

ความคุ้มค่าจากสารประกอบคอนเดนซ์แทนนินในพืชโปรตีนอาหารสัตว์ สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Beneficial Effects of Protein Foliages of Condensed Tannins for Ruminants

ปราโมทย์ แพงคำ

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
University Putra Malaysia, 43400 UPM, Serdang,

บทคัดย่อ

แทนนิน จัดเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งพบในส่วนต่าง ๆ ของพืช แทนนินสามารถละลายได้ในน้ำ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500 ถึง 5,000 โดยทั่วไปแล้วสารประกอบแทนนินจัดเป็น 2 ประเภท คือ ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (hydrolyzable tannin) และคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin, CT) ในพืชหลายชนิด พบว่าแทนนินมีความสามารถในการป้องกันการทำลายของแบคทีเรีย เชื้อรา และแมลงกัดกินเป็นอาหาร ในระดับที่สูงของแทนนิน (5 - 9 % ของอาหาร) พบว่าทำให้ความสามารถในการย่อยอาหารได้ของ สัตว์เคี้ยวเอื้องลดลง เนื่องจากแทนนินไปขัดขวางการย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และยังทำให้การกินได้ของสัตว์ลดลง ความเป็นไปได้ในการใช้แทนนินจึงควรอยู่ระหว่าง 2 - 4 % ของน้ำหนักแห้งอาหาร เนื่องจาก แทนนินจะเกาะกันอยู่กับโปรตีนที่ระดับนี้ สามารถป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมน และเป็นระดับที่ไม่มีผลกระทบต่อการกินได้ของสัตว์ เมื่อแทนนินรวมตัวโปรตีนในน้ำลายกลายเป็นสารประกอบโปรตีน-แทนนินผ่านกระเพาะรูเมนไปถึงลำไส้เล็กโปรตีนและแทนนินจะถูกแยกพันธะ จากนั้นโปรตีนจะถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้การเสริมแทนนินในระดับ 2.2 และ 5.5 % ของอาหารจากพืชพวกบัว (*Lotus spp.*) พบว่าสามารถป้องกันการย่อยอาหารในกระเพาะรูเมน และยังพบว่ากรดอะมิโนที่จำเป็นที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แทนนินยังสามารถป้องกันการเกิดภาวะท้องอืดในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ด้วย

Abstract

Tannins (polyphenols) are a significant group of the secondary plant ingredients. Tannins are water-soluble phenols with a molecular weight between 500 and 5,000, and in general they are subdivided in hydrolyzable and condensed tannins (CT). Some plants probably evolved tannin production as a defence strategy; against invasion by pathogenic bacteria and fungi, then against being eaten by insects and against being eaten by herbivores, with the mechanism being the protein-precipitating properties of tannins. At the high levels (5-9 %), tannins become highly detrimental as they reduce digestibility of the fibre in the rumen by inhibiting the activity of bacteria and anaerobic fungi , also leading to reduced intake of the animal. The ideal concentration of condensed tannins in this forage legume is between 2-4 % of the diet dry matter which is now thought to be beneficial, at which level they bind with

the dietary proteins during mastication and appear to protect the protein from microbial attack in the rumen. Whether a little tannin has been usually accepted as being able to protect protein of forages and allow a higher efficiency of feed utilization by the animal, condensed tannins are held in special organs in the leaves to prevent their interference with the plant's own metabolic apparatus, and this factor favours tannin-tolerant animal browser that tannin-binding proteins in their saliva. A major benefit of tannins in feed has been thought to be the protection of plant proteins from digestion in the rumen and their subsequent release as protein available for digestion and utilization by the ruminant. Studies with *Lotus spp.* of varying CT content (2.2 % and 5.5 %) have confirmed that tannins do protect dietary proteins digestion in the rumen, increase the flux of essential amino acids (EAA) to small intestine. At low CT concentrations, tannins can increase the apparent absorption of EAA in the intestines, prevent the rumen bloat in the ruminant, and increase ruminant productivities.

Keywords : Condensed tannins, Beneficial, Protein foliages, Ruminants

1.บทนำ

ปัจจัยจำกัดสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องในการให้ผลผลิต ได้แก่ การขาดสารอาหารที่เป็นทั้งปริมาณและคุณภาพ โดยส่วนใหญ่ สัตว์จะได้รับอาหารที่มีโปรตีนหรือไนโตรเจนต่ำและยังมีระดับของเยื่อใยที่ย่อยไม่ได้จากแหล่งอาหารหยาบธรรมชาติ ดังนั้นหากปล่อยให้สัตว์แพะเลี้ยงอย่างเดียว จะทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการจึงควรจะมีการเสริมอาหารที่สามารถหาได้ในท้องถิ่น เช่น มันสำปะหลังทั้งหัว หรือใบตากแห้ง เปลือกข้าวโพด ผักอ่อน ปลายข้าว กากเมล็ดฝ้าย ผลพลอยได้จากการเกษตรอื่นๆ เช่น เปลือกสับปะรด ต้นข้าวโพด ต้นธัญพืชต่างๆ เป็นต้น ในส่วนของอาหารหยาบ ควรจะมีการปรับปรุงคุณภาพ เช่น การสับ การบด การอัดเม็ด หรือการหมักด้วยยูเรียหรือแอมโมเนีย และเสริมด้วยอาหารที่มี ในท้องถิ่น ที่ได้กล่าวมาข้างต้น พบว่า ให้ผลผลิตเป็นที่น่าพอใจ ทั้งเนื้อสัตว์ ปริมาณและคุณภาพของน้ำนม [1] การเสริมอาหาร โปรตีนจากใบพืชในท้องถิ่น เช่น กระถิน ใบมัน หรือพืชตระกูล ถั่วต่างๆ เป็นการเพิ่มสารอาหารโปรตีน และพลังงาน สามารถลด ต้นทุนการผลิตได้มาก ซึ่งพืชต่างๆ ที่ได้กล่าวมาจะมีสารประกอบ พวกแทนนิน ซึ่งโดยปกติจะเกาะติดอยู่กับโปรตีน หรือที่เรียกว่า สารประกอบโปรตีน-แทนนิน ซึ่งโดยปกติสาร

ประกอบแทนนิน จะมีรสฝาด ทำให้แมลง เชื้อรา เชื้อโรคต่างๆ รวมทั้งสัตว์ไม่ชอบ หากปริมาณของแทนนินมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการย่อยได้ของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ได้เช่นเดียวกัน [2] ดังนั้น การนำพืชที่มีแทนนินสูง ก่อนใช้ควรมานำตากให้แห้งก่อน เพื่อลดระดับแทนนินและในพืชบางชนิด เช่น ใบมันสำปะหลัง การตากแห้ง ยังสามารถลดสารพิษไฮโดรไซยาไนต์ได้ด้วย สารประกอบแทนนินในระดับที่เหมาะสม พบว่าสามารถป้องกันการย่อยได้ของจุลินทรีย์ ในกระเพาะรูเมนเนื่องจากภายในกระเพาะรูเมนมีสภาพที่เป็น กลาง สารประกอบโปรตีน-แทนนินถูกย่อยเพียงเล็กน้อย และเมื่อผ่านไปก็กระเพาะจริง และลำไส้เล็กซึ่งมีสภาพ เป็นกรด สารประกอบแทนนินจะถูกทำให้แยกจากกัน และโปรตีนจะถูก น้ำย่อยและเอ็นไซม์ในตัวสัตว์ออกมาย่อยและดูดซึมไปใช้ ประโยชน์สำหรับตัวสัตว์ ต่อไป

2.ชนิดและประเภทของสารประกอบแทนนิน

แทนนินหรือสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งเป็นสารประกอบรอง (secondary) ที่พบในพืชต่างๆ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500 ถึง 5,000 สามารถละลายได้ในน้ำ มีคุณสมบัติเป็น อัลคาร์ลอย เจลลูลิน และโปรตีน โดยทั่วๆ ไป

สามารถจัดเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ไฮโดรไลเซเบิล (hydrolyzable) และคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin) ตามลำดับ [3]

ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน เป็นสารประกอบโพลีเอสเทอร์ ของ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส และกรด ฟีนอลิก-คาร์บอกซิลิก ของกรดแกลลิก (gallotannin) หรือ กรดเฮกซาไฮดรอกซีไดฟีนิล (ellagitannin) สามารถแตกตัวใน สภาพที่มีอุณหภูมิสูง ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินส่วนใหญ่จะเป็น กรดแกลลิก [4]

โปรแอนโทไซยานิดิน หรือคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin, CT) เป็นสารประกอบโพลีเมอร์ของ คาร์ทีชิน (catechin) และลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidin) โดยคอนเดนซ์แทนนิน สามารถละลาย ได้ในสภาพที่เป็นกรด และอุณหภูมิสูง ดังนั้นในการใช้อาหาร โปรตีนจากพืช จึงนำคุณสมบัติ ของคอนเดนซ์แทนนินไปใช้ประโยชน์ [5]

3. ปฏิสัมพันธ์ระหว่างแทนนินและโปรตีน

สารประกอบแทนนินกับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต สามารถทำให้เกิดการย่อยได้ของอาหารในกระเพาะรูเมน โดยเชื่อว่าเป็นผลมาจากสารประกอบโพลีฟีนอลิก ไปมีผลต่อการทำงานของ จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน [6] แทนนินมีผลต่อการลดการย่อย ได้ของสารประกอบโปรตีน รวมทั้งสารประกอบ ต่างๆ ที่รวมอยู่ กับโปรตีน [2] สารประกอบแทนนินเป็นสารต่อต้านการย่อยได้ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะในระดับที่สูง จะมีผลทำให้ การย่อยได้ และการดูดซึมของโปรตีนในลำไส้เล็กลดลง [7] สารประกอบระหว่าง แทนนินและโปรตีนมีพันธะค่อนข้างคงที่ ในสภาพตามธรรมชาติ และเมื่อเปลี่ยนสภาพไปไม่สามารถ ผันกลับได้ [8] พันธะระหว่างแทนนินและโปรตีน สามารถลด ได้หลายวิธี เช่นใน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะมีโพรลีนใน น้ำลายสูง โดยโพรลีน จะทำหน้าที่ในการคลายพันธะก่อน [9] อย่างไรก็ตามในส่วนของโพรลีนจากน้ำลายผลยังไม่ชัดเจน ปัจจุบันที่มีผลมากกว่า ได้แก่ สภาพความเป็นกรด-ด่าง มากกว่า ในสภาพในกระเพาะรูเมนมีสภาพค่อนข้างเป็นกลางซึ่ง สาร ประกอบแทนนินกับโปรตีนยังไม่มีสภาพละลายพันธะ แต่เมื่อผ่านไป ที่กระเพาะจริงและลำไส้เล็กจะมีสภาพเป็นกรดจาก กรดน้ำดี ทำให้พันธะถูกทำลายได้ [10] และ Jones and

Mangan [11] แสดงให้เห็นว่าพันธะระหว่างคอนเดนซ์แทนนิน สามารถถูก ทำลายที่ pH น้อยกว่า 3.5

4. ผลของแทนนินต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

กลไกของแทนนิน ต่อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิด และ ปริมาณของแทนนิน โดยหากมีแทนนินเพียงจำนวนน้อยอาจจะ ไม่มีผลใดๆ ต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และ จุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมน มีความทนทานต่อแทนนินใน ระดับที่สูง [12] และโดยปกติจุลินทรีย์ในรูเมนมีความสามารถในการลดความเป็นพิษของสารต่อต้านโภชนะต่างๆ ไม่เพียง เฉพาะสารประกอบแทนนิน [13] โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ใน กระเพาะรูเมนส่วนใหญ่จะย่อยอาหารคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักก่อน และจุลินทรีย์จะเลือกใช้ โปรตีนที่ สามารถย่อยง่ายจากแหล่งอื่น ก่อน เช่น จากยูเรีย ส่วนโปรตีนจากพืชอาหารสัตว์จะถูกย่อย ได้เพียงจำนวนน้อย เท่านั้น [6]

5. ความคุ้มค่าของแทนนินในโปรตีนพืชอาหารสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ดังได้กล่าวมาตอนต้นแล้วว่า ในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะพืชในเขตร้อน จะมีองค์ประกอบของแทนนินสูงกว่าประเทศในเขตกึ่งหนาว ประโยชน์และความคุ้มค่าของแทนนินอยู่ที่ความสามารถในการป้องกัน การย่อยได้ของอาหารโปรตีนในกระเพาะรูเมนซึ่งโดยปกติ การให้อาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องจะ มีการคำนวณโปรตีนในส่วนในส่วนนี้ให้เพียงพออยู่แล้ว โดยส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนคุณภาพดีและมีราคาแพง เช่น โปรตีน จากกากถั่วเหลือง กากเมล็ดฝ้าย กากเบียร์แห้ง เป็นต้น หากสามารถทดแทนโปรตีนจากโปรตีนพืชอาหารสัตว์ จะสามารถ ลดต้นทุนการผลิตได้มาก สามารถปลูกไว้ใช้เอง หรือสามารถ ส่งเสริมให้เกษตรกรทั่วไป ใช้ได้อย่างกว้างขวาง

การศึกษาการใช้คอนเดนซ์แทนนินโดยแปรปรวนจากระดับ 2.2 ถึง 5.5 % ของอาหาร วัตถุแห้งสามารถยืนยันได้ว่า การย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลง หมายถึงมีการป้องกัน การย่อยอาหารโปรตีนในกระเพาะรูเมน และเพิ่มขึ้นของกรด อะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids, EAA) ในลำไส้เล็ก [14] อย่างไรก็ตาม

หากเสริมอาหารที่มีแทนนินสูงเกินไป สามารถ ทำให้การดูดซึมของ EAA ที่ลำไส้เล็กลดลงจาก 78 % เป็น 63 % และผลยังไม่ชัดเจนในส่วนของไนโตรเจนที่หมุ่นเวียน และ เก็บกักในร่างกาย [15]

Barry[2] ได้ศึกษาโดยใช้พืชตระกูลบัว (Lotus pedunculatus) โดยให้มีระดับของคอนเดนซ์แทนนินอยู่ ระหว่าง 2 ถึง 4 % ของอาหารโดยวัตถุแห้ง พบว่าในระหว่าง การเคี้ยว จะทำให้เกิดสารประกอบระหว่างสารประกอบแทนนิน และน้ำลายในการป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน สอดคล้อง กับรายงานของ Norton and Ahn [14] โดยใช้พืชตระกูล Calliandra calothyrsus 2.5 ถึง 3.7 % ของคอนเดนซ์แทนนิน พบว่าสามารถป้องกันการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนเหมือนกัน และ ยังสามารถเพิ่มระดับของไนโตรเจนในลำไส้เล็ก โดยไม่มี ผลกระทบต่อระดับไนโตรเจนที่เก็บกัก และหมุ่นเวียนในร่างกาย

Woodward et al. [16] ศึกษาการใช้ คอนเดนซ์แทนนินจาก *L. corniculatus* ในอาหารโคนม ระยะปลายของการรีดนม พบว่าทำให้เพิ่มผลผลิตน้ำนม โปรตีนในน้ำนม ในการใช้แทนนิน เชื่อว่าไม่ควรใช้เกินระดับ 5 % ในอาหารเนื่องจากจะมีผลกระทบต่อระบบการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนมากเกินไป [3] โดยการใช้ที่ระดับ 5 ถึง 9 % พบว่าทำให้การย่อยได้ของอาหารเยื่อใย ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ [17] และมีผลยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย และเชื้อรา กลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน ในกระเพาะรูเมน [18] และที่ระดับสูงนี้ ยังทำให้การกินได้ของอาหารลดลง [19] และอาจจะทำให้สัตว์ ตายได้หากใช้เกิน 9 % ในอาหารวัตถุแห้ง [20]

การใช้ในระดับที่เหมาะสมสามารถเพิ่ม จุลินทรีย์ โปรตีนที่ออกจากกระเพาะรูเมน [21] การใช้แทนนินในระดับ ที่ต่ำ 5 ก./กก. อาหาร พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตขน ในแกะได้ [22] การปล่อยให้แกะเลีย ในแปลงหญ้า และถั่ว สามารถ ทำให้สัตว์ได้รับแทนนิน 1 ถึง 2 ก./กก.อาหารที่สัตว์กิน ซึ่ง สามารถ เพิ่มระดับโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะรูเมน [23] นอกจากนี้การใช้อาหารพืชโปรตีนที่มีแทนนิน ยังสามารถลดการ เกิดภาวะท้องอืดในโคได้ [24]

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนอาหารสัตว์ที่มีองค์ประกอบของแทนนินจะเกิดประสิทธิภาพ มากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับการ จัดการด้านอาหารโดยการสมดุล เช่น การคำนวณระหว่าง พลังงานที่

ย่อยได้เร็ว และโปรตีนที่ย่อยได้เร็วให้มีความสมดุล เพื่อให้มีการสังเคราะห์จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนในระดับสูงสุด แล้ว เสริมอาหารจำพวกที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะรูเมน รวมถึง สารประกอบโปรตีนแทนนิน จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดใน การที่สัตว์จะนำโภชนะไปใช้ประโยชน์มากที่สุด

6.บทสรุป

สารประกอบคอนเดนซ์แทนนิน พบได้ทั่วไปใน โปรตีนพืชอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในเขตร้อน หากใช้ในระดับที่สูงเกิน 5 % ของอาหารวัตถุแห้ง พบว่าการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน และระดับไนโตรเจนที่กักเก็บในร่างกายลดลง หากมีในอาหารถึง 9% สามารถทำให้สัตว์ตายได้ ระดับที่เหมาะสมที่ให้ผลดี คือ ประมาณ 2 ถึง 4 % โดยสามารถป้องกันการย่อยได้ใน กระเพาะรูเมน และสามารถเพิ่มจุลินทรีย์โปรตีนที่ผ่านไปยังลำไส้เล็ก และเพิ่มการดูดซึมการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนที่จำเป็น การที่คอนเดนซ์แทนนินในโปรตีนพืชอาหารสัตว์ สามารถทดแทนโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะรูเมนจากแหล่งอื่นซึ่งมีราคาแพงกว่า ทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้มาก

7.เอกสารอ้างอิง

- [1] Wanapat M., The Use of Local Feed Resources for Livestock Production in Thailand, in Feeding of Ruminants in the Tropics based on Local Feed Resources, Ed by M. Wanapat, Department of Animal Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, 1999.
- [2] Barry, T. N., Condensed Tannins: Their Role in Ruminant Protein and Carbohydrate Digestion and Possible Effects upon the Rumen Ecosystem, in the Role of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion, Eds by Nolan J V, Leng R A & Demeyer D I. Penambul Books, Armidale, NSW, pp. 153-169, 1989.

- [3] McLeod M N, Plant-tannins. Their Role in Forage Quality, Nutrition Abstract and Reviews Vol.11 ; pp. 803-815, 1974.
- [4] Leinmuller, E., Steingass, H. and Menke, K. H., Tannins in Ruminant Feedstuffs, in Animal Research and Development. Numerous Member of German Universities and Research Institutions by the Institute for Scientific Co-operation, 1991.
- [5] Haslam, E., Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revised, Cambridge University Press, Cambridge. pp. 230, 1989.
- [6] McSweeney, C.S., Palmer, B., Bunch, R. and Krause, D.O., Isolation and Characterisation of Proteolytic Ruminant Bacteria from Sheep and Goats Fed the Tannin-containing Shrub Legume Calliandra Calothyrsus, Applied and Environmental Microbiology (in press), 1999.
- [7] Wiseman, J. and Cole, D.J.A., European Legumes in Diets for Non-ruminants, in Recent Advances in Animal Nutrition, Eds by Haresign W, Cole D J A, Butterworths, London, pp.13-38, 1988.
- [8] Waterman P.G. and Mole, S., Analysis of Phenolic Plant Metabolites, Blackwell Scientific Publications, London, p. 238, 1994.
- [9] Ausin, P. J., Suchar, L.A., Robbins, C.T. and Hagerman, A.E., Tannin-binding Proteins in Saliva of Deer and Their Absence in Saliva of Sheep and Cattle, J. Chemical Ecology. Vol. 15 ; pp. 1335-1347, 1989.
- [10] Mole, S. and Waterman, P.G., Stimulatory Hydrolysis of Proteins, Ecological implications. J. Chemical Ecology. Vol. 11 ; pp. 1323-1332, 1985.
- [11] Jones, W. T. and Mangan, J. L., Complexes of the Condensed Tannins of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) with Fraction Leaf Protein and with Submaxillary Mucoprotein and their Reversal by Polyethylene Glycol and pH, J. Sci. Food Agric. Vol. 28 ; pp. 126-136, 1977.
- [12] Leng, R. A., Improving Ruminant Production and Reducing Methane Emissions from Ruminants by Strategic Supplementation, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.,1991.
- [13] Makkar, H.P.S., Blummel M, Becker K, In vitro Rumen Apparent and True Digestibility of Tannin-rich Forages. Anim. Feed Sci. Techn. Vol. 67 ; pp.245-251, 1997.
- [14] Norton, B.W. and Ahn, J.H., A Comparison of Fresh and Dried Calliandra Calothyrsus Supplements for Sheep Given a Basal Diet of Barley Straw, J. Agric. Sci., Camb. Vol. 129 ; pp. 485-494, 1997.
- [15] Preston, T.R and Leng, R. A., Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics, p. 245, 1987.
- [16] Woodward, S.L., Auldist, M.J., Laboyrie, P.J. and Jansen, E.B.L, Effect of L. Corniculatus and Condensed Tannins on Milk Yield and Milk Composition of Dairy Cows, Proc. of the New Zealand Soc. of Anim. Prod. (in press), 1999.
- [17] Reed, J.D., Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes, J. Anim. Sci. Vol. 73 ; pp. 1516-1528, 1995.
- [18] Chesson, A., Stewart, C.S. and Wallace, R.J., Influence of Plant Phenolic Acids on Growth and Cellulolytic Activity of Rumen Bacteria, Applied Environmental Microbiology. Vol. 44 ; pp. 597-603, 1982.

- [19] Akin, D.E. and Rigsby, L. L., Influence of Phenolic Acids on Rumen Fungi., *Agronomy J.* Vol. 77 ; pp. 180-182, 1985.
- [20] Kumar, R. A., Chemical and Biochemical Nature of Fodder Tree Leaf Tannin, *J. Agric. Food Chemistry.* Vol. 31 ; pp. 1364-1366, 1983.
- [21] Beever, D.E. and Siddons, R.C., Digestion and Metabolism in the Grazing Ruminant, in *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*, Eds by Milligan L P, Grovum W L, Dobso A, Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall, pp 479-497, 1986.
- [22] Montossi, F., Liu, F., Hodgson, J., Morris, S.T., Barry, T.N. and Risso, D.F, Influence of Low-level Condensed Tannins Concentration in Temperate Forages on Sheep Performance, *Proc. 17th International Grasslands Congress* (in press), 1997.
- [23] Minn, B.R., McNabb, W.C., Barry, T.N. and Peters, J.S., Solubilisation and Degradation of Protein from White Clover and *L. Corniculatus* by Rumen Micro-Organisms and the Effect of Condensed Tannins in these Processes, *J. Agric. Sci, Camb.* (in press), 1999.
- [24] Li, Y.G., Tanner, G. and Larkin, P., The DMCA- HCl Protocol and the Threshold Proanthocyanidin Content for Bloat Safety in Forage Legumes, *J. Sci. Food and Agric.* Vol. 70 ; pp. 89-101, 1996.