal disappearance of canola and soybean. **J. Dairy Sci.** 71:745.
- De Schutter, A.C. and J.R. Morris. 1990. **Soybean:full-fat**. Pp. 439-452. In P.A. Thacker and R.N. Kirkwood, eds. *Nontraditional Feed Sources for Use in Swine Production*. Butterworth Publ.M.A., U.S.A.
- Driedger, A., and E.E. Hatfield. 1972. Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. **J. Anim. Sci.** 34: 465-468.
- Dysli, R.R., C.B. Ammerman, P.E. Loggins, J.E. Moore and C.R. Arrington. 1976. Effect of steam heating upon the nutritive value of full fat soybean for sheep and rat. **J. Anim. Sci.** 26: 618-623.
- Faldet, M.A. V.L. Vass, G.A. Broderick and L.d. Satter. 1991. Chemical *in vitro* and *in situ* evaluation of heat-treated soybean protein. **J. Dairy Sci.** 74:2548.
- Frutos, P., M. Raso, G. Hervás, A.R. Mantecón, V. Pérez and F.G. Giráldez. 2004. Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs. **Anim. Res.** 53: 127-136.

- Getachew, G.W., G. Pittroff, D.H. Putnam, A. Dandekar, S. Goyal and E.J. Depeters. 2008. The influence of addition of gallic acid, tannic acid, or quebracho tannin to alfalfa hay on *in vitro* rumen fermentation and microbial protein synthesis. **Anim. Feed Sci. Technol.** 14: 444-461.
- Goelema, J. O., G. Hof, A. F. B. Van Der Poel and S. Tamminga. 1997. Effect of Particle Size, Cold Pelleting, Steam Pelleting and Expander Treatment on the Rumen Degradability of a Compound Feed for Ruminant. **J. Dairy Sci.** 79:142.
- Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. **Forage fibre analysis**. USDA, Agric. Handbook. pp.379
- Goto, T., Y. Yoshida, I. Amano and H. Horie. 1996. Chemical composition of commercially available Japanese green tea. **Food Ingred. J. Jpn.** 170: 46-51.
- Gramza, A. and J. Korczak. 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. **Trends Food Sci. Tech.** 16: 351-358.
- Grummer, R.R. and J.H. Clark. 1982. Effect of dietary nitrogen solubility on lactation performance and protein and dry matter degradation in situ. **J. Dairy Sci.** 65: 14321-1444.
- Hamilton, J.M. and J.M. Miller. 1995. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). **Antimicrob Agents Chemother.** 39(11): 2375-2377.
- Haslam, E. 1966. **Chemistry of Vegetable Tannins**. UK: Academic Press Inc. (London) Ltd.
- Heim, K. E., A. R. Tagliaferro and D. J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J. Nutr. Biochem.** 13: 572-584.

- Hervas G., P. Frutos, E. Serrano, A.R. Mantecon and F.J. Giraldez. 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soybean meal in shepp. **J. Agric Sci.** 135:305-310.
- Ishihara, N. and C. Chu. 2001. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. **Livest. Prod. Sci.** 68 (3): 217-229.
- Jean, B. 1995. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. Intercept Ltd., Hampshire.
- Johnson, M.K. and G. Loo. 2000. Effects of epigallocatechin gallate and quercetin on oxidative damage to cellular DNA. **Mutat. Res.** 459: 211-218
- Juskiewicz, J., Z. Zdunczyk, A. Jurgonski, L. Brzuzan, I. Godycka-Klos and E. Zary-Sikorska. 2008. Extract of green tea leaves partially attenuates streptozotocin-induced changes in antioxidant status and gastrointestinal functioning in rats. **Nutr. Res.** 28: 343-349.
- Kawamura, J. and T. Takeo. 1989. Antibacterial activity of tea catechin to *Streptococcus mutans*. **J. Jpn. Soc. Food Sci. Tech.** 36: 463-467.
- Khan N. and H. Mukhtar. 2007. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*.
- Ko, S.Y., I. H. Bae, S.T. Yee, S.S. Lee, D. Uuganbayar and J.I. Oh. 2008. Comparison of the effect of green tea by-product and green tea probiotics on the growth performance, meat quality and immune response of finishing pigs. Available Source: [http://findarticles.com\[p/articles/mi_6917/is_/ai_n29464665?tag=artBody;coll1\]](http://findarticles.com[p/articles/mi_6917/is_/ai_n29464665?tag=artBody;coll1]), January 4, 2009.
- Kondo, M., K. Kita and H. Yokota. 2004. Feeding value to goats of whole-crop oat ensiled with green tea waste. **Anim. Feed Sci. Tech.** 113: 71-81.

Kumar, R. and J. P. F. D'Mello. 1995. Anti-Nutritional Factors in Forage Legumes, pp. 95–133.

In Tropical Legumes in Animal Nutrition. (eds. J. P. F. D'Mello and C. Devendra),
Cab International, UK.

Leinmuller, E., H. Steingass and K.H. Menke. 1991. Tannins in ruminant feedstuffs in animal research and development. Numerous Members of German Universities and Research by Institutions for Scientific Co-operation. 321: 1-56.

Lew. 1975. **Adverbs of quantification.** In Edward L. Keenan(ed), **Formal Semantics of Natural Language.** Cambridge University Press.

Maiga, H.A., D.J. Schingoethe, F.C. Ludens, W.L. Tucker and D.P. Casper. 1994. Response of calves to diet that varied in amounts of ruminally degradable carbohydrate and protein. **J. Dairy. Sci.** 77:278-283.

Mbata, T. I. 2007. Preliminary studies of antibacterial activities of processed Kenyan and Nigerian tea. **Afr. J. Biot.** 6(3): 278-279.

McDowell, L. R. 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition. **J. Anim. Sci.** 75: 139-145.

McLeod, M.N. 1974. Plant-tannins. Theirs Role in Forage Quality. **Nutr. Abstr. Rev.** 11:803-815.

McSweeney, C.S., B. Palmer, R. Bunch, and D.O. Krause. 1999. *In vitro* quality assessment of tannin-containing tropical shrub legumes: protein and fibre digestion. **Anim. Feed Sci. Technol.** 82: 227-241.

Ninomiya, M., L. Unten and M. Kim. 1997. Chemical and physiochemical properties of green tea polyphenols, pp. 23-35. *In* T. Yamamoto, L. R. Juneja, D. C. Chu and K. Mujo, eds.
Chemistry and Applications of Green Tea. CRC Press, New York.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. USA: Nat. Acad. Press. Washington.

D.C.408 p.

O'Connell, J.E. 2000. **Food Chemistry**. University College, Cork, Ireland: Product Technology Department, NIZO Food Research.

O'Doherty, J.V. and T.F. Crosby. 1998. Blood metabolite concentration in late pregnant ewes as indicator of nutritional status. **J. Anim. Sci.** 66:675-683.

Ørskov, E.R., and I. McDonald. 1982. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **J. Agric. Sci.** 92: 99.

Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. **J. Natural Products** 63: 1035-1042.

Reed, J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J. Anim. Sci.** 73: 1516-1528.

Ryu, E., D.C. Blenden and D. Wendall. 1982. The inhibition of growth of selected bacteria by incorporating powdered tea in the medium. **Int. J. Zoonos.** 9: 73-76.

Salar, J. and A. Baghbanzadeh. 2010. Oxidative stress in shaal sheep of different age groups. **J. Vet. Anim. Sci.** 34: 379-383.

Sanderson, G.W. 1972. The chemistry of tea and tea manufacturing, pp. 247-316.

In V.C. Runeckles, ed. **Structural and Functional Aspects of Phytochemistry**. Academic Press, New York.

Santos, G.T., R.L. Oliveira, H.V. Petit, U. Cecato, L.M. Zeoula, , L.P. Rigolon, J.C. Damasceno, A.F. Branco and V. Bett. 2000. Short communication: Effect of tannic acid on composition and ruminal degradability of Bermuda grass and alfalfa silages. **J. Dairy Sci.** 83: 2016-2020.

Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry** 30: 3875-3883.

Schroeder, G.F. and G.A. Gagliostro. 2000. Fishmeal supplementation to grazing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**. 83 : 2899-2906.

Schwab, E.C., R.D. Shaver, K.J. Shinnars, J.G. Lauer, and J.G. Coors. 2002. Processing and chop length effect in brown-midrib corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **J. Dairy Sci.** 85:613.

Slein, M.W. 1963. **Methods of Enzymatic Analysis**. Academic Press, New York.

Smith, B. and B. Swain. 1962. Flavonoid compounds, pp 75-809. *In* M. Florkin and H. S. Mason, eds. **Comparative Biochemistry**. Academic Press, New York.

Stern M.D., K.A. Santos and L.D. Satter. 1985. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in the intestine of lactating dairy cattle fed heat-treat whole soybeans. **J. Dairy Sci.** 68:45-56.

Tang, S.Z., J. P. Kerry, D. Sheehan and D. J. Buckley. 2002. Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. **Food Chem.** 76(1): 45-51.

Tiffany, T.O., J.M. Jansen, C.A. Burtis, J.B. Overton and C.D. Scott. 1972. Enzymatic kinetic rate and end point analyses of substrate by the use of a GeMSAEC fast analyser. **Clinical Chemistry**. 18: 829-840.

Toda, M., S. Okubo, R. Hiyoshi and T. Shimamura. 1989. The bactericidal activity of tea and coffee. **Lett. Appl. Microbiol.** 8: 123-125.

- Trompezinski, S., A. Denis, D. Schmitt and J. Viac. 2003. Comparative effects of polyphenols from green tea (EGCG) and soybean (genistein) on VEGF and IL-8 release from normal human keratinocytes stimulated with the proinflammatory cytokine TNF- α . **Arch.Dermatol. Res.** 295: 112-116.
- Uchiyama, M. and M. Mihara. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.** 86: 271-278.
- Van Soest. 1994. **Nutritional Ecology of Ruminant**. 2nd Ed. Comstock Publishing Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Varilek, G.W., F. Yang, E.Y. Lee, W.J. S. Villiers, J. Zhong, H.S. Oz, K.F. Westberry and C.J. McClain. 2001. Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice a model of autoimmunity. **J. Nutr.** 131: 2034-2039.
- Waghorn, G.C., I.D. Shelton, W.C. McNabb and S.N. McCutcheon. 1994. Effects of condensed tannin *Lotus Pedunculatus* on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **J. Agric. Sci. (Cambridge)** 123: 109-119.
- Wang, Y. T. A. McAllister, M. D. Pickard, Z. Xu, L. M. Rode and K. J. Cheng. 1999. Effect of Micronizing Full Fat Canola Seed on Amino Acid Disappearance in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** 82: 537-544.
- Wang, H., G.J. Provan and K. Helliwell. 2000. Tea flavonoids, their functions, utilization and analysis. **Trends Food Sci. Tech.** 11: 152-160.
- Winowiski, T.S. and M.D. Stern. 1988. Identification of process factor affecting degradability of liginosulfofinate-treat soybeans meal by rumen microbes. **J. Anim. Sci.** 65:468.

- Woodward, S. L., M.J. Auldist, P.J. Laboyrie, E.B.L. Janse and D. Cottle. 1999. Effect of *Lotus corniculatus* and condensed tannins on milk yield and milk composition of dairy cows. **Proc. NZ. Soc. Anim. Prod.** 13: 152-155.
- Xu, C., Y. Cai, M. Murai and M. Ogawa. 2006. Nutritive value for ruminants of green tea grounds as a replacement of brewers grains in totally mixed ration silage. **Anim. Feed Sci. Tech.** 138: 228-238.
- Yamamoto, T., L. R. Juneja, D. C. Chu and M. Kim. 1997. Chemistry and applications of green tea, CRC press. Florida, USA. 186 p.
- Yang, C.J., I.Y. Yang, D.H. Oh, I.H. Bae, S.G. Cho and I.G. Kong. 2003. Effect of green tea by-product on performance and body composition in broiler chicks. Available Source: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=15029477>, December 11, 2008.
- Yochino, K., Y. Hara, M. Sano and I. Tomita. 1994. Antioxidative effects of black tea theaflavins and thearubigin on lipid peroxidation of rat liver homogenates induced by tert-butyl hydroperoxide. **Biol. Pharm. Bull.** 17:146-149.
- Yoneda, T., M. Hiramatsu, M. Sakamoto, K. Togasaki, M. Komatsu and K. Yamakuchi. 1995. Antioxidant effects of “beta-catechin” **Biochem. Mol. Biol. Int.** 35 (5): 995-1008.





ภาคผนวก ก

วิธีการประเมินจลนพลศาสตร์การย่อยสลายของอาหาร โดยวิธี *In vitro* gas production technique

วิธีการประเมินจลนพลศาสตร์การย่อยสลายของอาหาร โดยวิธี *In vitro* gas production technique

วิธีวัดปริมาณ ก๊าซที่เกิดขึ้น (Gas production method) (Menke *et al.*, 1979) อาศัยหลักการที่ว่า การหมักอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะส่วนหน้าจะทำให้เกิดก๊าซขึ้น ซึ่งจะมีปริมาณมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับอัตราการย่อยได้ของอาหารนั้น ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น สามารถนำมาทำนายการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ เพราะปริมาณก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ ที่ผลิตขึ้นจากการบ่มตัวอย่างอาหารกับของเหลวจากกระเพาะหมัก (Rumen liquor) ที่ผสมสารละลายบัฟเฟอร์และแร่ธาตุ และปรับให้มีสภาพต่างๆที่เหมาะสม คือ ไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. สารเคมีและการเตรียม

- น้ำกลั่น 1095 มิลลิลิตร
- สารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer solution) 730 มิลลิลิตร เตรียมจาก
 - โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NaHCO_3) 35.0 กรัม
 - แอมโมเนียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NH_4HCO_3) 4.0 กรัม
 - ทำละลายและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายแร่ธาตุอาหารหลัก (Macro mineral solution) 365 มิลลิลิตร เตรียมจาก
 - โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 6.2 กรัม
 - ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 5.7 กรัม
 - โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 2.22 กรัม
 - แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.6 กรัม
 - ทำละลายและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายแร่ธาตุอาหารรอง (Micro mineral solution) 0.23 มิลลิลิตร เตรียมจาก
 - แมกนีเซียไดคลอไรด์ ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 10.0 กรัม
 - แคลเซียมไดคลอไรด์ ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 13.2 กรัม
 - โคบอลต์ไดคลอไรด์ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.5 กรัม

เฟอร์รัสไตรคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.8 กรัม

ทำละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายรีซาซูริน (Resazurine solution) 1.0 มิลลิลิตร เตรียมจาก
รีซาซูริน 0.1 กรัม

ทำละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายที่ใช้ลดออกซิเจน (Reduction solution) 60.0 มิลลิลิตร ต้องเตรียมใหม่
ทุกครั้งที่ทำ เตรียมจาก

ไดโซเดียมซัลไฟด์ ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 58.0 มิลลิกรัม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 M 60.0 มิลลิลิตร

- ของเหลวจากกระเพาะหมัก (Rumen fluid) 600.0 มิลลิลิตร

2. อุปกรณ์

- เครื่องชั่งไฟฟ้า
- ถังบรรจุ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- สายยางนำก๊าซ และอุปกรณ์แยกทางก๊าซ
- ขวดรูปชมพู่ที่มีท่อดูด ขนาด 2 ลิตร พร้อมจุกยางที่มีท่อก๊าซ แยก
- กระจกน้ำร้อน (Thermos) ขนาด 2 ลิตร
- กรวยกรอง
- ผ้าขาวบางสำหรับกรอง
- กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
- ปิเปต (Pipet) ขนาด 0.5, 1.0 และ 5.0 มิลลิลิตร
- เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot plate stirrer)
- กระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 40 มิลลิลิตร (สำหรับถ่ายเทของเหลว)
- กระบอกฉีดยาแก้ว ขนาด 20 มิลลิลิตร (สำหรับวัดปริมาณก๊าซ)
- เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ยาว 1 นิ้ว (สำหรับถ่ายเทของเหลว)
- เข็มฉีดยาเบอร์ 24 ยาว 1 นิ้ว (สำหรับวัดปริมาณก๊าซ)
- ขวดวัคซีน ขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมจุกยางและฝาครอบอลูมิเนียม
- ตู้อบ (Hot air oven)

วิธีการ

การเตรียมสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสม (rumen inoculum) ใช้ของเหลวในกระเพาะรูเมนจากโคนมเพศผู้ ผสมกับสารละลาย ตามวิธีการของ Menke *et al.* (1997)

1. การเตรียมหน่วยการย่อย (Digestion unit)

นำตัวอย่างกากถั่วเหลืองที่บดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร มาทรีตด้วย Tannic acid 10 เปอร์เซ็นต์ ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยละลาย Tannic acid หรือ ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว ด้วยน้ำ แล้วคลุกเคล้ากับกากถั่วเหลืองทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงในตู้บ่มที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการบรรจุตัวอย่าง 0.5 กรัม ลงในขวดวัดชี้นขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมทั้งปิดจุกยางและฝาคอรอบอุมิเนียมให้สนิท แล้วนำเข้าบ่มรักษาอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส รอการบรรจุของเหลวจากกระเพาะหมัก

2. การเตรียมของเหลวจากกระเพาะหมักผสม (Rumen mixed inoculum)

2.1. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์และแร่ธาตุอาหาร นำส่วนผสมสารละลายบัฟเฟอร์และแร่ธาตุที่เตรียมไว้ล่วงหน้าบรรจุลงในขวดชมพูโดยปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในสารละลาย (flushing) เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนออกตลอดเวลา (ทำการเติมสารละลายที่ใช้ในการไล่ออกซิเจนประมาณ 1 ชั่วโมง ก่อนการเติมของเหลวจากกระเพาะหมัก สังเกตสถานะไร้ออกซิเจนจากการเปลี่ยนสีของริชาซูรินในสารละลายจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพูอ่อน และเป็นสารละลายใสไม่มีสี) พร้อมทั้งรักษาอุณหภูมิที่ 39 องศาเซลเซียส บนเครื่องกวนสารให้ความร้อน ในระหว่างรอการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก จากตัวสัตว์มาผสมในขั้นตอนต่อไป

2.2 การเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) เก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) จากโคนมเพศผู้ที่เจาะกระเพาะ กรองผ่านผ้าขาวบาง เทใส่ลงในกระติกน้ำร้อน แล้วนำของเหลวที่ได้ไปย้งห้องปฏิบัติการทันที จากนั้นทำการตวงปริมาณที่ต้องใช้ ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์และแร่ธาตุที่เตรียมไว้ล่วงหน้า แล้วทำการถ่ายเทลงในขวดรูปชมพู่

3. การบรรจุสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสมและการบ่ม

ทำการบรรจุสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสมภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนในขวดที่บรรจุวัตถุดิบอาหารทดลองไว้เรียบร้อยแล้ว ปริมาตรขวดละ 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการวัดปริมาณแก๊สต่อไป

4. การวัดปริมาตรผลผลิตก๊าซ

ทำการวัดปริมาตรผลผลิตก๊าซโดยใช้กระบอกณิद्याแก้วที่ต่ออยู่กับสายยางและเข็มณิद्याที่วางอยู่ที่วางอยู่ในระนาบ แขนงเข็มผ่านทางจุกยางปล่อยให้ก๊าซที่ถูกผลิตขึ้นในหน่วยย่อยดันกระบอกณิद्याให้เคลื่อนที่แล้วรอนจนหยุดนิ่ง ทำการจดบันทึกปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้น

การคำนวณค่าจลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส (kinetics of gas production)

เก็บผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ ชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 36 และ 48 นำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาหาค่าคงที่ a, b และ c ตามลำดับโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป fit curve เพื่อทำนายจลศาสตร์ของการผลิตแก๊สตามโมเดลหรือแบบจำลองสมการของ Ørskov and McDonald (1979) ดังนี้

$$y = a + b [1 - \exp^{-ct}]$$

เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t

a = ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ละลายน้ำได้

b = ความประกอบของวัตถุดิบที่ต้องใช้เวลาในการย่อยสลาย

c = ค่าอัตราการผลิตแก๊ส

T = เวลาการเกิดแก๊ส



ภาพผนวกที่ ก1 กระบวนการทดลองที่ 1

- (1) บรรจุตัวอย่างอาหารลงในขวดวัคซีน
- (2) การเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน
- (3) คัดสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสม
- (4) การบรรจุสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสม
- (5) การบ่ม
- (6) การวัดปริมาตรผลผลิตก๊าซ



ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์หาปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน ด้วยวิธี vanillin-HCL (Barns, 1971)

การวิเคราะห์หาปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน ด้วยวิธี vanillin-HCL

1. การเตรียมสารละลาย vanillin-HCL

เตรียมสารละลาย HCL 8 เปอร์เซ็นต์ใน methanol และเตรียม vanillin 4 เปอร์เซ็นต์ใน methanol ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดให้เข้ากัน ควรเตรียมในแต่ละวันที่จะใช้ และไม่ควรใช้เมื่อสารละลายเปลี่ยนสี

2. การทำกราฟมาตรฐาน

2.1 ละลาย catechin 100 มิลลิกรัม ใน methanol 50 มิลลิลิตร นำสารละลายจากข้อ 1 มาเจือจางจาก 1:1 จนถึง 1:10 เพื่อทำ standard curve

2.2 ดูดสารละลายในแต่ละ dilution มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เมื่อครบ 10 dilution ให้เติมสารละลาย vanillin-HCL ลงในแต่ละ dilution 5 มิลลิลิตร

2.3 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ซึ่ง vanillin-HCL จะถูกใช้เป็น blank จากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน

3. การวิเคราะห์หาสารแทนนินในกากชา

3.1 ใส่ตัวอย่างกากชา 1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม methanol 50 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดด้วยกระดาษฟรอยหรือพาราฟิน นำไปเข้าเครื่องแช่ 24 ชั่วโมง

3.2 นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

3.3 ดูดสารที่ได้ 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย vanillin-HCL ลงในแต่ละ dilution 5 มิลลิลิตร และทำการเจือจางสารตัวอย่าง 10 เท่า เพื่อลดความเข้มข้น

3.4 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่องspectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเทียบกับ standard curve

4. นำความเข้มข้นของ catecchin ที่ได้จากกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาปริมาณ condensed tannin ในตัวอย่าง

$$\% \text{ condensed tannin} = \frac{\text{ค่าความเข้มข้น (mg/l)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(g)} \times 1000}$$



ภาพผนวกที่ ข1 อุปกรณ์ ขั้นตอน และการวิเคราะห์หาปริมาณคอนเดนซ์แทนนิน

- (1) ละลายผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียวแล้วนำเข้าเครื่องเขย่า
- (2) หลอดทดลองและสารเคมี
- (3) นำสารละลายมาทำ dilution
- (4) วัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง spectrophotometer



ภาคผนวก ค

การทดสอบฤทธิ์ที่ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)

การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric Reactive Substances (TBARS)

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. สารเคมีและการเตรียม

- 10% Trichloroacetic acid (TCA)
- 8% Sodium dodecyl sulphate (SDS)
- 5Mm Ethylene diamine tetraacetic acid-Na salt (EDTA)
- 100% Mm Butylated hydroxytoluene (BHT)
- 1.2% Thiobarbituric acid (TBA)
- Tetrathoxypropane (TEP)

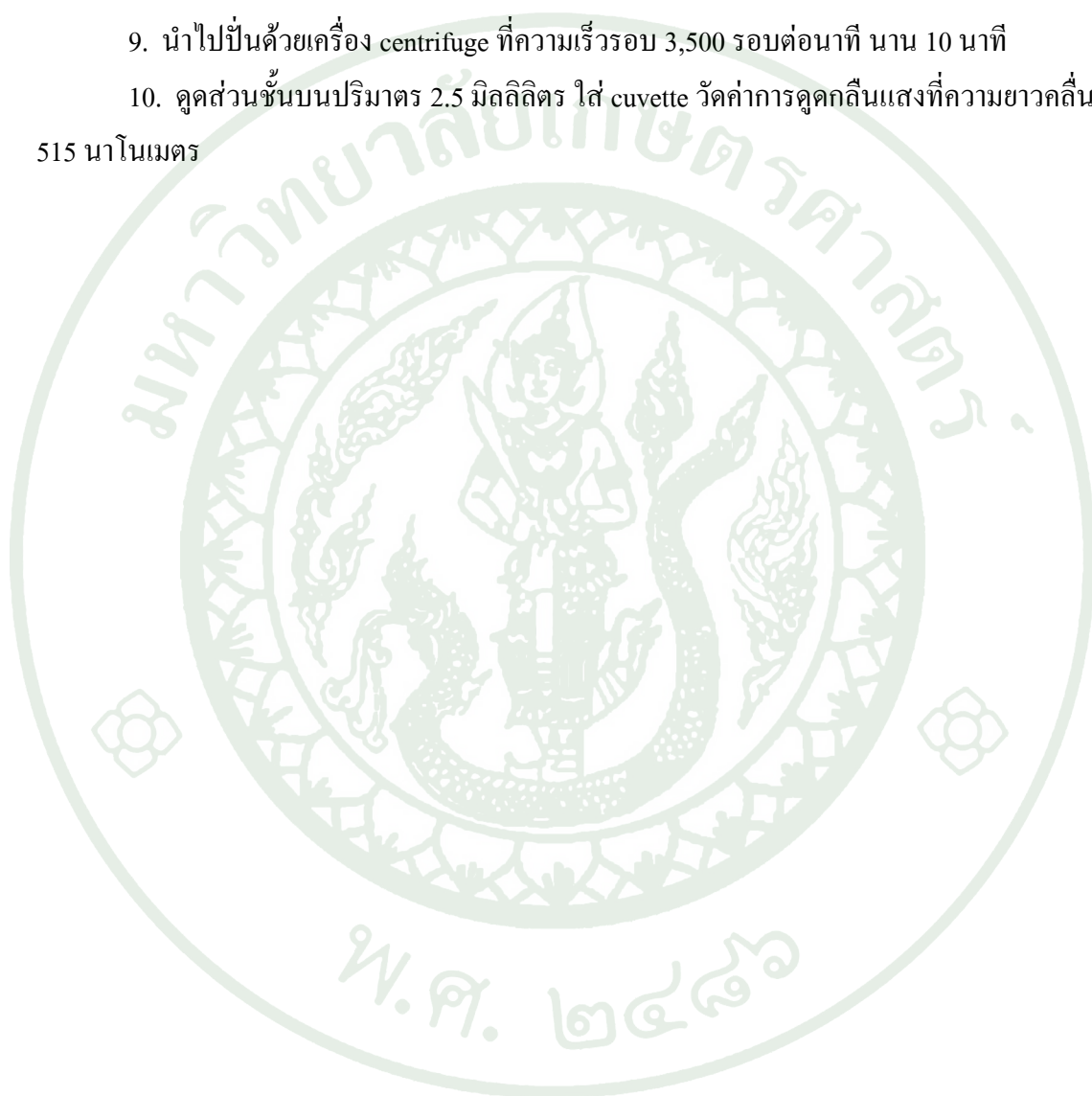
2. อุปกรณ์

- Micro tube
- Micro pipet
- Beaker
- Erlenmeyer flask
- Cylinder
- Pipet
- vortex mixer
- ลูกแก้ว

วิธีการ

1. ดูด plasma, standard และ blank (deionized water) ใส่ลงในแต่ละหลอด หลอดละ 250 ไมโครลิตร
2. เติม 0.5 M Butylated hydroxytoluene (BHT) 50 ไมโครลิตร
3. เติม Trichloroacetic acid (TCA) 500 ไมโครลิตร
4. เติม Ethylene diamine tetraacetic acid-Na salt (EDTA) 250 ไมโครลิตร

5. เติม Sodium dodecyl sulfate (SDS) 250 ไมโครลิตร
6. เติม 1.2% Thiobarbituric acid (TBA) 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer
7. วางลูกแก้วบนหลอด จากนั้นนำต้มที่อุณหภูมิ 100°C นาน 1 ชั่วโมง
8. ทำให้เย็นโดยแช่น้ำเย็น นาน 5 นาที
9. นำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
10. ดูดส่วนชั้นบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ cuvette วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร





ภาคผนวก ง

ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว และ Tannic acid และลักษณะทางกายภาพภายนอกของกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชา



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะทางกายภาพ

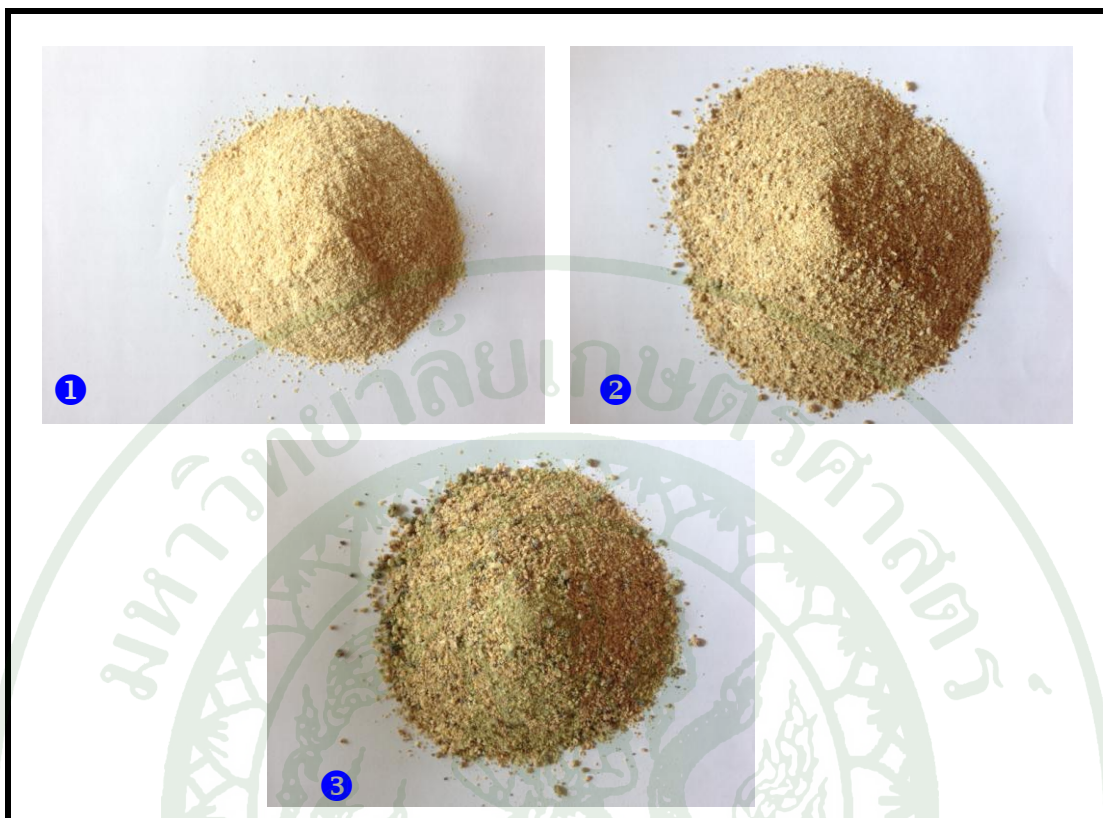
(1) ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว

(2) Tannic acid



ภาพผนวกที่ ๒ ลักษณะของอาหารทดลองทั้ง 5 กลุ่ม ในการทดลองที่ 1

- | | |
|--|--|
| (1) กลุ่มที่ 1 กากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม) | (2) กลุ่มที่ 2 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยกรดแทนนิก 10 เปอร์เซ็นต์ |
| (3) กลุ่มที่ 3 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์ | (4) กลุ่มที่ 4 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์ |
| (5) กลุ่มที่ 5 กากถั่วเหลืองทรีตด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 15 เปอร์เซ็นต์ | |



ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะของอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ในการทดลองที่ 2 และ 3

- (1) กลุ่มที่ 1 กากถั่วเหลือง
- (2) กลุ่มที่ 2 กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 5 เปอร์เซ็นต์
- (3) กลุ่มที่ 3 กากถั่วเหลืองที่รีดด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากกากชาเขียว 10 เปอร์เซ็นต์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนารีรัตน์ สอาดเอี่ยม
วัน เดือน ปีที่เกิด	วันที่ 5 ตุลาคม พ.ศ. 2530
สถานที่เกิด	อ. ปลาหม้า จ. สุพรรณบุรี
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนกรรณสูตศึกษาลัย จ. สุพรรณบุรี พ.ศ. 2545 วท.บ. (วิทยาศาสตร์บัณฑิต) มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2548

