

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเลี้ยงสัตว์ในปัจจุบันกำลังได้รับการสนใจเป็นอย่างมากนอกเหนือจากการปลูกพืชแล้วการเลี้ยงสัตว์ยังเป็นอาชีพหนึ่งที่สามารถทำรายได้ให้แก่เกษตรกรทั้งเป็นรายได้หลักและรายได้เสริม โดยปัจจุบันประเทศไทยนอกจากจะเลี้ยงสัตว์เพื่อบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังสามารถส่งเป็นสินค้าออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศทำรายได้ปีละหลายพันล้านบาทถึงอย่างไรก็ตามการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์เคี้ยวเอื้องอาทิเช่น โคเนื้อ โคนม แพะ แกะ และกระบือให้คินั้นประกอบด้วยปัจจัยหลักที่สำคัญได้แก่ พันธุ์ อาหารและการจัดการ โดย 60-70 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตสัตว์นั้นจะมาจากต้นทุนของอาหาร นอกจากนี้แล้วเมื่อประมาณ 2 ปี ที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการหันมาเจรจาในระดับทวิภาคีเพื่อให้เกิดการเปิดเสรีทางการค้าเพิ่มมากขึ้นทั้งนี้เพื่อเป็นกลยุทธ์ในการบุกตลาดการค้าระหว่างประเทศ หลายประเทศก็ได้มีความพยายามในการเจรจาการค้าในระดับทวิภาคี เพื่อจัดตั้งเขตการค้าเสรีอาทิเช่นประเทศไทยได้จัดตั้งเขตการค้าเสรีกับประเทศออสเตรเลีย(FTA)ซึ่งจะมีผลกระทบโดยตรงต่อวิถีชีวิตของเกษตรกรผู้เลี้ยง โคนมและ โคเนื้ออย่างมากคือประเทศไทยจะต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์จากนมและเนื้อวัวสดแช่แข็งจากออสเตรเลียซึ่งมีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่า ทั้งนี้เพราะในสัญญาให้มีการลดภาษีสินค้าทางการเกษตรให้เหลือ 0 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 20 ปีข้างหน้า นับจากปีพุทธศักราช 2548 เป็นต้นไป ในขณะที่ปัจจุบันเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตในประเทศกับต่างประเทศคู่ค้า พบว่าสูงกว่าประเทศคู่ค้ามากดังนั้นในช่วง 20 ปีต่อจากนี้ นักวิจัยและเกษตรกรจะต้องหาแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตให้ได้ทัดเทียมกับต่างประเทศเพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันกับต่างประเทศ

นอกจากนี้แนวโน้มความต้องการผลผลิตจากการเลี้ยงปศุสัตว์โดยเฉพาะเนื้อสัตว์ชี้ให้เห็นว่าประเทศกำลังพัฒนาปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องนับตั้งแต่ปี 1983 ถึง 1993 เพิ่มขึ้น 5.4% ในขณะที่ประเทศพัฒนาแล้วเพิ่มขึ้นเพียง 1% และคาดการณ์ปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อในอีก 20 ปีข้างหน้า จากข้อมูลสถิติและแนวโน้มความต้องการบริโภคเนื้อดังกล่าวข้างต้น ชี้ให้เห็นว่าการผลิตปศุสัตว์โดยเฉพาะ โคนม กระบือ โคนเนื้อและน้ำนมยังเป็นที่ต้องการเพื่อสนับสนุนปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อและน้ำนมที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆของประชากรโลก ลักษณะการเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณนำเข้าและปริมาณส่งออกและ

ผลิตภัณฑ์เนื้อซึ่งให้เห็นว่าปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อทั้งภายในและภายนอกประเทศเพิ่มขึ้นการเพิ่มขึ้นนี้ปัจจัยหนึ่งมาจากประชากรของโลกเพิ่มขึ้นทำให้ความต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้นเมื่อมองในแง่ของการแข่งขันการแข่งอาหารระหว่างมนุษย์กับสัตว์ เมื่อประชากรมนุษย์เพิ่มขึ้นนั้นในส่วนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะโคนมน่าจะเกิดขึ้นน้อยที่สุดเพราะสัตว์ดังกล่าวกินพืช หรือ วัสดุเศษเหลือที่มนุษย์ไม่สามารถกินได้ ดังนั้นการเลี้ยงหรือผลิตโคนมเพื่อผลิตเนื้อเพื่อการบริโภคที่เพิ่มขึ้นจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมและน่าพัฒนาอย่างยิ่ง โดยปัจจุบันรัฐบาลได้มีนโยบายส่งเสริมการสร้างเศรษฐกิจพอเพียงแก่ชุมชนและเกษตรกรทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรผู้เลี้ยงโคและกระบือซึ่งมีอยู่มากมายในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งควรได้รับการส่งเสริมและสนับสนุนตลอดจนการให้ความรู้ในด้านการนำใช้วัตถุดิบอาหารท้องถิ่นเพื่อเป็นอาหารสัตว์เพื่อช่วยในการลดต้นทุนการผลิตและเป็นการสร้างรายได้หลักและรายได้เสริมให้แก่เกษตรกรเกษตรกรสามารถดำรงชีพอยู่ได้ด้วยตนเองและอยู่ได้อย่างเศรษฐกิจพอเพียง

โดยทั่วไปพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นพื้นที่การปลูกพืชเศรษฐกิจหลักได้แก่ปลูกข้าวและมันสำปะหลังเพื่อเป็นอาชีพหลัก-รองสำหรับด้านการผลิตปศุสัตว์สัตว์นั้นที่สำคัญได้แก่เลี้ยงโคและกระบือที่มีอยู่มากมายทั้งนี้เนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่มีความเหมาะสมทั้งแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่พอเพียง อย่างไรก็ตามจากที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยมากมายถึงแนวทางการนำใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ท้องถิ่นเพื่อเพิ่มมูลค่าและลดต้นทุนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกมากมายในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งหัวและใบเพื่อเป็นอาหารสัตว์ทั้งเป็นแหล่งของโปรตีนและพลังงานตลอดจนช่วยในการกำจัดพยาธิในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง นอกจากนี้ผลผลิตของกากมันสำปะหลังที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันและโรงงานแปรรูปมันสำปะหลังในแต่ละปีพบว่ามียังมีปริมาณมากจึงควรมีการศึกษาพัฒนาและแปรรูปเพื่อเป็นอาหารสัตว์เพื่อลดต้นทุนการผลิตสัตว์ อีกทั้งเพื่อสนับสนุนและส่งเสริมเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังทางอ้อม ซึ่งปัจจุบันการเลี้ยงโคนมในเมืองไทยมีการขยายเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพราะมีความต้องการบริโภคน้ำนมเพิ่มขึ้นทุกปี อีกทั้งนโยบายของรัฐบาลได้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรมีการเลี้ยงโคนมเพิ่มมากขึ้น โดยได้มีการบรรจุไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 5, 6 และ 7 อย่างเด่นชัดเพื่อที่จะส่งเสริมธุรกิจด้านโคนมและลดการนำเข้าซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาองค์ความรู้ในด้านอาหาร โคนมให้มากยิ่งขึ้นเนื่องจากอาหารนับได้ว่าเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตน้ำนม

ตลอดจนผลตอบแทนความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ โดยจุดประสงค์หลักของการพัฒนาการผลิตในด้านอาหาร โคนมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตในประเทศไทยนั้นจำเป็นต้องเน้นการใช้วัตถุดิบในท้องถิ่นที่หาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูก

### ทฤษฎีหรือแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

- เทคโนโลยีชีวภาพกระเพาะหมักรูเมน (rumen biotechnology) มีศักยภาพสูงในการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของอาหารหยาบคุณภาพต่ำและเศษเหลือทางการเกษตร และปรับเปลี่ยนระบบนิเวศวิทยาจุลินทรีย์รูเมน (rumen microbial ecosystem)
- การผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะการผลิตโคนมในประเทศไทยจะยังผลกำไรและมีความถาวรภาพ (sustainability) ได้โดยการใช้วัตถุดิบอาหารท้องถิ่นที่มีอยู่มากมาย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต
- การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ในท้องถิ่น เทคนิคการแปรรูป เทคนิคการเพิ่มศักยภาพในการใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ในท้องถิ่น โดยเฉพาะข้าวโพดหมัก ยูเรียสามารถเป็นการเพิ่มศักยภาพการใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ภายในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพและถาวรภาพ

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โคนมมีความสามารถในการใช้อาหารซึ่งแตกต่างจากที่สัตว์กระเพาะเดี่ยวได้รับโดยส่วนใหญ่จะเป็นอาหารที่มีเยื่อใยสูง เช่น เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นต้น ซึ่งเป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่ ในลำต้นและใบพืชโดยอาศัยกระบวนการหมักและการย่อยจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในกระเพาะหมักนอกจากนี้ยังสามารถใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนแท้ (non-protein nitrogen; NPN) ได้อีกด้วยซึ่งกระเพาะอาหารของ โคนมเป็นส่วนที่มีความแตกต่างจากสัตว์กระเพาะเดี่ยว โดยที่กระเพาะของโคนมมีพื้นที่ ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ของ ช่องท้องและสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ส่วน คือ กระเพาะหมัก (rumen) ความจุคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของ กระเพาะอาหารทั้งหมดและเป็นส่วนสำคัญที่เกิดกระบวนการหมักโดยอาศัยจุลินทรีย์กระเพาะส่วนที่สอง คือกระเพาะ รังผึ้ง (reticulum) ซึ่งมีความจุคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ ของกระเพาะอาหารทั้งหมด กระเพาะ คือกระเพาะสามสิบกลีบ (omasum , many plies) มีความจุประมาณ 7- 8 เปอร์เซ็นต์ของ

กระเพาะทั้งหมด เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ดูดกลับ ของเหลวในอาหารกระเพาะส่วนที่สี่ คือ กระเพาะจริง (abomasum) ทำหน้าที่ผลิตน้ำย่อยออกมาย่อยอาหาร ดังเช่นใน สัตว์กระเพาะ เตี้ย (เมธา, 2533; ฉลอง, 2541) โดยอาหารที่สัตว์ได้รับเข้าไปจะถูกย่อยสลายโดยอาศัยเอนไซม์ จากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระเพาะหมักโดยเฉพาะ ความสามารถในการเปลี่ยนอาหาร โปรตีนที่มี คุณค่าต่ำโดยผ่าน การทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเพื่อเปลี่ยนให้เป็นจุลินทรีย์โปรตีน ทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าโปรตีนคุณภาพต่ำที่สัตว์ได้รับ

อาชีพการเลี้ยง โคนมในประเทศไทยได้มีการพัฒนาและเพิ่มปริมาณการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการ บริโภคนมและผลิตภัณฑ์นมของไทยเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้น 21.4 เปอร์เซ็นต์ (สำนักงาน เศรษฐกิจการเกษตร, 2540) ทำให้ประเทศไทยต้องมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์นมจากต่างประเทศ มากขึ้น ประมาณปีละ 627,426 ตัน (รัชชัย, 2541) ทำให้ภาครัฐและภาคเอกชนเร่งส่งเสริมการเลี้ยงโคนมเพิ่มมากขึ้น โดยในปี 2530-2536 มีโคนมเพิ่มขึ้นจำนวนเฉลี่ย 5 ตัวต่อฟาร์มเป็น 12.3 ตัวต่อฟาร์มในปี พ.ศ.2538 ซึ่งนโยบาย เหล่านี้ได้สร้างความเปลี่ยนแปลง ทำให้มีการขยายตัวของ การเลี้ยงโคนมไปทั่วประเทศ แต่อย่างไรก็ตามสภาพการเลี้ยงโคนมและการผลิตน้ำนมยังต่ำกว่าความต้องการ 23.5 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจ เกษตร, 2541) ซึ่งปริมาณน้ำนมดิบที่ผลิตได้ใน ประเทศคิดเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ ของความต้องการบริโภคภายในประเทศทั้งหมด (สถาบันพัฒนา ฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติ, 2540) ถึงแม้ว่าการเลี้ยงโคนมในประเทศจะมีการขยายตัวมากขึ้นแต่ผลผลิตน้ำนมต่อตัวเฉลี่ยของ โคนมในประเทศไทยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจาก 9 กิโลกรัม ต่อวันเป็น 11 กิโลกรัมต่อวันเท่านั้น ขณะที่เกษตรกรโคนมโดยส่วนใหญ่ 84 % เป็นเกษตรกร รายย่อย (จำนวนโคนมต่ำกว่า 20 ตัว)

ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาเพื่อให้มีประสิทธิภาพเพิ่มการเลี้ยงโคนมให้มีประสิทธิภาพ การให้ผลผลิต น้ำนมสูงสุด อย่างไรก็ตามการพัฒนาการเลี้ยงโคนมในปัจจุบันยังพบปัญหา และอุปสรรคหลายประการวิพิชญ์ (2541) ได้สรุปไว้ดังนี้

1. พันธุ์โคนม เกษตรกรขาดแคลนพันธุ์โคนมที่มีคุณภาพ นอกจากจะหายากแล้วยังมี ราคาสูง
2. ขาดแคลนนํ้านมดิบ เนื่องจากกำลังการผลิตต่ำไม่ได้ตามเป้าหมายที่คาดการณ์ไว้
3. นํ้านมคั้นรูป ซึ่งเป็นนมผงที่นำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อนำมาผลิตเป็นนมคั้นรูปจะมี ราคาถูกกว่านํ้านมดิบที่ผลิตได้ภายในประเทศ

4. เกษตรกรขาดความรู้พื้นฐาน โดยเฉพาะการคัดเลือกโคนมที่มีลักษณะพันธุ์ดีอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพ การจัดการฟาร์มที่ดี
5. วัตถุประสงค์อาหารสัตว์ราคาแพง เกษตรกรขาดแคลนเงินทุนที่จะนำมาสนับสนุนในส่วนนี้จึงก่อให้เกิดปัญหาหนี้สินของเกษตรกร
6. เกษตรกรขาดแคลนเงินทุน การรวมตัวของเกษตรกรยังไม่เข้มแข็งและไม่เข้าใจการรวมตัวดำเนินธุรกิจ ร่วมกันในระบบสหกรณ์ และสหกรณ์โคนมขาดแคลนเงินทุนเพื่อดำเนินธุรกิจ
7. มีหน่วยงานรับผิดชอบมากเกินไป มีหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนรับผิดชอบการเลี้ยงโคนม ซึ่งแต่ละหน่วยจะดำเนินงานเป็นอิสระไม่ประสานกัน จึงเป็นการยากที่จะกำหนดนโยบายให้ไปในทิศทางเดียวกัน

## 2.1 นิเวศน์วิทยาและจุลินทรีย์วิทยาในกระเพาะหมัก

สมดุลของนิเวศน์วิทยาที่เหมาะสมภายในกระเพาะหมักมีสภาวะที่มีลักษณะเฉพาะหลายอย่าง เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของประชากรจุลินทรีย์และมีความแตกต่างจากกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนอื่นๆ เช่นสามารถรักษาระดับอุณหภูมิได้ ซึ่งถูกควบคุมโดยกระบวนการ homeothermic metabolism โดยตัวสัตว์เอง กระบวนการหมักที่เกิดขึ้น ได้ผลิตผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids; VFA) และระดับความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของกระเพาะหมักอยู่ในช่วง 6.0 – 7.0 และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 39 – 40 องศาเซนเซียส (Van Soest, 1982) จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่เป็นพวก obligate anaerobes คือ อยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่บ้าง แต่การมีระดับของออกซิเจนมากเกินไป อาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์พวกนี้ได้ (เมธา, 2533) จุลินทรีย์ที่พบในกระเพาะหมักมีมากมายหลายชนิด โดยที่จุลินทรีย์เหล่านี้มีคุณสมบัติสำคัญคือ ต้องมีชีวิตอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจนและมีการสร้างผลผลิตสุดท้าย (end products) ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งพบในกระเพาะหมักเท่านั้น และต้องมี ปริมาณไม่ต่ำกว่า 1 กรัม / กรัมของ rumen contents (Hungate, 1966)

### โปรโตซัวในกระเพาะหมัก

เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย โปรโตซัวที่พบในรูเมนส่วนใหญ่เป็นชนิด ciliate protozoa แต่ในช่วงที่เป็นลูกสัตว์จะมี flagellate protozoa มากกว่า การจัดจำพวก

ของโปรโตซัวมักนิยมถือตาม ลักษณะภายในเซลล์ (cell morphology) ciliate protozoa สามารถแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ holotrichs และ entodiniomorphs (ฉลอง, 2541) holotrich มีความสามารถในการใช้น้ำตาล (sugar) เป็นแหล่งของ พลังงานในขณะที่ entodiniomorphs มีความสามารถในการใช้แป้งเพื่อเป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญ โดยเฉพาะ จีนิส *Epidinium* และ *Ophryoscolex* แต่บางตัวก็สามารถใช้เซลลูโลสและเฮโมเซลลูโลส เป็นแหล่งของพลังงานได้ ขึ้นกับความสามารถในการเข้ายึดเกาะกับสารตั้งต้นนั้นๆ ซึ่งอาจเป็น คลอโรพลาสต์ (chloroplast) ส่วนของเยื่อใย (fibrous particles) (Van Soest, 1982) นอกจากนี้แหล่งของโปรตีนจากพืชรวมทั้ง แบคทีเรียก็ถือเป็นแหล่งของพลังงานสำหรับโปรโตซัวในกระเพาะหมัก เช่นกัน Yang and Varga (1989) รายงานว่าจำนวน โปรโตซัวในโคนม เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างของเหลว จากส่วน dorsal sac ของกระเพาะ รูเมน มีปริมาณอยู่ที่  $84.4 \times 10^4$  เซลล์/กรัม ซึ่งเป็นโปรโตซัวในกลุ่ม entodiniomorphs  $83.3 \times 10^4$  เซลล์/กรัม และกลุ่ม holotrichs  $0.56 \times 10^4$  เซลล์/กรัม เมื่อโคได้รับสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น 55 : 45 โดยอาหารหยาบที่ใช้เป็นข้าวโพดหมักและ สूरชัช (2542) รายงานว่าปริมาณโปรโตซัวในกระเพาะหมักของโคนม ที่ได้รับฟางหมักยูเรีย เป็น อาหารหยาบอยู่ในช่วง  $2.4-3.0 \times 10^5$  เซลล์/มล.

#### ความสัมพันธ์ระหว่างโปรโตซัวและจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

Ushida et al. (1988) อ้างถึงใน Tsuda et al. (1991) รายงานว่า total viable count , amylolytic , peptolytic และ cellulolytic bacteria เพิ่มมากขึ้น ภายหลังจากการที่มีการกำจัดโปรโตซัว ภายในกระเพาะหมัก (defaunation) ซึ่ง Kurihara et al. (1978) พบว่า เมื่อมีการกำจัดโปรโตซัวภายใน กระเพาะหมักจะช่วยส่งเสริมและช่วยเพิ่มบทบาทของ แบคทีเรียที่ย่อยสลายแป้ง (amylolytic bacteria) เช่น *Bacteroides amylophilus* , *Bacteroides rumenicola* เนื่องจากโปรโตซัวมีผลกระทบด้านลบ (negative effect) ต่อ amylolytic bacteria โดยที่ entodiniomorphid protozoa สามารถกลืนกินเม็ดแป้ง (starch granules) ได้เป็นจำนวนมากโดยใช้เวลาอย่างรวดเร็ว (Kurihara et al., 1978) ซึ่งทำให้บทบาท ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากแป้งของ amylolytic bacteria นอกจากนี้การกลืนกินและการย่อยสลายแป้งของโปรโตซัวจะกลืนกิน amylolytic bacteria ที่ยึดเกาะอยู่ที่เม็ดแป้งไปพร้อมกันด้วย (selective predation , nutrient competitive) (Tsuda et al., 1991) เมื่อทำการศึกษาโปรโตซัวกลุ่ม A – type ซึ่งกลุ่มหลักโดยส่วนใหญ่คือ *P. multivesiculatum* เป็นกลุ่มที่ชอบกลืนกิน cellulolytic bacteria (*Butyrivibrio fibrisolvens* , *Ruminococcus flavefaciens*) มากกว่าแบคทีเรียกลุ่ม amylolytic (*Selenomonas ruminantium* , *Streptococcus bovis*) (Coleman and Sanford, 1979) และภายใต้

สภาวะ เดียวกันประชากร โปรโตซัวที่ย่อยสลายเซลลูโลส (cellulolytic protozoa) ชนิด B – type (*Epidinium ecaudatum*, *Eremoplastron bovis*, *Eudiplodinium maggii*) กลับกลืนกินแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ช้ากว่า ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า A – Type protozoa จะกลืนกินแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้มากกว่า B – type protozoa

นอกจากนี้แล้วยังสามารถที่จะพบ methanogenic bacteria ได้ที่บริเวณส่วนผิวของ entodiniomorphid protozoa (Vogels et al., 1980) เมื่อประมาณอย่างหยาบ คิดเป็น 10 – 20 % (Stumm et al., 1982) โดยที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรเจนในกระเพาะหมัก อาจเป็นอีกปัจจัยที่ควบคุมการเข้ายึดเกาะ ของแบคทีเรีย โดยที่แบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ประโยชน์จากไฮโดรเจนที่ได้จากโปรโตซัวโดยตรง (direct transfer of hydrogen) เนื่องจากการสะสมของไฮโดรเจน อาจมีผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของ โปรโตซัว แต่เมื่อถูกใช้ประโยชน์โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะช่วยกระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมของโปรโตซัวได้ (Wolin, 1975 อ้างถึงใน Ushida et al., 1991) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า โปรโตซัวไม่สามารถลดการผลิตแก๊สเมเทนลงได้ แต่การกำจัดโปรโตซัวจะสามารถลดจำนวนของ methanogenesis ได้ 30 – 45 % (Jouany and Ushida, 1999) และโปรโตซัวเดี่ยวๆ (single protozoa) มีความสามารถในการกลืนกินแบคทีเรียได้  $10^2 - 10^4$  เซลล์/ชั่วโมง (Coleman, 1972) ในส่วนของแบคทีเรียโปรตีน (bacteria protein) ที่ถูกใช้ประโยชน์ โดยโปรโตซัวจะถูกย่อยสลายได้เป็นเปปไทด์สายสั้นและกรดแอมมิโนอิสระ ซึ่งจะกลับมารวมตัวเป็นโปรตีนโปรโตซัว (protozoa protein) อีกครั้งและบางส่วนจะกลับมารวมเป็นแบคทีเรียโปรตีนและปลดปล่อยตัวของเหลวในกระเพาะหมักโดยโปรโตซัวอีกครั้งปริมาณที่ปลดปล่อยออกมาคิดเป็น 50% ของแบคทีเรียโปรตีนที่ถูกกลืนกิน โดยโปรโตซัว (Coleman, 1972) นอกจากนี้ Orpin (1983) รายงานว่าโปรโตซัว *Entodinium spp.* มีความสามารถในการกลืนกินซุโอสปอร์ ของเชื้อรา (fungal zoospore) ได้ด้วย

### เชื้อราในกระเพาะหมัก

ภายในกระเพาะหมักกลุ่มเชื้อราที่อาศัยอยู่เป็นกลุ่มที่อยู่ได้ในสภาพไร้ออกซิเจน ความสำคัญของเชื้อราเหล่านี้คือจะสามารถลดการสูญเสียพลังงาน จากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปโดยการเปลี่ยนเอา chitin (ปกติย่อยไม่ได้ย่อยให้เป็นผนังเซลล์ของเชื้อรา) และสามารถเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (ฉลอง, 2541) วงจรชีวิตของเชื้อรากลุ่มนี้ประกอบด้วย

1. motile stage (zoospore) เป็นระยะที่สามารถเคลื่อนไหวได้ โดยอาศัยหางทำหน้าที่ในการพัดโบก
- 2 vegetative stage ( sporangium) เป็นระยะที่มีการยึดเกาะของไรซอยด์ (rhizoids) กับเศษชิ้นส่วนของพืช ซึ่งไรซอยด์จะแทงผ่าน cell wall ของพืชเข้าไปเพื่อทำให้เกิดการหมักของคาร์โบไฮเดรต และทำให้ sporangia มีการพัฒนาจนกระทั่งเข้าสู่ระยะ maturity ก็จะมีการปลดปล่อยซุโอสปอร์ออกมาและมีวงจรชีวิตเช่นเดิม (Orpin, 1975 , Joblin, 1981)

เชื้อราจะเข้าย่อยสลายส่วนของเยื่อใยอาหารเป็นกลุ่มแรกโดยการย่อยจากส่วนด้านในก่อน ซึ่งเชื้อราจะช่วย ลดการยึดเกาะกันแน่นของอนุภาคอาหาร (Akin et al., 1983 อ้างถึงใน เมธา, 2533) ลดความตึงของเส้นใย ทำให้เกิดการแตกของเส้นใยได้ง่ายเมื่อเกิดการเคี้ยวเอื้อง จึงช่วยทำให้แบคทีเรียเข้าย่อยสลายได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อราอาจจะทำลาย hemicellulose – lignin- complex ละลายส่วนของ เพคตินและลิกนิน ออกมา แต่ไม่สามารถย่อยทั้ง เพคตินและลิกนิน ได้ (ฉลอง, 2541, Preston and Leng, 1987) โดยเอนไซม์ที่ปลดปล่อยจากเชื้อรา ซึ่งมีบทบาทในการย่อยสลายเยื่อใย พืชที่สำคัญ เช่น polysaccharidase (endo -  $\beta$  - 1,4 glucanase, exoglucanase, xylanase, cellodextrinase) glycosidase ( $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -fructosidase,  $\beta$ -xylosidase) (Mountfort and Asher, 1985 ; Borneman et al., 1989 ; Gordon and phillips, 1989) ซึ่ง hydrolytic enzymes หลายชนิดทั้ง cellulase , hemicellulase pectinase และ phenolic acidesterase ต่างก็มีบทบาทสำคัญ ในการเข้าย่อยสลาย lignocellulosic ในเนื้อเยื่อพืช ( Ho and Abdullah, 1999) โดย cellulase ที่ปลดปล่อยจากเชื้อรา จะเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อย สลายส่วนของ amorphous และ crystalline cellulose ที่มีอยู่ในส่วนเนื้อเยื่อพืช (Mounfort and Asher, 1985) นอกจากนี้แล้ว Joblin and Williams (1991) รายงานว่าแบคทีเรีย methanogens มีส่วนในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ cellulase จากเชื้อราด้วย ตรงข้ามกับกลุ่มแบคทีเรีย saccharolytic ที่ส่วนใหญ่มีหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสจะลดบทบาทการทำงานของ เชื้อรา Chytridiomycetes ในการย่อยสลายเยื่อใยในกระเพาะหมัก ซึ่งผลกระทบด้านลบ (negative effect) ที่เกิดขึ้นนี้จะมีผลชัดเจนต่อกลุ่มแบคทีเรีย *Ruminococcus*, *Butyrivibrio* และ *Megasphaera* (Ushida, 1993 อ้างถึงใน Ushida et al., 1997) ทั้ง *Ruminococcus flavefaciens* หรือ *Ruminococcus albus* ต่างก็มีผลในการลด cellulolytic activity จากเชื้อราในกลุ่ม *Neocallimastix frontalis* และ *Pyromonas communis* (Joblin and Williams, 1991) อย่างไรก็ตาม ผลของกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลาย



เซลลูโลส ต่อความสามารถ ในการย่อยสลายเยื่อใยในเชื้อรา จะขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ (species) และ สายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรียที่เรี่ยนั้นๆด้วย นอกจากการย่อยสลายเยื่อใย เชื้อราในกระเพาะหมักยังสามารถผลิตเอนไซม์อไมเลส โดยจะพบในเชื้อราที่มีการเจริญ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย cellulose , xylan หรือ soluble sugar ชนิดต่างๆและเมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของแป้งในปริมาณสูง เอนไซม์  $\alpha$ -amylase ที่ผลิตโดย *N. frontalis* จะลดลงพร้อมๆกับระดับของการสะสมกลูโคสที่เพิ่มมากขึ้น (Mountfort and Asher, 1988) ซึ่งอาจเป็นข้อสังเกตได้ว่า  $\alpha$ -amylase ที่ผลิตขึ้นจะมีผลในการยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ ระดับกลูโคสนอกจากนี้ เมธา (2533) พบว่าประชากรของเชื้อรา นั้นจะมีปฏิสัมพันธ์กับประชากรของ โปรโตซัว โดยที่ประชากรเชื้อราจะสูงในกระเพาะหมักของสัตว์ที่ปราศจากโปรโตซัวและเพิ่มการย่อยได้ของวัตถุดิบแห่งประมาณ 18% สุรชัย (2542) รายงานว่า ปริมาณ fungal zoospores ในกระเพาะหมักของ โคมนที่ ได้รับฟางหมักยูเรีย (5%) เป็นอาหารหยาบ อยู่ระหว่าง  $1.3-2.2 \times 10^6$  zoospores /มล.

#### แบคทีเรียในกระเพาะหมัก

เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีปริมาณมากที่สุดในกระเพาะหมัก โดยแบคทีเรียจะมีการกระจายตัวอยู่หลายรูปแบบ ภายในกระเพาะหมัก (Preston and Leng, 1987, ฉลอง, 2542) ได้แก่

1. กลุ่มแบคทีเรียที่ลอยตัวอย่างอิสระ ภายในของเหลวหมุน ประมาณ 30% ของแบคทีเรียทั้งหมด
2. กลุ่มแบคทีเรียที่เกาะยึดติดกับอนุภาคของอาหาร เป็นกลุ่มที่มีปริมาณมากที่สุด ประมาณ 70% ของ แบคทีเรียทั้งหมด
3. แบคทีเรียที่ยึดเกาะกับผนังของกระเพาะหมัก
4. แบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่กับ โปรโตซัว โดยเฉพาะพวก methanogens โดยแบคทีเรียในกระเพาะหมักนั้นสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มได้ ตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น หรือ ผลผลิตที่แบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ได้ เช่น เซลลูโลส เฮโมเซลลูโลส โปรตีน เมทเทน แอมโมเนีย ไวตามิน

#### แบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายเซลลูโลส (cellulolytic bacteria)

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีบทบาทในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โครงสร้าง (structural carbohydrate) โดยเฉพาะ โพลีเมอร์ของเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งคาร์โบไฮเดรตโครงสร้างนี้ เมื่อถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในอัตราที่เหมาะสมมีการกระจายตัวที่ดีจะเป็น

แหล่งพลังงานเสริมที่สำคัญสำหรับโคนมให้ได้พลังงาน ที่เพียงพอต่อความต้องการ (Weimer, 1998) การย่อยสลายเซลลูโลสภายในกระเพาะหมักนั้น แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์กลุ่มแรกที่เข้ายึดเกาะผิวหน้าของอนุภาคเยื่อใยเมื่อเข้ามาสู่กระเพาะหมัก ( Weimer, 1996) ซึ่งแบคทีเรีย 3 สปีชีส์หลักที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลส ได้แก่ *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* และ *Bacteroides succinogens* (Hungate, 1966, Orskov, 1992) การเข้ายึดเกาะที่บริเวณผิวหน้าจะช่วยให้การทำงานของ exoenzyme ที่หลั่งออกมาเพื่อไฮโดรไลซ์เซลลูโลสไปเป็นเซลลูโลเดกซ์ตริน (cellulodextrin) นั้นสามารถเกิดได้อย่างรวดเร็วและนอกจากนี้แล้ว การเข้ายึดเกาะที่ผิวหน้าตามธรรมชาติ (surface-bound-nature) อาจมีส่วนช่วยในการลดการสูญเสียของเอนไซม์เซลลูโลสหรือช่วยลดการจับกีดกันเซลลูโลไลติกแบคทีเรียของโปรโตซัวได้ด้วย (Weimer, 1998) เอนไซม์ที่มีบทบาทในการไฮโดรไลซ์เซลลูโลสนั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น endo cellulase ซึ่งผลิตโดย cellulolytic microorganism เช่น endo- $\beta$ -1,4-glucanase,  $\beta$ -1,4-glucan-glucanohydrolase, carboxymethylcellulase ซึ่ง acid-swollen cellulose และ carboxymethylcellulose เป็นสารตั้งต้นที่จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ endocellulase ได้เป็น cellulodextrins, cellobiose และ glucose (Mackie and White, 1990) ส่วน exocellulase จะพบที่ mycelial ของเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ เช่น exo- $\beta$ -1,4-glucanase,  $\beta$ -1,4-glucan-cellobiohydrolase, cellobiohydrolase โดยที่เอนไซม์เหล่านี้จะทำการย่อยสลาย crystalline cellulose ส่วน glucosidase เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่จะพบได้ในจุลินทรีย์ทั่วไป เช่น cellobiase (aryl -  $\beta$ -glucosidase) โดยเอนไซม์เหล่านี้จะทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ cellobiose, salicin และ esculin ได้เป็น กลูโคส หรือกลูโคโรส ร่วมกับ aromatic residue อื่น (Mackie and White, 1990) นอกจากนี้ยังมี cellulodextrinase จากแบคทีเรียที่ไฮโดรไลซ์กลูโคโรสสายยาวประมาณ 7-8 หน่วย ไปเป็น cellobiose, cellotriose หรือทั้งสอง โดยในแบคทีเรียสปีชีส์ *B. succinogens* นั้นพบว่ามากกว่า 80 % คือเอนไซม์ endoglucanase (carboxy methylcellulase), cellulase, xylanase และ aryl -  $\beta$ -xylosidase (Forsberg et al., 1981) และ จากรายงานของ Change and Thayer (1977) พบว่า encoglucanase จะพบที่บริเวณ extracellular ในแบคทีเรีย *Bacillus* spp. หลายชนิด ขณะที่ cytophaga จะพบเอนไซม์ endoglucanase ที่บริเวณ cytoplasmic , periplasmic หรือที่บริเวณเมมเบรนด้วย อย่างไรก็ตาม จากการศึกษแบบ *in vitro* ขอบเขตการย่อยสลายของเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรดต่าง(pH)ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการระดับความเป็นกรด-ต่างใกล้เคียงระดับที่เป็นกลางเพื่อการเจริญเติบโต (Weimer, 1996) เนื่องจากเมื่อระดับความเป็นกรด-ต่างลดลงจะส่งผลกระทบต่อ

เจริญเติบโตของแบคทีเรีย ทำให้ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสลดต่ำลง Van der Linden et al. (1984) รายงานว่า กระบวนการเมแทบอลิซึมและการมีชีวิตของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรดต่างภายในกระเพาะหมัก โดยระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ที่ระดับ 6.5 ขณะที่แบคทีเรีย 3 สปีชีส์หลักที่มีบทบาทในการย่อยสลายเซลลูโลสจะไม่สามารถเจริญได้เมื่อระดับความเป็นกรดต่างลดลงต่ำกว่า 6.0 (Russell and Dombrowski, 1980; Shi and Weimer, 1992) และจากรายงานของ Hilter and Dehority, (1983), Stewart (1977) พบว่าเมื่อระดับความเป็นกรดต่าง  $\geq 6.3$  แต่แบคทีเรีย *S. bovis* และ *P. ruminicola* พบว่าสามารถเจริญได้ในระดับความเป็นกรดต่าง ระหว่าง 5.0-6.0 (Weimer, 1996) นอกจากนี้ ข้อจำกัดในการย่อยสลายยังเกิดจากปัจจัยด้านปริมาณของเซลลูโลสที่สามารถใช้ประโยชน์ และแบคทีเรียสามารถเข้ายึดเกาะได้อีกด้วย (Weimer, 1998) ดังนั้นกระบวนการหมักโดยอาศัยแบคทีเรียต้องอยู่ภายใต้ระยะเวลาและสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากอาหารสัตว์มีมากที่สุดเพื่อที่จะเปลี่ยนอนุภาคอาหารที่กินเข้าไปให้เป็นกรดไขมันระเหยได้และจุลินทรีย์โปรตีนซึ่งจะถูกใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต และการสร้างน้ำนม

**แบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายแป้ง (Amyolytic bacteria)**

ธัญพืช เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง ถือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในสูตรอาหารสัตว์ โดยในโคนม เมื่อได้รับอาหารที่มีส่วนของแป้งเป็นองค์ประกอบ แป้งจะถูกหมักอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมักและแป้งก็จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้ง เช่น *S. bovis*, *Bacteriodes ruminicola* เป็นต้น (Hungate, 1966; Cotta, 1988) เช่น *S. bovis* จัดว่าเป็นสปีชีส์ที่มีความสำคัญมากในกลุ่มนี้ เนื่องจาก สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบ และมีความสามารถในการผลิต เอนไซม์  $\alpha$ -amylase (Cotta, 1988) โดยปกติแล้ว แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งนั้น จะมีการตอบสนองต่ออัตราการเปลี่ยนแปลงของระดับ ความเป็นกรด -ต่าง ในกระเพาะหมักได้ต่ำกว่า เซลลูโลสไลติกแบคทีเรีย ในขณะที่อัตราการเข้ายึดเกาะและการย่อยสลายโดยแป้ง ขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัย ได้แก่ ชนิดของแป้ง และกรรมวิธีรวมถึงกระบวนการในการแปรรูปแป้งด้วย (Orskov, 1992) โดยแบคทีเรียจะสามารถยึดเกาะ เม็ดแป้งหรือแป้งที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (amylpectin) ได้ดีกว่า จากรายงานของ Kotashi et al. (1992) ทำการจำแนก อไมโลไลติก แบคทีเรีย 15 สายพันธุ์ (strains) ในกลุ่มนี้มี 8 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ amylase ได้ ซึ่งสปีชีส์ของแบคทีเรียที่เข้ายึดเกาะกับเม็ดแป้ง (starch granules) นั้นจะมี ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์อไมเลสจะสูงกว่า

แบคทีเรียที่ไม่ได้ยึดเกาะกับเม็ดแป้ง (Minato and Suto, 1979 อ้างโดย McAllister et al, 1994) โดยเมื่อทำการศึกษาโดยการใช่ pure culture พบว่าแบคทีเรีย *S. bovis*, *Ruminobacter amylophilus* และ *B. fibrisolvens* มีความจำเพาะในการเกาะยึดกับเม็ดแป้งที่ต่างบริเวณกัน (McAllister, 1990) เมื่อแบคทีเรียเข้ายึดเกาะกับธัญพืชจะเกิด colonization และผลิตเอนไซม์ ซึ่งมีทั้ง exo- และ endo- enzyme ซึ่งสามารถไฮโดรไลซ์พันธะ  $\alpha$  1-4 และ  $\alpha$  1-6 ของ อะไมโลสและอะไมโลเพคตินได้ (Huntington, 1997) ผลจากการย่อยสลายแป้งเพื่อได้น้ำตาล โมเลกุลเดี่ยวจะต้องอาศัยการทำงานร่วมกัน ระหว่างแบคทีเรียหลายสปีชีส์ โดย Cotta (1992) รายงานว่า ทั้ง *S. bovis*, *B. ruminicola* และ *Selenomonas ruminantium* ต่างก็เป็นกลุ่มที่บทบาท ร่วมกันเพื่อทำให้ กระบวนการย่อยสลายแป้งเกิดได้ อย่างสมบูรณ์และอัตราการเจริญของ แบคทีเรียเหล่านี้ก็มีค่าสูงสุดเช่นกัน โดย *S. bovis* จะไม่จำเพาะต่อบริเวณที่เข้ายึดเกาะอาจจะ เกาะทั้ง starch granules และ protein matrix ขณะที่ *R. amylophilus* จะมีความจำเพาะต่อ บริเวณยึดเกาะที่บริเวณผิวหน้าของ starch granules จึงอาจกล่าวได้ว่าศักยภาพของอะไมโลไลติก แบคทีเรียในการย่อยสลายแป้งจะมีความแตกต่างกันตามสปีชีส์ของแบคทีเรานั้น

#### แบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria)

การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่อยู่ ภายในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะแบคทีเรีย ทำการย่อยโปรตีนได้เปปไทด์ กรดอะมิโน โดยมากกว่า 80 %ของแบคทีเรียในกระเพาะหมักใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งของไนโตรเจนเพื่อ การเจริญเติบโตและสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน (Morrisson and Mackie, 1996) โดยความจำเพาะของแบคทีเรียในการย่อยสลายโปรตีนมีมากกว่าการทำงานของโปรโตซัว (Brock et al. 1982) เอนไซม์ protease จะถูกผลิตโดยแบคทีเรียแกรมลบส่วน extracellular enzyme จะผลิตโดยแบคทีเรียแกรมบวก (Allisson, 1970) เอนไซม์เปปติเดส (peptidase) ที่ทำ การย่อยเปปไทด์ สายยาวในกระเพาะหมักจะถูกหลั่งจากแบคทีเรียเป็นแห่งแรกและมีความจำเพาะต่อโอลิโกเปปไทด์ (oligopeptide) ที่อยู่ในของเหลวรูเมน (Wallace, 1994) กลุ่มแบคทีเรียที่มีบทบาทหลักในการย่อยสลายโปรตีนพบว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถย่อย สลายอาหารพวกแป้งด้วย เช่น จีนิส *Prevotella*, *Butyrivibrio*, *Selenomonas* และ *Streptococcus* (Russell et. al., 1981 Hazlewood et. al., 1983, Cotta and Russell, 1997) โดยมีสปีชีส์ที่สำคัญ คือ *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amylophilus* และ *Butyrivibrio fibrisolvens* ซึ่งระดับ ความเป็นกรด - ด่าง (pH) ภายในกระเพาะหมักก็ส่งผลต่อปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มนี้ โดยที่ ระดับ pH 6.0-7.0 ปริมาณ proteolytic bacteria อยู่ระหว่าง  $0.5-1 \times 10^8$  เซลล์/มล. แต่เมื่อระดับ pH

3. ไนโตรเจนจากโปรตีนไม่แท้ (NPN) มีหลายชนิด เช่น ยูเรีย (urea) ไบยูเรต (biuret) กรดอะมิโน (amino acid) เปปไทด์ (peptide) เอมีน (amines) volatile amine , ammonium salt , ไนเตรท, ไนไตรท์

อาหารโปรตีนที่สัตว์ได้รับแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในของเหลวในกระเพาะหมัก หรือมีการย่อยสลายได้น้อย (insoluble protein) และกลุ่มโปรตีนที่ย่อยสลายได้ง่าย (soluble protein) เช่น serum albumin , oval albumin , chloroplast protein extract และ โปรตีนที่ย่อยสลาย จากวัตถุดิบอาหาร เช่น กากถั่วเหลือง ( Preston and Leng, 1987 ; Leng and Nolan, 1984 ) ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมดในพืชอาหารสัตว์จะอยู่ในรูปของโปรตีนแท้ ที่เหลือจะเป็นส่วนของ ไนโตรเจนจากโปรตีนไม่แท้ที่ย่อยสลายเร็ว (soluble NPN) ซึ่งปริมาณจะแตกต่างกันออกไป (Van Soest, 1982 )

#### การย่อยสลายอาหารโปรตีนในกระเพาะหมัก

ความสามารถในการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนขึ้นอยู่กับความสามารถในการย่อยสลายได้ (solubility) สารประกอบไนโตรเจน 20-60 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสามารถย่อยสลายได้ในสารละลายที่เป็นบัฟเฟอร์ (Timminga, 1979) นอกจากนี้โปรตีนที่ย่อยสลายได้ง่ายแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการย่อยสลายได้แตกต่างกันซึ่ง Mahadevan et. al. (1980) ให้เหตุผลว่าขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของโครงสร้างโปรตีนนั้น โดยเฉพาะพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) ในโปรตีนซึ่งมีอิทธิพลอย่างมากต่อการย่อยโปรตีนโดยจุลินทรีย์ในรูเมน โครงสร้าง ของโปรตีนที่เป็นโครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) หรือโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) รวมถึงความหนาแน่นของ cross-linkage ภายในโมเลกุล (Wallace and Kopechny, 1983) ก็มีผลต่อความสามารถในการย่อยสลาย ของโปรตีนเช่นกัน

อาหารโปรตีนที่เข้าสู่กระเพาะหมักจะมีความสามารถในการถูกย่อยสลายและไม่ถูกย่อยสลายแตกต่างกัน การย่อยสลายโปรตีนไปเป็น เปปไทด์ และกรดแอมมิโนโดยใช้ เอนไซม์ protease และ pepidase จากแบคทีเรีย (Preston and Leng, 1987) รวมทั้งการทำงานของโปรตีนตัวช่วยร่วมด้วย (Boderick, 1996) ซึ่งโพลีเปปไทด์สายยาวของโปรตีนจะถูกทำให้แตกแยกออกโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสตรงพันธะเปปไทด์ (proteolysis) ได้เป็นเปปไทด์และกรดแอมมิโน ( Timminga, 1974) ซึ่งกระบวนการย่อยสลายนี้นี้มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งความสามารถในการละลาย, ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ภายในกระเพาะหมักที่เหมาะสม (Isaacs and Owen, 1972) ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเข้าย่อยสลายโปรตีนจะอยู่ระหว่าง 6.0-7.0 โปรตีนจะถูกไฮโดรไลซ์ (Wallace et al., 1987b) เป็น

เปปไทด์และกรดแอมมิโนต่อจากนั้นจะมีการผลิตแอมโมเนีย และกรดอินทรีย์ โดยกระบวนการดีแอมมิเนชัน (deamination) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าที่ระดับความเป็นกรด - ด่าง ต่ำกว่า 4.5 และสูงกว่า 7.5 กระบวนการนี้จะไม่สามารถทำงานได้ (Lewis and Emery, 1972 อ้างโดย Timmga, 1979) และ Leng and Preston (1984) เสนอว่าการศึกษเกี่ยวกับขนาดของอนุภาคโปรตีนที่ย่อยสลายในกระเพาะหมักนั้นมีอยู่น้อยส่วนใหญ่จะเน้นความสนใจในช่วงเวลาที่โปรตีนถูกหมักในกระเพาะหมัก อัตราการละลายได้และการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์นอกจากนี้ปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมีต่างๆมีผลต่อการย่อยสลายของโปรตีน เช่น จำนวนตำแหน่งของการไฮโดรไลซ์ที่สามารถเกิดขึ้นได้ภายในโมเลกุลของโปรตีนรวมถึงความเข้มข้นของเอนไซม์และ ค่าความเป็นกรด - ด่าง (Preston and Leng, 1987) และในส่วนที่เกี่ยวกับการละลายได้ของโปรตีนพบว่าใน กากถั่วเหลือง มีปริมาณของ albumins กับ globulins อยู่สูงจึงทำให้กากถั่วเหลืองมีความสามารถในการละลายได้ในกระเพาะหมักสูง (Van Soest, 1982) ซึ่ง Wohlt et al. (1976) อธิบายถึงความสามารถในการละลายของโปรตีนว่า อาจมีส่วนสัมพันธ์กันเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง ปริมาณของ albumins และ globulins และปริมาณของ prolamins และ globulins เป็นองค์ประกอบหลักจะมีความสามารถในการละลาย ได้สูงกว่าอาหารที่มี prolamins และ glutelins เป็นองค์ประกอบ

#### จุลินทรีย์วิทยาในการย่อยสลายอาหารโปรตีนในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายโปรตีน โดยแบคทีเรีย กระบวนการย่อยสลายโปรตีน ในกระเพาะหมัก โดยอาศัยแบคทีเรียดังกล่าวเกิดขึ้น โดยการดูดซึม โปรตีนที่ละลายได้จากกระเพาะหมักเข้าสู่ชั้นผนังของแบคทีเรีย (Wallace, 1985) จากนั้นจะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ protease ออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular) (Morrison and Mackie, 1996) และยังพบว่าบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ pepidase และ protease จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacteroides rumenicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens* และ *Bacteroides amylophilus* จะเกิดที่บริเวณ inner membrane (Kopečný and Wallace, 1982 ; Strydom et al., 1986) ดังนั้นจึงอาจบอกได้ว่า บทบาทการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรียในการย่อยสลายโปรตีนประกอบด้วยสองส่วน โดยในส่วนของ การย่อยสลายโปรตีนภายนอก (exogenous protein) จะทำให้มีขนาดเล็กลง เพื่อให้โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่และที่ไม่สามารถผ่าน outer membrane ซึ่งบริเวณนี้ จะมีความสามารถในการจำกัดการเลือกผ่านสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงทำให้โปรตีนเหล่านั้นสามารถใช้ประโยชน์ได้โดยแบคทีเรีย แต่ในส่วนของ โปรตีนที่ละลายได้ จะไม่ถูกจำกัดและ

จะมีความสามารถในการผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของ *B. amylophilus* ได้เลย ส่วน exoenzyme ปริมาณเล็กน้อย บางทีอาจมีส่วนช่วยในการย่อยสลาย โปรตีนเป็น oligopeptides ซึ่งจะถูกจับโดยเอนไซม์ protease จาก inner membrane แต่อาจพบเพียงเล็กน้อยจากการทำงานร่วมกันเอนไซม์ จากแบคทีเรีย หลายชนิดภายในกระเพาะหมัก (Kopečný and Wallace, 1982) นอกจากนี้การย่อย สลายโปรตีนโดยแบคทีเรีย *Prevotella ruminicola* จะเกิดบริเวณผนังเซลล์ ดังนั้นการย่อยสลายที่เกิดขึ้นจะเป็นการเข้ายึดเกาะกับสารตั้งต้น โปรตีนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้หรือการดูดซึมเอาโปรตีนที่ละลายได้เข้าเซลล์ (Griswold and Mackie, 1997) ซึ่งเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญที่หลัง โดยแบคทีเรียได้แก่ cysteine proteinase ( Kopečný and Wallace, 1982) นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ serine metalloprotease บ้าง ( Wallace et al., 1999; Brock et al., 1982 )

โปรตีนสายยาวจะถูกทำให้เล็กลงโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสที่พันธะเปปไทด์ได้เป็นเปปไทด์และกรด แอมมิโน จากนั้นเปปไทด์จะถูกไฮโดรไลซ์ต่อไปได้เป็นกรดแอมมิโน และกรดแอมมิโนจะถูกนำมารวมกับแบคทีเรียโปรตีน หรือถูกย่อยสลายต่อเป็นกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid; VFA) แอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) คาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) แก๊สมีเทน ( $\text{CH}_4$ ) รวมถึงความร้อนจากกระบวนการหมัก (Timminga, 1979 ) ซึ่งบทบาทของแบคทีเรีย ในการย่อยโปรตีนภายในกระเพาะหมักนั้นพบว่ามากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรีย ทั้งหมดภายในกระเพาะหมักมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ (Wallace and Brammall, 1985) และเอนไซม์ protease ที่หลังจากแบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีความแตกต่างกัน Blackburn (1968) อ้างโดย Wallace (1996) พบว่าเอนไซม์ protease จาก *B. amylophilus* สายพันธุ์ H18 มีคุณสมบัติความจำเพาะคล้ายกับเอนไซม์ trypsin ในขณะที่ *B. ruminicola* สายพันธุ์ R8/4 จะหลั่งเอนไซม์ cystein proteinases และ aspartic proteinases ( Hazlewood and Edward, 1981 ) นอกจากนี้ยังพบว่า ถึงแม้จะเป็นเชื้อชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ก็ทำให้ความสามารถในการย่อยสลายก็แตกต่างกันด้วย ซึ่ง Cotta and Hespell (1986) ทำการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนของ *B. fibrisolvans* สายพันธุ์ SH 13 จะสามารถหลั่งเอนไซม์ serine proteinase ได้ดีกว่า ส่วน *B. fibrisolvans* JW 11 จะหลั่งเอนไซม์ cystein proteinase ได้มากกว่า จึงทำให้กระบวนการหมักและการย่อยสลายที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน ทำให้ค่าความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนแตกต่างกัน และ Chen et al. (1987) ได้ทำการศึกษา โดยการรวมแบคทีเรีย รumen หลายชนิด ให้ทำงานร่วมกัน พบว่าพันธะ hydrophilic peptide จะถูกย่อยสลายและใช้ประโยชน์ได้อย่างมี

ประสิทธิภาพมากกว่า พันธะhydrophobic peptide นอกจากที่กล่าวมาแล้วอาหารที่สัตว์ได้รับก็มีบทบาทต่อการทำงานของเอนไซม์ protease ด้วย โดยต่ำกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ของการทำงานของเอนไซม์ในของเหลวในรูเมนในสัตว์ที่ได้รับมันเฮย์ และอาหารข้นจะเกิดขึ้นในส่วน of strain rumen fluid (SRF) ส่วนที่เหลือจะเกิดและสัมพันธ์กับชิ้นส่วนของอาหารภายในรูเมนซึ่งจะสังเกตได้ว่าการทำงานของเอนไซม์ protease ที่เกิดจะสัมพันธ์กับอาหารเฮย์ที่สัตว์ได้รับด้วย ( Brock et al., 1982 ) ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโปรตีนโดยเฉพาะแบคทีเรียจะถูกรักษาไว้โดยอนุภาคเล็กๆ ซึ่งอาจจะใช้อธิบายถึงปริมาณของแบคทีเรียที่ทำการยึดเกาะอยู่กับอนุภาคของอาหารที่พบได้ในแบคทีเรียที่ทำการย่อยสลายโปรตีนหลายกลุ่ม

#### การย่อยสลายโปรตีนโดยโปรโตซัวและบทบาทของโปรโตซัวในการย่อยสลายโปรตีน

พบว่าโปรโตซัวมีความสามารถในการกินอาหารที่มีอนุภาคขนาดเล็กรวมทั้งแบคทีเรีย (Leng and Nolan, 1984) ซึ่ง Hino and Russell (1987) พบว่าโปรโตซัวมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอนุภาค และจุลินทรีย์โปรตีน นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด ซึ่งต่างก็มีความจำเพาะแตกต่างกันออกไป โดย Morrison and Mackie (1996) รายงานว่าโปรโตซัวสามารถผลิตเอนไซม์ serine proteinases และ aspartic proteases ได้ ซึ่งความสามารถของโปรโตซัว ในการย่อยสลายอาหารโปรตีนจะเกิดโดยการดึงเอาอาหารผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของโปรโตซัวเอง Wallace et al. (1987) พบว่าโปรโตซัวสามารถเพิ่มปริมาณของแอมโมเนียในรูเมนได้ เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างไม่มีกำจัดโปรโตซัว (faunated) และมีการกำจัดโปรโตซัว (defaunated) โดยพบว่าในกลุ่ม faunated การทำงานของเอนไซม์ deaminase เกิดขึ้นสูงกว่า แต่หากเปรียบเทียบกับระหว่างแบคทีเรียและโปรโตซัว พบว่าการทำงานของเอนไซม์ deaminase ใน cell free protozoal extract จะสูงกว่าในส่วน of แบคทีเรีย แต่ปริมาณการผลิตแอมโมเนียจากโปรตีนในแบคทีเรียจะสูงกว่า protozoa (Hino and Russell, 1987) ซึ่งโปรโตซัวแต่ละกลุ่ม ก็มีความสามารถในการย่อยสลายอาหารโปรตีนแตกต่างกันไปจากรายงานของ Jouany et al. (1992) ที่ทำการศึกษาถึง ผลของแหล่งอาหารโปรตีนที่แตกต่างกันต่อการใช้ประโยชน์และการเจริญเติบโตของโปรโตซัว โดยจากการศึกษาใน *in vitro* พบว่าโปรโตซัวกลุ่ม entodiniomorphid ciliated จะไม่เมทาบอไลต์โปรตีนที่ละลายได้และไม่พบการเจริญเติบโตโดยกเว้นเมื่อมีการเสริมโปรตีนที่ไม่ละลายลงไป ด้วยซึ่งกล่าวได้ว่า entodiniomorphid ciliated มีความสามารถสูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ในการย่อยสลายอนุภาค โปรตีนที่ไม่ละลาย และบทบาทการทำงานจะลดลงเรื่อยๆและจากการศึกษา



ใน *in vitro* เมื่อใช้ ปลาป่น กากถั่วเหลือง lupin และ peanut meal เป็นแหล่งโปรตีนของ โปรโตซัว ทั้งกลุ่ม A – type protozoa และ B – type protozoa พบว่า มีการผลิตแอมโมเนีย ได้ในปริมาณที่สูง ในกลุ่มของเหลวจากกระเพาะหมักที่ได้จากแกะที่ไม่มีการกำจัด โปรโตซัว เมื่อเปรียบเทียบกับแกะที่มีการกำจัด โปรโตซัว ( Machlowski ,1989 อ้างถึงใน Jouany , 1996 ) เนื่องจากโปรตีนที่ไม่ละลาย ซึ่งโปรโตซัวได้รับจะถูกย่อยสลายภายในเซลล์ของ entodiniomorphid protozoa โดยการทำงานของเอนไซม์ protease ซึ่งมีระดับความเข้มข้นสูง มากและเมื่อถูกหลั่งออกสู่ของเหลวในกระเพาะ หมัก จะไม่ถูกกำจัด (Jouany, 1996)

นอกจากนี้ โปรโตซัวในกลุ่ม holotrich ก็พบว่ามี การสร้างเอนไซม์ protease ได้ หลายรูปแบบ (Lockwood et al., 1988) โดยในกลุ่ม *Isotricha* spp. เมื่อทำการเพาะเลี้ยง ในของเหลวรูเมน ที่ได้จากโคที่มีการกำจัด โปรโตซัว ( defaunated cattle ) ที่ได้รับอาหาร โปรตีนต่างกัน 3 ชนิด เพื่อทำการเปรียบเทียบกับ กลุ่มที่มี โปรโตซัวกลุ่ม B – type protozoa พบว่า *Isotricha* spp. จะลดการผลิตแอมโมเนียลง 25 , 33 และ 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับ อาหารโปรตีน ปลาป่น กากถั่วลิสง และ เคซีน ตามลำดับ (Jouany, 1992) ซึ่งจะเห็นได้ว่า โปรโตซัวกลุ่ม holotrichs จะสามารถย่อยสลายเคซีนซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งตรงกันข้ามกับการทำงานของ *Entodiniomorphids onodera* and *Kandatsu* (1970) อ้าง โดย Jouany (1996) กล่าวว่าการเพิ่มของ *Isotricha* spp. ในกระเพาะหมักที่มีการกำจัด โปรโตซัวจะเป็นการลดบทบาทของเอนไซม์ จากแบคทีเรียที่ย่อยสลายกรดแอมมิโน ทำให้ ปริมาณของแอมโมเนียเพิ่มมากขึ้นจากการใช้ประโยชน์ จากแหล่งโปรตีนที่ละลายได้ ส่วน โปรโตซัวในกลุ่ม *Ophryoscolecids* เช่น *Eudiplodium* หรือการใช้ *epidinium* ร่วมกับ *endinium* ทำการเพาะเลี้ยง ในของเหลวจากกระเพาะหมักที่มีการกำจัด โปรโตซัว แต่ไม่พบ ความแตกต่างในส่วนของการย่อยสลาย และกระบวนการหมักของแหล่งอาหารโปรตีน ปลาป่นและกากถั่วเหลือง

แบคทีเรียโปรตีนที่ถูกกินจะย่อยสลายภายในเซลล์ของ โปรโตซัวได้เป็นเปปไทด์ ขนาดเล็กมากกว่ากรด แอมมิโนอิสระและจะกลับมารวมตัวกันเป็น โปรโตซัวโปรตีน (Coleman, 1972) โดยเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลาย แบคทีเรียโปรตีนจะถูกปลดปล่อยโดย โปรโตซัว *Entodinium caudatum* ในรูปของ N – acetylated และ N – formyl peptides (Wallace et al., 1993) และกระบวนการ decarboxylation และ กระบวนการ deamination ของกรดอะมิโนนั้นจะเกิดขึ้นภายในเซลล์ของ โปรโตซัว

การย่อยสลายโปรตีนโดยเชื้อรา จากรายงานของ Wallace and Joblin (1985 อ้างถึงใน Morrisson and Mackie (1997) พบว่า anaerobic fungus *Neocalesmastrix frontalis* สามารถผลิตเอนไซม์ metalloprotease สำหรับย่อยสลายโปรตีนแต่กระบวนการที่เกิดขึ้นนั้นเกิดไม่สมบูรณ์ในหลายสปีชีส์ซึ่ง Hungate (1966) รายงานว่าเชื้อราที่อยู่ภายในกระเพาะหมักจะมีการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนโดยการปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ซึ่งเป็นเอนไซม์ metalloprotease โดยมี สังกะสี (Zn) เป็นโค - เอนไซม์ (co - enzyme) โดยที่บทบาทการทำงานของเอนไซม์จะคล้ายคลึงกับเอนไซม์ trypsin แต่เอนไซม์ metalloprotease จะย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักได้ต่ำ

#### การย่อยสลายเปปไทด์ในกระเพาะหมัก

เปปไทด์เป็นสารตัวกลางที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนภายในกระเพาะหมักจากการทำงานของเอนไซม์ proteinase ที่หลั่งโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Wallace et al., 1999) และการย่อยสลายเปปไทด์สายยาว (oligopeptide) ภายในกระเพาะหมักนั้น พบว่าเอนไซม์ peptidase ที่ถูกปลดปล่อย โดยแบคทีเรียจะมีบทบาทที่สำคัญเป็นหลัก ในขณะที่โปรโตซัวจะหลั่งเอนไซม์ซึ่งมีความจำเพาะต่อ (dipeptide) มากกว่า (Wallace, 1994) กลไกหลักที่สำคัญของการย่อยสลายเปปไทด์ ภายในกระเพาะหมักนั้นจะอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก โดยเอนไซม์หลักที่สำคัญในการตัดแบ่งเปปไทด์สายยาวเพื่อให้ได้เปปไทด์สายสั้นคือ dipeptidyl peptidase (DPP) โดยจะทำการตัด dipeptide ที่ด้าน N - terminus ของเปปไทด์สายยาว (Wallace and McKain, 1989) ซึ่ง dipeptides รวมทั้ง tripeptides ที่ถูกปลดปล่อยออกมา จากการดำเนินงานของเอนไซม์ DPP นั้นจะถูกตัดแบ่งต่อโดยการทำงานของเอนไซม์ dipeptidase และ tripeptidase เพื่อให้ได้เป็นกรดแอมมิโนอิสระ (Wallace, 1996) dipeptidase ที่ปลดปล่อยจาก *P. ruminicola* นั้นเป็น metallopeptidase (Wallace et al., 1995 อ้างโดย Wallace, 1996) โดย จุลินทรีย์ที่มีการปลดปล่อยเอนไซม์ DPP คือ แบคทีเรีย genus Prevotella และสปีชีส์ที่มีบทบาทสำคัญคือ *P. ruminicola* ซึ่งสามารถจะปลดปล่อย DPP- 1 และ Ala-DPP ที่มีประสิทธิภาพการทำงานสูง (Wallace and McKain, 1989) อย่างไรก็ตาม เอนไซม์ DPP ยังสามารถพบได้ในแบคทีเรียอีกหลายสปีชีส์ รวมทั้งโปรโตซัวในรูเมนด้วยเปปไทด์ที่ต่างชนิดกันจะทำให้ถูกย่อยสลายในอัตราที่แตกต่างกันด้วย โดยพบว่าโครงสร้างทางด้าน N - terminus เป็นจุดสำคัญที่จะบอกถึงอัตราการย่อยสลายที่รวดเร็วของเปปไทด์ซึ่งหากกรดอะมิโน glycine และ proline ปรากฏอยู่ที่ด้าน N - terminus หรืออยู่ถัดมาจาก N - terminus รวมทั้งถ้าเปปไทด์นั้นมีประจุเป็นลบ พบว่าเปปไทด์ที่มี

คุณสมบัติเช่นนี้ มีแนวโน้มที่จะย่อยสลายได้ช้า (Yang and Russell, 1992 ; Wallace and McKain , 1989) และเปปไทด์ที่ถูกบล็อกที่ปลายด้าน N - terminus หรือประกอบด้วย N-formyl หรือ N-acetyl group ก็จะมีผลทำให้เปปไทด์นั้นย่อยสลายได้ช้าลงด้วย อย่างไรก็ตาม Chen et al. (1987); Wallace and McKain, (1990 ) พบว่า isopropanol extract จากเอนไซม์ trypsinase จะประกอบด้วยส่วนของ hydrophobic amino acid residues อยู่สูงทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ช้ากว่าเปปไทด์ซึ่งมีคุณสมบัติ ละลายในน้ำได้ (water soluble peptide) ดังนั้นคุณสมบัติไม่ชอบน้ำหรือละลายน้ำได้ยาก (hydrophobicity) ของเปปไทด์จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะบ่งบอกถึงอัตราการย่อยสลายของของเปปไทด์ได้

#### การย่อยสลายกรดแอมมิโนในกระเพาะหมัก

กรดแอมมิโนส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลายเป็นแอมโมเนียโดยจุลินทรีย์รวม(mixed rumen organisms) และถูกนำไปสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีนด้วย (Leng and Nolan, 1984 ; Chalupa, 1976) ซึ่งกรดอะมิโนที่ถูกย่อยสลายโดยกลุ่มของแบคทีเรียที่สำคัญในรูเมน คือ *Megasphaera elsdenii* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้สูง (Cotta and rusell, 1982 ) ส่วนแบคทีเรีย *B. ruminicola* , *Sellomonas ruminantium* , *B. fibrisolvans* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้น้อยแต่ก็มีบทบาทสำคัญเป็นชนิดของแบคทีเรียที่พบมากในกระเพาะหมัก (Cotta and Russell, 1982 ; Wallace and Cotta, 1988 ) อย่างไรก็ตามทั้งเปปไทด์ และกรดแอมมิโนต่างก็ถูกใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจนและ แหล่งของพลังงานสำหรับแบคทีเรียหลายชนิด ความสามารถในการย่อยสลายกรดอะมิโนนั้นพบว่าชนิดของกรดอะมิโนก็มีผลต่อการย่อยสลายโดยกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น ได้แก่ glutamic acid , aspartic acid , ornithine และ alanine เป็นกลุ่มกรดอะมิโนที่มีการย่อยสลายอย่างรวดเร็วที่สุดในสภาพปกติของกระเพาะหมัก (Chalupa, 1976) การย่อยสลายกรดแอมมิโนแล้วได้เป็นแอมโมเนียนั้นยังได้สารที่ช่วยในปฏิกิริยา redox หลายชนิด รวมถึงปฏิกิริยา transamination ด้วย เช่น nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) และ nicotinamide dinucleotide (NAD) (Hino and Russell, 1985 ) และหากเติมสารพวก ionophore ลงไปในอาหารพบว่า ionophore จะไปจำกัดการทำงานของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก ทำให้ความสามารถในการย่อยสลายกรดแอมมิโนลดลง ซึ่งจะมีผลดีในการช่วยเพิ่มปริมาณของกรดอะมิโนไหลผ่านลงสู่ทางเดินอาหารส่วนหลัง นอกจากนี้แล้วจากการศึกษาใน *in vitro* โปรตีนตัวช่วยในกระเพาะหมักก็มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในการสลายย่อยสลายกรดแอมมิโนได้ดีกว่าแบคทีเรีย(Hino and rusell, 1985) และในเเคสเอนไซม์

### แอมโมเนียในกระเพาะหมัก

แอมโมเนียเป็นผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งแบคทีเรียในกระเพาะหมักส่วนใหญ่จะเลือกใช้ แอมโมเนีย สำหรับการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนซึ่งจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ในทางเดินอาหารส่วนหลังแหล่งของแอมโมเนียในกระเพาะหมักได้จาก เปปไทด์ กรดแอมมิโน หรือ miscellaneous soluble N เช่น ยูเรีย กรดยูริก การย่อยสลายของกรดนิวคลีอิก ในกระเพาะหมักรวมถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมของ โปรโตซัวที่ได้แอมโมเนียเป็นผลผลิตสุดท้าย (Leng and Nolan, 1984) ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักที่เหมาะสมเพื่อให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตสูงสุดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระดับของการให้อาหาร ความถี่ในการให้อาหารความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนในอาหาร แหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่มีและรวมถึงแหล่งแร่ธาตุด้วย (เมธา, 2533) หากระดับของแอมโมเนียมีความเหมาะสม จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก โดยจุลินทรีย์ Satter and Slyter (1974) รายงานว่าที่ระดับแอมโมเนีย 50-80 มิลลิกรัมแอมโมเนีย-ไนโตรเจน/ลิตร ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สูงสุด Kanjanapruthipong and Leng (1998) รายงานว่า ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (microbial protein synthesis) ในกระเพาะหมักของแกะสูงสุดเมื่อระดับของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนมากกว่า 200 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร สำหรับในกระบือปัดัก Wanapat and Pimpa (1999) รายงานถึงระดับที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 13.6-17.6 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของนิเวศน์วิทยาภายในกระเพาะหมัก (rumen ecology) และทำให้การกินได้การย่อยได้ของฟางสูงสุด นอกจากนี้จะใช้ประโยชน์สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่แล้วแอมโมเนียก็ยังถูกดูดซึมผ่านผนังของ reticulo-rumen เพื่อเปลี่ยนกลับเป็นยูเรียภายในตับเพื่อเป็นการหมุนเวียนไนโตรเจนสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องแต่ก็ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่าง degradable และ undegradable protein ที่สัตว์ได้รับด้วย

### 2.4 การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

จุลินทรีย์โปรตีนเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในกระเพาะหมักซึ่งหมายถึงโปรตีนที่อยู่ในตัวของแบคทีเรีย หรือโปรโตซัว Kaufman and LuppIng (1982)อ้างถึงใน จลอง(2541) ประเมินว่า โปรตีนของแบคทีเรียจะถูกสร้างขึ้น 22 กรัม / 10 กรัมของอินทรีย์วัตถุที่ย่อยได้ (digestible organic matter, DOM) การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนจะสังเคราะห์จากกรดแอมมิโนและเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนหรือพวกที่อยู่ในรูปอิสระ นอกจากนี้

ยูเรียร่วมกับอาหารชนิดต่างๆ โดยใช้ระบบ urea fermentation potential (UFP) โดยอาศัยระดับของพลังงานที่ย่อยได้และปริมาณของโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักสามารถใช้สูตรคำนวณหาค่า UFP ของอาหารแต่ละชนิดได้ดังนี้

## 2.6 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและพลังงานในอาหาร

ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและพลังงานในโคนมเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญเนื่องจากทั้งสองแหล่งต่างมีผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและการนำใช้ประโยชน์เพื่อการสร้างผลผลิต โดยเฉพาะช่วงที่โคกำลังให้นมปริมาณและองค์ประกอบของทั้งโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตที่โคได้รับมีความสำคัญมาก (Hoover and Stokes, 1991) การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะหมัก ต้องอาศัยคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน(ATP) ความสมดุลจากการใช้ประโยชน์ของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจะทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนเกิดขึ้นสูงสุด (Aldrich et. al., 1993) ในโคนมที่ให้ผลผลิตสูงเมื่ออาหารที่ได้รับมีสัญญาณซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายได้เร็วในปริมาณที่มากกว่าปริมาณโปรตีนที่ย่อยสลายได้จะเป็นตัวจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าคาร์โบไฮเดรต ( Hoover and Stokes, 1991) แต่เมื่อเพิ่มระดับโปรตีนในอาหาร ที่มีพลังงานเท่ากัน (Isocaloric) การย่อยได้ของโปรตีนและพลังงานจะลดต่ำลง ในสูตรอาหารที่มีโปรตีนต่ำทำให้ระดับพลังงานสุทธิต่ำ (NE) ด้วย(Moore and Tyrrel, 1972 อ้างโดย เมธา, 2533) ปริมาณไนโตรเจนในอาหารที่ระดับที่ต่ำจะเป็นตัวจำกัดปริมาณการกินได้ เนื่องจากไนโตรเจนที่มีไม่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้การทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง ส่งผลให้ปริมาณการกินได้อย่างอิสระถูกจำกัด Stokes et. al.(1991) รายงานว่า การใช้ประโยชน์ได้ของdegradable intake protein (DIP) ขึ้นอยู่กับการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (non structural carbohydrate, NSC) ที่มีในอาหาร ซึ่ง Hoover and stokes (1991) พบว่าระดับการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในกระเพาะหมักควรอยู่ที่ระดับ 14-15 เปอร์เซ็นต์ซึ่งจะเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้สัดส่วนของ DIP ต่อ NSC คือ 10-13 เปอร์เซ็นต์ต่อ 56 เปอร์เซ็นต์เหมาะสมต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนและยังเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุดิบด้วยขณะที่ Stokes et al. (1991) รายงานว่าที่ระดับของ DIP มากกว่า 9 เปอร์เซ็นต์และ NSC มากกว่า 24 เปอร์เซ็นต์ในอาหารจะเพิ่มประสิทธิภาพการไหลผ่านของจุลินทรีย์โปรตีนออกจากกระเพาะหมักและปริมาณการผลิตกรดไขมันระเหยได้ (VFA) จะสูงสุด นอกจากนี้ความสามารถในการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วของแป้งและโปรตีนในกระเพาะหมักก็เป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะช่วยเพิ่ม

ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน Herrera-Saldana and Huber (1989) พบว่าในโคนมที่ได้รับอาหารที่ประกอบไปด้วยโปรตีนและแหล่งพลังงาน ที่จะใช้ประโยชน์เหมือนกัน แต่ปริมาณผลผลิตนมที่ได้จะแตกต่างกัน โดยอาหารแป้งและโปรตีนที่มีความสามารถในการย่อยได้ดีกว่าจะส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของผลผลิตน้ำนม แต่หากมีอาหารโปรตีนที่ย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมัก แต่ไม่เพิ่มปริมาณของแป้งที่ย่อยได้เร็วก็จะมีผลทำให้ผลผลิตน้ำนมในโคนมสูงขึ้น Oldham (1984) ได้สรุปความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนต่อพลังงานที่มีผลต่อการดูดซึมของโภชนะเพื่อใช้ในการผลิตน้ำนมดังนี้

1 เมื่อกรดแอมมิโนมีไม่เพียงพอผลผลิตน้ำนมจะน้อยกว่าปกติ และพลังงานที่มีมากเกินไปไม่สมดุลกับกรดแอมมิโนจะสะสมในรูปไขมันและเกิดการออกซิโดส์ไปทำให้ลดประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของพลังงาน

2 หากกรดแอมมิโนมีสูงเกินไปจะถูกทิ้งไปในน้ำนม ส่วนหนึ่งนอกจากนั้นจะถูก deaminate ทำให้มีการ สูญเสียพลังงานทั้งในขั้นตอนการสังเคราะห์กรดแอมมิโนที่มากเกินไป และการสูญเสียไปในรูปของยูเรีย

ในโคนมกรดแอมมิโน ไลซีน (lysine) และ เมทไธโอนีน (methionine) เป็นกรดแอมมิโนสองตัวแรก ที่มีพบว่ามีความสำคัญต่อการให้ผลผลิตน้ำนมและการเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนในน้ำนม (Schwab, 1995) Rulquin et. al. (1993) พบว่าไลซีนและเมทไธโอนีนเป็นกรดแอมมิโนที่จำเป็นสองตัวแรกในโคนม และพบว่าต้องการไลซีน 15-16 เปอร์เซ็นต์ของกรดแอมมิโนที่จำเป็น หรือ 7.3 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่ถูกลด และดูดซึมในลำไส้เล็กและต้องการ เมทไธโอนีน 5.0-5.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดแอมมิโนที่จำเป็นหรือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่ถูกลดในลำไส้เล็ก

## 2.7 การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของฟางข้าว

ฟางข้าวเป็นผลพลอยได้ทางการเกษตร จากการผลิตข้าว ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของไทย ประมาณกันว่าในแต่ละปี ประเทศไทยจะมีผลผลิตข้าว ไม่ต่ำกว่า 20 ล้านตัน (คิดจากอัตราส่วนข้าวเปลือก : ฟางข้าว = 1: 1) แต่การใช้ฟางข้าวเป็นอาหารสัตว์มีข้อจำกัดเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนะค่อนข้างต่ำ มีโปรตีนหยาบประมาณ 3-4 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างในปริมาณที่สูง และยังมีปริมาณของฟอสฟอรัส และแร่ธาตุที่จำเป็นอยู่ต่ำมาก (Wanapat et al., 1983) นอกจากนี้ ฟางข้าวยังมีโภชนะที่น้อยโดยรวม (total digestible nutrient ,TDN) ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ทำให้เกิดปัญหาในการกินฟาง เพราะฟางมี

พื้นที่ผิวต่ำ ทำให้สัตว์กินฟางได้น้อย ไม่เพียงพอต่อความต้องการของโคชนะ (เมธา,2528) ส่วนประกอบของ เซลในฟางข้าว จะแตกต่างจากฟางข้าวของธัญพืชชนิดอื่น ฟางข้าว ประกอบด้วยเซลลูลอส 79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเซลลูโลส 33 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการจับตัวของ กลูโคสเป็นเซลลูโลสในเซลลูลานั้น เป็นแบบ crystalline ซึ่ง degree of crystallinity มีส่วน สัมพันธ์ทางตรงข้ามกับการย่อยได้ของเซลลูโลส นอกจากนั้นลิกนินซิติลิกายังเป็นส่วนประกอบ ที่สำคัญที่ทำให้การย่อยได้ของฟางลดลง (Devendra, 1982 อ้างถึงใน เมธา,2533) ดังนั้นจึงมี การศึกษาเพื่อพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของฟางข้าวให้มีคุณค่าทาง โภชนะที่สูงขึ้นทำให้สัตว์ สามารถใช้ประโยชน์จากฟางได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี และการทำฟางข้าวหมักด้วยยูเรีย เป็นวิธีทางเคมีที่นิยมใช้ในการ ปรับปรุงคุณค่าทาง โภชนะฟางข้าว ซึ่งเมื่อหมักด้วยยูเรียโปรตีนในฟางข้าวเพิ่มจาก 3-4 เปอร์เซ็นต์เป็น 7-9 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เปอร์เซ็นต์การย่อยได้เพิ่มจาก 46 เปอร์เซ็นต์ เป็น 50-55 เปอร์เซ็นต์และสัตว์ยังสามารถกินฟางได้เพิ่มอีกประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ เป็นการ เพิ่มพลังงานสุทธิสำหรับสัตว์ที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิต (เมธา,2533) ทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารเยื่อใยมีสูงขึ้น

ยูเรีย ( $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ ) เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้แอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์ โดย อาศัยเอนไซม์ ยูรีเอส(urease) จากจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะตามพื้นผิวฟางซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลาย ยูเรีย (ureolytic bacteria) จากนั้นแอมโมเนียจะรวมตัวกับหมู่ไฮดรอกซิล ( $\text{OH}$ -group) ได้เป็น แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) ที่มีคุณสมบัติเป็นด่างและทำให้การเกาะยึดกันของพันธะ คลายตัวลง เมื่อสัตว์ได้รับฟางหมักจุลินทรีย์ที่อยู่ใน กระเพาะหมัก สามารถย่อยสลายฟางข้าว ได้เพิ่มมากขึ้น Promma et al.(1984) เปรียบเทียบการใช้หญ้าสดและฟางหมักยูเรีย (6%) เลี้ยง โคชนม พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติในด้านปริมาณอาหารที่สัตว์กิน เปอร์เซ็นต์ไขมันนม เปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมและ 4%FCM Wanapat (1985) ทำการศึกษาการใช้ฟางหมัก ยูเรีย 3% และ 5% พบว่าปริมาณการกินได้ต่อหน่วยกิโลกรัมต่อวัน และต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวไม่ แตกต่างทางสถิติทั้งในกลุ่ม 3% และ 5% แต่การกินได้ต่อน้ำหนักเมทแทบอลิก ( $\text{g/kgW}^{0.75}$ ) ใน กลุ่มที่ใช้ฟางข้าวหมักยูเรีย 5% สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) การย่อยได้ของวัตถุดิบ แห่ง การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (organic matter, OM) และการย่อยได้ของผนังเซลในกลุ่มที่ ได้รับฟางหมักยูเรีย 5% สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับฟางข้าวหมักยูเรีย 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) การใช้ฟางข้าวหมักยูเรียอาจใช้เป็นอาหารหยาบหลักอย่างเดียวในฤดูแล้งหรือใช้ ร่วมกับอาหารหยาบชนิดอื่น เช่น อ้อยสด ยอดอ้อย จะเป็นการเพิ่มปริมาณการกินได้และ

ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ในที่สุดลักษณะของฟางข้าวหมักยูเรียหลังการหมักควรมีลักษณะอ่อนนุ่ม สีนํ้าตาลเข้มกว่าปกติ มีกลิ่นหอมแอมโมเนีย มีความชื้นประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีเชื้อรา

## 2.8 การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*, Crantz) เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสามารถเจริญได้ดีในดินร่วนปนทราย ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ และยังเป็นพืชที่ทนทาน ต่อความแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี จากรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2542) รายงานพื้นที่ที่เกี่ยวเกี่ยว มันสำปะหลังในช่วงปี 2541-2542 เป็น 6,550 พันไร่และคาดว่าจะเพิ่มเป็น 6847 พันไร่ในปี 2543 และผลผลิตที่ได้จะเพิ่มจาก 15756 พันตัน ในปี 2542 เพิ่มเป็น 16,930 พันตันพื้นที่ที่มีการปลูกมากที่สุดคือ ภาคอีสาน 3923822 ไร่ คิดเป็น 58 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด จังหวัดที่มีการปลูกมากที่สุดคือ นครราชสีมา 1512882 ไร่ รองลงมาคือจังหวัดชัยภูมิ 397831 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2540/2541) ภายหลังการเก็บเกี่ยวหัวมัน ผลพลอยได้หลังการเก็บเกี่ยวคือใบมันสำปะหลังเป็นจำนวนมากซึ่งสามารถเก็บมาตากแห้ง พบว่ามีมีระดับโปรตีนสูงสามารถนำมาใช้เป็นอาหารโปรตีนเสริมสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (Wanapat et al 1989,1992) โดยในใบมันสำปะหลังมีระดับโปรตีนอยู่ระหว่าง 24.9-25.5 เปอร์เซ็นต์ (เมธา, 2530; ปรัชญา, 2531)

**องค์ประกอบและคุณค่าทางโภชนา**

มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีการสะสมอาหารในส่วนราก โดยมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบมากที่สุด เป็นส่วนของแป้ง 64-72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแป้งในมันสำปะหลังมี 2 ชนิด ได้แก่ อไมโลส (amylose) 16-18 เปอร์เซ็นต์ และอไมโลเพกติน (amylopectin) 82-84 เปอร์เซ็นต์ส่วนที่เหลือเป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น ซูโครส มอลโตส ฟรุคโตส (Johnson and Raymond, 1965) นอกจากนี้ Pond and Maner(1974) รายงานว่าในหัวมันสำปะหลังมีคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแป้งและน้ำตาล 75-80 เปอร์เซ็นต์เยื่อใย 1.44 เปอร์เซ็นต์โปรตีนเฉลี่ย 2.3 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณของกรดแอมมิโน เมทไธโอนีนและซิสตีนต่ำซึ่ง Gomez and Valdivieso(1983) รายงานผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของมันสำปะหลัง(มันเส้น) พบว่ามีความชื้น 10-12 เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตย่อยง่าย 76-81 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 2.3-2.5 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม Devendra (1977) รายงานถึงองค์ประกอบทางเคมีของมันสำปะหลังที่ลอกเปลือกออก และตากแดด มีโปรตีนหยาบ 1.7 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 3.2 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม



แทนนิน-โปรตีนคอมเพล็กซ์ (tannin-protein complex) หรือจับคาร์โบไฮเดรต ที่ส่วนของ เซลลูลอสของพืช (Lowry et al., 1996) แทนนิน-โปรตีนคอมเพล็กซ์เกิดจากการจับตัวกันของ สารประกอบฟีนอลิกส์คือ แทนนินกับโปรตีนในรูปที่ไม่ละลายน้ำซึ่งการจับตัวกันมีหลาย ปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ขนาดโมเลกุล ความสามารถในการละลายและจำนวนของ free phenolics groupทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน(H-bonds) ระหว่าง phenolic proton และ carbonyl groups ของเปปไทด์ (Lowry et al.,1996) พันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น มีความแข็งแรงและไม่ สลายในสภาวะความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 3.5-7 แต่สามารถสลายและปลดปล่อยโปรตีน ออกได้ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง < 3.5 (Jones and Mangan, 1977) ซึ่งเป็นสภาวะที่มีความ ใกล้เคียง กับกระเพาะจริงของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ในด้านของผลกระทบของแทนนินที่มีในพืชต่อสัตว์พบว่า HT มีศักยภาพในการเป็น พิษต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดย HT จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ tannase จะทำการไฮโดรไลซ์ galloyl esters ซึ่ง gallic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะถูกเมทาบอไลซ์โดยจุลินทรีย์ใน กระเพาะหมักอีกครั้ง ได้เป็น pyrogallol และสารประกอบฟีนอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ หลังจากนั้นจะถูกดูดซึมจากกระเพาะหมักซึ่งสารประกอบฟีนอลเหล่านี้จะถูกขับออกกับ ปัสสาวะในรูป glucuronides (Murdiati et al.,1992; Norton, 1999) ส่วน pyrogallolที่ได้จากการ ย่อยสลาย HT จัดเป็นสารพิษประเภท hepatotoxinและnephontoxinส่วนCT ไม่เป็นพิษใน สัตว์เคี้ยวเอื้องเพราะจะไม่ถูกดูดซึม แต่อาจมีผลระคายเคืองต่อรอยแผลของเยื่อกระเพาะ (Reed, 1995) แต่ในมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะประกอบด้วย CT (0.34 % DM) (เมธา,2540; Wanapat, 1999) อย่างไรก็ตามจากรายงานของ Barry and Manley(1984) และ Barry(1985) พบว่าที่ระดับของ CT 50-100กรัม/กิโลกรัม(DM)จะส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ อัตรา การเจริญเติบโตและการย่อยสลายของเยื่อใย ภายในกระเพาะหมักด้วย แต่หากระดับของ CT จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร โปรตีน โดยการเพิ่มปริมาณโปรตีนบาย-แพสสู่ทางเดิน อาหารส่วนหลัง รวมถึงการเพิ่มปริมาณการดูดซึมกรดแอมมิโนที่จำเป็นที่ถ้าใส่เล็กโดยเฉพาะ เมทโรโอนิน และ ซีสทินที่สามารถดูดซึมได้เพิ่มขึ้นถึง62 เปอร์เซ็นต์ (Waghorn, 1987; Woodward and Reed, 1997) ระดับที่เหมาะสมของCT อยู่ที่ 20-40 กรัม/กิโลกรัม (DM) (Barry,1985 ;Waghorn, 1990) และจากการศึกษาในแกะโดยเปรียบเทียบการเสริมแหล่ง ไนโตรเจนที่แตกต่างกันในสูตรอาหาร ได้แก่ ยูเรีย กากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองทรีทด้วย 10% tara tannin พบว่าในระยะปรับสัตว์ 16 วัน การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวโดยเฉลี่ยต่อวัน สูงสุดในกลุ่มที่ได้รับกากถั่วเหลืองทรีทด้วย 10 % tara tannin คือ 112, 177 และ 217 กิโลกรัม/

ให้เห็นว่ามันเฮย์มีความน่ากินและสามารถย่อยได้ดี สารประกอบคอนเด็นส์แทนนินส์ มีปริมาณที่สูงในใบมันแต่มีระดับต่ำในมันเฮย์ที่ทำการเก็บเกี่ยวเมื่ออายุน้อย Barry and Manley (1984) และ Reed (1995) รายงานว่า ถ้ามี CT เป็นองค์ประกอบในอาหารเกิน 6% ของวัตถุแห้ง ปริมาณการกินได้และการย่อยได้จะลดลง แต่ถ้าระดับของ CT อยู่ในช่วงระหว่าง 2-4% ของวัตถุแห้ง จะช่วยในการป้องกันการถูกย่อยของโปรตีนในกระเพาะรูเมน นั่นคือเป็นการเพิ่ม บาย-แพสโปรตีน (rumen by-pass protein) มันเฮย์มีสารประกอบคอนเด็นส์แทนนินส์ หรือโพรแอนโทไซยานิดินส์ (proanthocyanidins, PC) ซึ่งพบได้ทั่วไปในพืชเขตร้อน CT เป็นสารประกอบฟีนอลิกส์ (phenolics) ซึ่งสามารถละลายได้ง่ายในน้ำและสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ โดยพบว่า CT และโปรตีนจะจับกันอยู่ในรูปของ tannin-protein complexes (TPC) ด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สภาวะเป็นด่าง TPC จะคงสภาพที่ pH 3.5-7.0 และจะเกิดการแตกตัวเมื่อระดับ pH < 3.0 และ > 8.0 (Jones and Mangan, 1977) พบว่า CT ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของไนโตรเจน (N-recycling) สู่อูรูเมนและเพิ่มอัตราการหลั่งของน้ำลาย (Reed, 1995) และนอกเหนือจากนั้นยังช่วยเพิ่มจำนวนของการสังเคราะห์ จุลินทรีย์โปรตีนในรูเมนอีกด้วย (Makkar, 1995) และจากการศึกษาของ Wanapat and Chanjula (2002, unpublished data) พบว่าการเสริมมันเฮย์ที่มี CT เป็นองค์ประกอบในระดับสูงขึ้นไป มีผลทำให้ประชากรโปรโตซัวในรูเมนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และประชากรของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายเซลลูโลสและโปรตีนมีแนวโน้มว่าสูงขึ้น

**ผลของ HCN ที่คงค้างในมันเฮย์ในรูปของไซโอไซยานเนท ต่อการรักษาคุณภาพน้ำนม**

ได้มีการรายงานไว้โดย Claesson (1994) ว่า ไซโอไซยานเนทในน้ำนม สามารถช่วยรักษาคุณภาพของน้ำนม โดยกระบวนการ lacto- peroxidase system (LPS) โดยที่ระดับที่เหมาะสมของไซโอไซยานเนทในน้ำนมไม่ควรเกิน 20 ppm ซึ่งโคนมที่ได้รับมันเฮย์เป็นอาหารเสริม พบว่ามีไซโอไซยานเนทเป็นองค์ประกอบในน้ำนม 17.8 ppm อย่างไรก็ตาม จึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาให้มากยิ่งขึ้น เพื่อที่จะชี้เฉพาะถึงบทบาทของ HCN ที่คงค้างในมันเฮย์ต่อระดับของไซโอไซยานเนทในน้ำนม โดยเฉพาะบทบาทในการช่วยรักษาคุณภาพของน้ำนม นอกจากนี้ การศึกษาพบว่าการใช้กำมะถันผสมร่วมกับยูเรียและใบมันสำปะหลังสดเสริมในโคนมมีผลช่วยลดพิษของไซยาไนด์ลดลงได้ด้วย (Wanapa et al., 2006)

Song and Kennelly (1990) รายงานว่าโคนมแห่งที่ได้รับอาหารหยาบหมักมีผลทำให้ระดับของ  $\text{NH}_3\text{-N}$  ในของเหลวรูเมนเพิ่มขึ้น 15.7 mg/dl ส่งผลถึงจำนวนประชากรแบคทีเรีย

ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพของกระบวนการหมักด้วย นอกจากนี้ในแกะที่ได้รับ Citrus Pulp และ Italian ryegrass hay ที่มีระดับเยื่อใย neutral-detergent fiber (NDF) ประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ระดับของNH<sub>3</sub>-N ในรูเมนเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ ความเข้มข้นของ VFAs และประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนเพิ่มขึ้น (Rihani et al., 1993) ส่วนโคนมที่อยู่ในช่วงการให้ผลผลิต และได้รับ ถั่วอัลฟาฟ่าหมัก พบว่าระดับของ NH<sub>3</sub>-N อยู่ในช่วง 18.7-22.9 mg/dl และยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN) อยู่ในช่วง 15.0-20.4 mg/dl ส่วนปริมาณผลผลิตน้ำนมอยู่ในช่วง 31.1 - 32.7 kg/hd/d (Robinson et al., 1991)

#### การศึกษาวิจัยการใช้มันแฮร์เป็นอาหารสัตว์

มันแฮร์สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบโปรตีนคุณภาพสูงได้เป็นอย่างดีสำหรับโคนม (Wanapat et al., 2000a; Wanapat et al., 2000b) โดยในการเสริมมันแฮร์เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนพิเศษ ได้มีการศึกษาในหลายรูปแบบเพื่อให้มีความสะดวกและเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด Koakhunthod et al. (2001) ศึกษาการใช้มันแฮร์เป็นแหล่งของโปรตีนในรูปแบบของอาหารก้อนคุณภาพสูงในโคนมลูกผสม โฮลสไตน์ฟรีเซียนที่อยู่ในระยะกลางถึงระยะท้ายของการให้นม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมรวมทั้งมีการเพิ่มจำนวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับหรือได้รับการเสริมอาหารก้อนคุณภาพสูงที่ไม่มีมันแฮร์เป็นองค์ประกอบ Wanapat et al. (2000a) พบว่าการเพิ่มปริมาณมันแฮร์จาก 0.6 เป็น 1.7 กก./ตัว/วัน สามารถลดอาหารชั้นจาก 0.1 เป็น 1.6 กก./ตัว/วัน ตามลำดับ โดยไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตน้ำนม นอกจากนั้นการให้สัตว์ได้รับมันแฮร์แบบกินเต็มที่ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันและยังสามารถช่วยลดอาหารชั้นลงได้ด้วย ซึ่งนำไปสู่การศึกษาผลการเสริมมันแฮร์ในระดับต่างกัน โคนม โดยใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียน จำนวน 6 ตัว ทำการสุ่มเพื่อเข้าแผนการทดลองแบบ Change-over design และทำการเสริมมันแฮร์ 3 ระดับ คือ 0, 0.8 และ 1.7 กก. วัตถุแห้ง/ตัว/วัน ส่วนอาหารชั้นได้รับในระดับเดียวกัน (สัดส่วนอาหารชั้นต่อน้ำนมคือ 1:2) ขณะที่ฟางหมักยูเรีย 5% ให้กินแบบเต็มที่ ผลการทดลองพบว่า การเสริมมันแฮร์สามารถลดการใช้อาหารชั้นลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตน้ำนม (12.5, 12.12 และ 12.6 กก./ตัว/วัน) และช่วยเพิ่ม 3.5% FCM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (14.21, 15.70, 14.9 กก./วัน) ตามลำดับ นอกจากนั้นแล้วการเสริมมันแฮร์สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันในน้ำนม

ของโคและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจอันเนื่องจากการเพิ่มผลผลิต และการลดสัดส่วนการใช้ อาหารชั้นต่อผลผลิตน้ำหนักจาก 1:2 เป็น 1:3 หรือต่ำกว่านั้น

จากข้อมูลของการวิจัยการสาธิตและการดำเนินงานร่วม โดยการเสริมแหล่งโปรตีนใน ท้องถิ่นแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการผลิต และการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต โคนม เกษตรกรมีความตั้งใจเป็นอย่างมากในการนำไขมันแฮย์ และมีการขยายผลระหว่างเกษตรกร โคนม ทั้งนี้เพราะสามารถปฏิบัติได้ง่ายสะดวกและมีความถาวรภาพในฟาร์ม (Wanapat et al., 2000c)

## 2.12 การทำข้าวโพดหมัก

เกษตรกรผู้เลี้ยง โคนมมักมีปัญหาเรื่องการขาดแคลนอาหารหยาบคุณภาพดีในฤดูแล้ง เพราะมีแปลงหญ้า ไม่เพียงพอทำให้ต้องออกไปหาวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรในท้องที่ ห่างไกลซึ่งสิ้นเปลืองเวลา แรงงานและค่าใช้จ่ายมาก บางครั้งอาจประสบอุบัติเหตุเป็นอันตราย ดังนั้นจึงควรมีการเก็บถนอมพืชอาหารหยาบไว้ใช้ ซึ่งอาจทำในรูปของพืชแห้งและพืชหมัก แต่ พืชแห้งมักมีข้อจำกัดในเรื่องของดินฟ้าอากาศ เพราะในฤดูฝนซึ่งพืชเจริญเติบโตได้ดี มีหญ้า เหลือเพื่อนั้น เกษตรกรไม่สามารถตัดพืชมาตากให้แห้งได้ มักมีการเน่าเสีย ขึ้นรา ดังนั้นการทำ พืชหมักจึงน่าจะเป็นวิธีการที่สะดวกกว่า เพราะไม่ต้องพึ่งพาดินฟ้าอากาศมากนัก พืชที่นำมา หมักอาจเป็นหญ้า ต้นข้าวโพดพร้อมฝักเปลือกข้าวโพดฝักอ่อน ต้นข้าวโพดหมักหลังเก็บฝัก แล้ว หรือวัสดุเศษเหลืออื่นๆ ก็ได้การหมักพืชทำโดยหั่นพืชให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใสลงในถังหรือ หลุมหมักซึ่งเรียกกันทั่วไปว่า “ ไชโล ” ทำการอัดให้แน่น ปิดถังหรือกองพืชนั้นให้ลึกลงให้ อากาศเข้าได้จุลินทรีย์ที่ติดมากับพืชจะทำการเปลี่ยนน้ำตาลและแป้งที่มีในพืชให้กลายเป็น กรดแลคติก ซึ่งจะช่วยเก็บถนอมพืชไว้ไม่ให้เน่าเสีย

ไชโลมีหลายแบบอาจเป็นถังที่อยู่ในแนวตั้ง ทำด้วยคอนกรีตหรือโลหะ หรือพลาสติก หรืออยู่ในแนวนอน ก่อเป็นผนังคอนกรีตขึ้นเหนือดินหรือขุดลงไปใต้ดินก็ได้มีขนาดต่างๆกัน ในบางกรณีอาจทำการหมักพืชในถุงพลาสติกหรือกองพืชไว้บนลานซีเมนต์ปิดคลุมด้วย พลาสติกผืนใหญ่ก็ได้ ข้อสำคัญของไชโลทุกแบบคือต้องป้องกันไม่ให้อากาศเข้าไปในกองพืช ได้

### หลักของการทำพีชหมัก คือ

1. ตัดพีชในระยะที่เหมาะสม เพื่อให้พีชมีความชื้นพอเหมาะ คือประมาณ 65-75 % หรือมีวัตถุแห้งประมาณ 25-35 % เช่น ข้าวโพดควรอยู่ในระยะที่เมล็ดเป็นแป้งประมาณครึ่งหนึ่งของเมล็ด หรือใบล่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลประมาณ 3-4 ใบ
  2. ต้องหั่นพีชให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 นิ้ว เพื่อให้สามารถอัดพีชได้แน่น
  3. ใส่ให้เต็มหลุม โดยเร็ว อัดให้แน่น ปิดกองให้มิดชิดอย่าให้อากาศเข้าได้ มิฉะนั้นจะเกิดการเน่าเสีย เก็บไว้อย่างน้อยเป็นเวลา 3 สัปดาห์หรือนานหลายเดือนจนกว่าจะต้องการใช้
- ลักษณะพีชหมักที่ดี

พีชหมักที่ดีต้องมีสีเขียวอมน้ำตาล มีกลิ่นหอมและรสเปรี้ยวคล้ายผักดอง มี pH ประมาณ 4 มีเนื้อแน่น ไม่เป็นเมือก ไม่มีรา ไม่มีกลิ่นเหม็นของกรดบิวทิริก

### ข้าวโพดหมัก

ข้าวโพดเป็นพืชที่เหมาะสมจะนำมาหมักเพราะ

1. ให้ผลผลิตสูง ประมาณ 4-5 ตัน/ไร่ มีเนื้ออาหารมาก โปรตีนประมาณ 7% มี TDN ประมาณ 62%
2. มีแป้งและน้ำตาลอยู่สูง จุลินทรีย์ใช้เปลี่ยนให้เป็นกรดแลกติกได้ดี
3. มีแบคทีเรียพวกแลคโตบาซิลัส ที่ช่วยในการหมักติดมากับต้นพีชมาก ทำให้การหมักได้ผลดี มีกรดแลกติกเกิดขึ้นมาก

### การทำข้าวโพดหมักสำหรับเกษตรกรรายย่อย

1. ปลุกข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3,5
2. ตัดระยะเมล็ดเป็นแป้ง และของเมล็ด
3. หั่นต้นและฝักข้าวโพดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1-2 ซม.
4. บรรจุในถุง 2 ชั้น อัดให้แน่นดูอากาศออก มัดปากถุงชั้นใน แล้วเย็บปากถุงชั้นนอก แยกจากชั้นใน หรือบรรจุลงในถังซึ่งทำด้วยขอบบ่อต่อกัน 3-4 ชั้น ด้านในฉาบด้วยซีเมนต์เพื่อกันอากาศเข้า อัดข้าวโพดให้แน่นโดยใช้คนเหยียบ
5. คลุมด้วยพลาสติกให้มิดชิด ปิดทับด้วยยางรถยนต์หรือถุงทราย หรือหมักโดยวิธีเดียวกัน ในถังซีเมนต์ขนาดใหญ่

### ข้อควรระวัง

ข้าวโพดหมักมีสารอาหารมากเพราะมีเมล็ด ลำต้นและใบพืชอยู่ด้วยกัน นอกจากนี้ยังมีเยื่อใยต่ำกว่าหญ้าหรือพืชอาหารสัตว์โดยทั่วไป ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับโคที่ให้นมสูง ส่วนโคสาวหรือโคที่ให้นมต่ำไม่ควรใช้ในปริมาณที่สูงนักเพราะจะทำให้อ้วนเกินไปเป็นผลเสียต่อสุขภาพ การใช้ข้าวโพดหมักเป็นอาหารหลัก ควรเสริมหญ้าแห้งหรือฟางเพื่อช่วยกระตุ้นการบีบตัวของกระเพาะหมัก ทำให้การเคี้ยวเอื้องและการย่อยอาหารเป็นปกติด้วย

### 2.13 การใช้สตาเรีย (starea) เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารโคนม

สตาเรีย (starea) หรืออาหารแป้งยูเรีย (starch-urea) เป็นอาหารที่ประกอบด้วยแป้งที่ได้มาจากธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ร่วมกับยูเรียซึ่งแปรรูปให้อยู่ในรูปการอัดเม็ด โดยการใช้ความร้อนร่วมกับความชื้นเพื่อให้แป้งเกิดกระบวนการ gelatinization (Bowers, 1992) แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงภายหลังการเกิด gelatinization แล้วโมเลกุลจะอยู่ในรูปเจล (gel) ภายนอกเม็ดแป้งส่วนโมเลกุลเพคตินที่อยู่ภายในเม็ดแป้งจะกลับมาอยู่ในรูปผลึกได้เม็ดแป้งสีน้ำตาลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ของยูเรียใน โคนม (สุรศักดิ์, 2542) ซึ่งยูเรียในสตาเรียจะถูกไฮโดรไลซ์โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักและมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกซางๆ และแป้งในสตาเรียก็จะถูกย่อยสลาย โดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันที่ระเหยง่าย (volatile fatty acid, VFA) และ กรดคีโต (keto acid) (เมธา, 2533) ซึ่งทั้งแอมโมเนียและกรดคีโตจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของ metabolizable protein (MP) สำหรับการให้ประโยชน์ในทางเดินอาหารส่วนหลัง

Helmer (1969) ทำการศึกษาการใช้สตาเรีย 3 ระดับ คือ 34 , 39 และ 44%CP เปรียบเทียบกับ expanded corn plus urea (39%CP) และ corn plus urea(44%CP) ซึ่งเป็นการศึกษาการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนในหลอดทดลอง พบว่า สตาเรียทำให้เกิดการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนมากกว่า expanded corn plus urea แต่ expanded corn plus urea ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ corn plus urea ( $p > 0.05$ ) และยังพบว่า สตาเรีย กับ expanded corn plus urea ทำให้การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีระดับของแอมโมเนียต่ำกว่า corn plus urea Barr et. al.(1974) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนจากแหล่งอาหาร corn starea, expanded corn grain ร่วมกับยูเรียและ corn grain ร่วมกับยูเรีย (44%CP) พบว่ามีผลต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน ( $P < 0.01$ ) วัดค่าได้เท่ากับ 57, 58 และ

10.7 mg/100ml Stiles et al.(1970) ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของ สดาดเรีย (sorghum grain plus urea 5 %) และ cracked corn plus urea พบว่าสดาดเรียจะมีปริมาณความเข้มข้นของแบคทีเรียในโตรเจน และโปรตีนในโตรเจนในกระเพาะหมักสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่มีระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนต่ำกว่า cracked grain plus urea นอกจากนี้ Romance-Ponce et al. (1974) เปรียบเทียบการใช้กากถั่วเหลือง ยูเรีย และ สดาดเรียเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารโคนม พบว่าปริมาณการกินได้ทั้งหมดความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก ความเข้มข้นของแอมโมเนียและความเข้มข้นของกรดอะซิติกและกรดโพรพิอิกในกระเพาะหมัก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในกลุ่มที่ได้รับ กากถั่วเหลือง และสดาดเรียเป็นแหล่งโปรตีนแต่มีค่าสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับโคกลุ่มที่ได้รับยูเรียเป็นแหล่งโปรตีน ซึ่งความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด (total volatile fatty acid ,TVFA) และสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิอิก (C2/C3) ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน สุรศักดิ์ (2542) ทำการศึกษาการใช้ อาหารเป้งมันสำปะหลัง-ยูเรีย (แคสซาเรีย 40% CP) เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน กากถั่วเหลืองในระดับ 30 ,70 และ 100 % ในสูตรอาหารโคนมพบว่าปริมาณการกินได้ทั้งหมดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในกระเพาะหมัก ปริมาณน้ำนม 3.5%FCM และองค์ประกอบของน้ำนม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่พบว่าระดับของแอมโมเนีย -ในโตรเจน ที่เวลา 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหารมีค่า 8.9, 11.2 และ 18.7 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งสูงขึ้นเมื่อระดับที่ทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยแคสซาเรียเพิ่มขึ้นจาก 30, 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

## 2.14 รัสกัดน้ำมัน

รัสกัดน้ำมันเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าว โดยมีขั้นตอนในการสกัดประกอบด้วย การทำความสะอาด (cleaning), การให้ความร้อน (heat treatment), การทำให้แห้ง (drying), การสกัด (extraction), การสกัดขี้ผึ้ง (dewaxing), การขจัดยาง (degumming), การขจัดกรด (deacidification refining), การขจัดสี (decolorization, bleaching) การขจัดกลิ่น ( deodorization) และการตกผลึก ที่อุณหภูมิต่ำ (winterization) (Kao and Luh, 1991)

### การทำความสะอาด (cleaning)

เป็นกระบวนการแยกรำข้าวออกจากสิ่งปลอมปนต่างๆเช่น เมล็ดข้าว แกลบ ปลายข้าว โดยผ่านเครื่องร่อน

### การใช้ความร้อน (heat treatment)

จุดประสงค์ของการใช้ความร้อน เพื่อให้ไขมันแยกออกเป็นอิสระจากส่วนของรำซึ่งการให้ความร้อนจะไปยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ไลเปส (lipase) ที่มีอยู่ในรำข้าวเนื่องจากเอนไซม์ไลเปสจะไปกระตุ้นการไฮโดรไลซ์กลีเซอไรด์ (glyceride) ให้เป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) และกลีเซอรอล (glycerol) เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลผลิตน้ำมันที่ได้ลดลงในช่วงของการฟอก (refining) เมื่อให้ความร้อนจะทำให้ไขมันอิสระสามารถแยกจากเมล็ดข้าว ทำให้การสกัดสามารถทำได้ง่ายขึ้นการใช้ความร้อนมีใช้หลายแบบ เช่น การใช้ลมร้อน (hot air) ความร้อนจากไอน้ำ (steam) ใช้ไมโครเวฟ (microwave) และการให้ความร้อนแบบ extrusion (Chang et al., 1980; Rhee and Yoon, 1984 อ้างถึงใน Kao et al., 1991) เมื่อเปรียบเทียบการใช้ความร้อนแบบ hot air, steam และ extrusion พบว่า การให้ความร้อนแบบ extrusion มีอัตราการแยกออกของกรดไขมันอิสระสูงสุดและยังใช้เวลาน้อยที่สุด (Kim et. al., 1987) Randall et al. (1985) รายงานว่าก่อนการให้ความร้อน extrusion ความชื้นของรำข้าวควรน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และเมื่อให้ความร้อนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการ extrusion คือ 130 องศาเซลเซียสและปรับให้ความชื้นของรำข้าวเพิ่มขึ้นมาอยู่ระหว่าง 12-13 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิของรำข้าวควรอยู่ระหว่าง 97-99 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

### การสกัด (extraction)

วิธีการที่ใช้ในการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าวมี 2 วิธี

1 การใช้แรงอัดสูง (high pressure) เพื่อทำการบีบให้น้ำมันที่มีอยู่ในวัตถุดิบออกมา โดยการใช้เครื่องบีบ อัดแบบไฮดรอลิก (hydraulic press) และแบบเกลียวอัด (screw press) ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้ในการสกัดเอา น้ำมันออกจากวัตถุดิบที่มีปริมาณน้ำมันมาก เช่น ถั่วลิสง กากเมล็ดฝ้าย ถั่วเหลือง เมล็ดงา เป็นต้นอย่างไรก็ตามวิธีการนี้จะให้น้ำมันน้อยกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงมากสามารถสกัดน้ำมันออกได้ถึง 95-97 เปอร์เซ็นต์ ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากได้แก่ *n*-hexane เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง มีความปลอดภัยและสะดวกเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดมี 3 ชนิดได้แก่ batch type battery type และ continuous type (Chang et al., 1980)

batch type อาจใช้เพียง 1 batch หรือมากกว่า มีลักษณะการทำงานคือตัวทำละลายเฮกเซนซึ่งถูกปั๊มออกมาจะค่อยๆซึมเข้าไปรวมกับรำข้าวในส่วน extraction vessel ที่ละน้อยจน



ชั่วระยะเวลาหนึ่งจะได้น้ำมันที่รวมอยู่กับตัวทำละลายเรียกว่า miscella จะถูกกรองและปั๊มเข้าสู่ evaporator เพื่อแยกเอาน้ำมันและตัวทำละลายออกจากกัน จากนั้นตัวทำละลายจะไหลเวียนกลับเพื่อเริ่มทำงานใหม่อีกครั้ง

battery type เป็นเครื่องสกัดแบบกึ่งต่อเนื่อง (semicontinuous) หรือ batch countercurrent type ส่วนของ micella จะได้มาจากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายใน extraction vessel ในรูปแบบของการไหลทวน (countercurrent pattern)

continuous type เป็นการสกัดในระบบต่อเนื่องโดยมีการไหลทวนระหว่างรำข้าวกับตัวทำละลาย ภายใน extraction tube โดยรำข้าวจะถูกส่งผ่านมาทางส่วนหัว (head end) เมื่อรำข้าวผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว (defatted rice bran) จะถูกส่งออกทางด้านท้าย (tail end) ขณะที่ตัวทำละลายบริสุทธิ์ (fresh solvent) จะถูกปั๊มเข้าสู่ extraction tube ในด้านท้ายเช่นกัน ส่วน micella ที่ได้จะถูกส่งออกทางด้านหัว

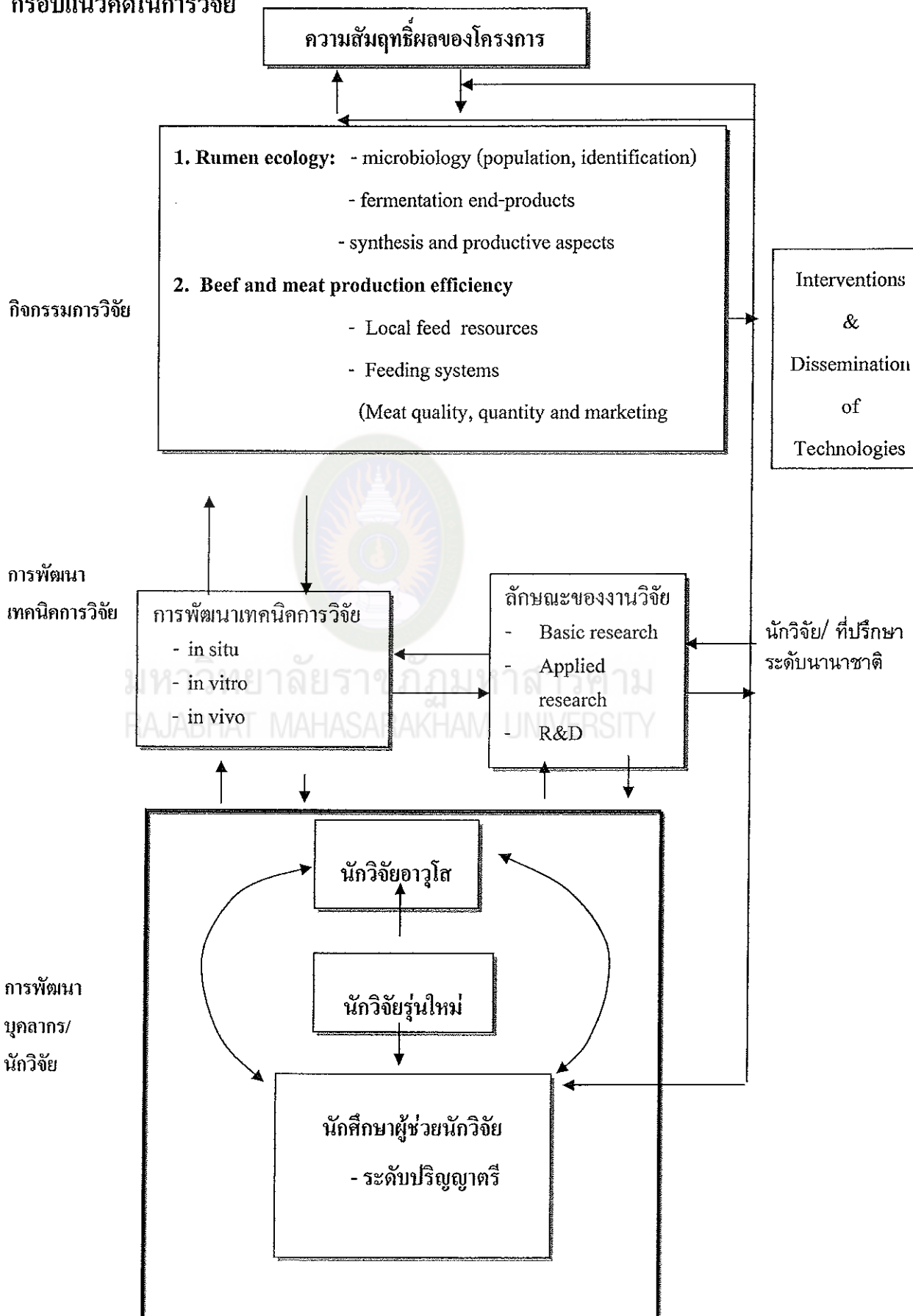
ซึ่งจากกระบวนการสกัดนี้ทำให้สามารถได้ ผลพลอยได้เป็นรำสกัดน้ำมัน ที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหาร เลี้ยงสัตว์ จากรายงานการศึกษากการใช้รำข้าวเป็นอาหารสัตว์เดี่ยวเอื้องนั้น Wanapat et al.(1985) ทดลองใช้รำข้าว 65.5 เปอร์เซ็นต์ กับปลายข้าว 22.0 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร โคขุนพันธุ์อเมริกันบราห์มันที่ได้รับฟางหมักยูเรีย เป็นอาหารหยাবหลัก ในระดับ 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าโคมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยวันละ 0.468, 0.846 และ 0.928 กิโลกรัมตามลำดับ Wora-anu et al.(2000) ทำการศึกษากการใช้สัดส่วน ของฟางข้าวหมักยูเรียต่อรำสกัดน้ำมันที่เพิ่มขึ้นในสัดส่วน 100:0 ,60:40 และ 40:60 ในโคและกระบือ พบว่าปริมาณ การกินได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของรำสกัดน้ำมันที่ได้รับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เช่นเดียวกับ ปริมาณการกักเก็บไนโตรเจนพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของรำสกัดน้ำมันที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน ส่วนผลต่อจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักพบว่าแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) จะมีปริมาณสูงสุดในโคและกระบือที่ได้รับสัดส่วนอาหาร 40: 60 แต่แบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายแป้ง (amylolytic bacteria) มีจำนวนไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของรำสกัดที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร Kaokhunthod and Wanapat (2000) ศึกษาเปรียบเทียบการเสริมอาหารก่อนคุณภาพสูง (high quality feed block, HQFB) และรำสกัดน้ำมันในโคพื้นเมืองที่ได้รับฟางหมักยูเรียเป็นอาหารหยাব พบว่าปริมาณการกินได้ของโคในกลุ่มที่ได้รับการเสริมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่พบว่าโปรโตซัวกลุ่ม holotrich มีจำนวนลดลงในโค ที่ได้รับการเสริมรำสกัดน้ำมัน ขณะที่กลุ่ม

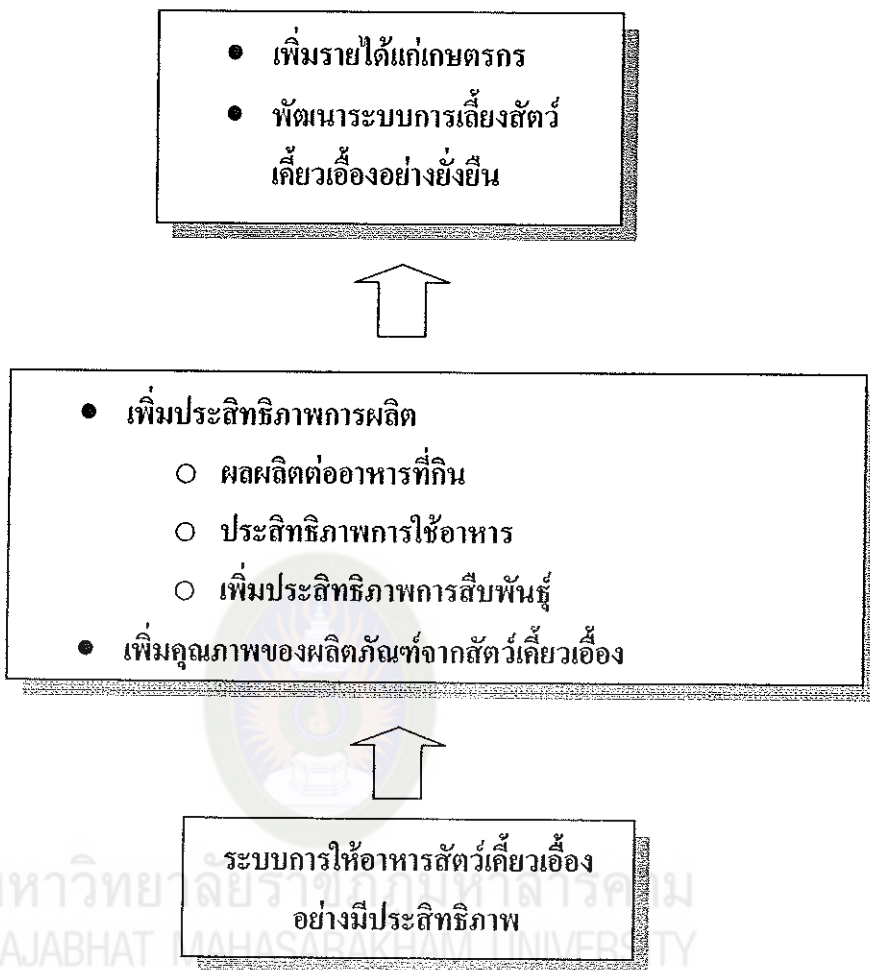
entodiniomorphs มีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนแบคทีเรียที่นับโดยวิธีนับตรงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อโคได้รับการเสริม HQFB และ รำสกัดน้ำมัน

รายงานการใช้รำสกัดน้ำมันเพื่อเป็นอาหารโคนมในประเทศญี่ปุ่น Takei (1977) รายงานว่ามีการใช้ รำสกัดน้ำมันในอาหารโคนมมากกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ในโคที่ได้รับหญ้าสดเป็นอาหารหลัก Sukmawati (1994) ทำการศึกษาเปรียบเทียบ การใช้รำละเอียด รำ stabilized รำสกัดน้ำมัน และรำข้าวสาลีในสูตรอาหารโคนมเพศผู้ตัวอ่อน (steer) ที่ระดับ 35-38 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารพบว่าโคที่ได้รับรำชนิดที่มีไขมันสูง คือ รำละเอียดและรำ stabilized จะมีเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของเยื่อใยต่ำกว่าโคนมที่ได้รับรำสกัดน้ำมัน และรำข้าวสาลี โดยมีค่าการย่อยได้เท่ากับ 35.0, 35.3, 48.6 และ 51.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนก็มีแนวโน้ม เช่นเดียวกัน ส่วนค่าการย่อยได้ของพลังงานเท่ากับ 65.0, 67.3, 76.7 และ 72.9 เมกกะจูลต่อวัน ตามลำดับนอกจากนี้ ปริมาณการไหลผ่านของไนโตรเจนสู่ลำไส้เล็กมีค่าเป็น 107.8, 112.9, 133.8 และ 105.8 กรัมต่อวันตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีค่าสูงสุดในโคกลุ่มที่ได้รับรำสกัดน้ำมันดังนั้นการใช้รำเป็นอาหารโคนมสามารถใช้ในปริมาณเพิ่มขึ้นได้โดย การสกัดเอาน้ำมันออก (Zhao et al., 1996) อาจเนื่องมาจากไขมันที่มีในรำข้าว หากโคได้รับมากเกินไปจะรบกวนการย่อยได้ของเยื่อใย ทำให้การย่อยได้ลดลงได้ ซึ่งเมธา (2533) รายงานว่าอาจเป็นผลมาจากไขมันอาจเข้าไปเกาะยึดตามผิวของอาหารเยื่อใย หรือไขมันอาจทำให้ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเปลี่ยนแปลงไปรวมถึงการที่ไขมันอาจขัดขวางการเข้าย่อยสลายอาหารของจุลินทรีย์โดยการยับยั้งการเข้ายึดเกาะที่บนเซลล์เมมเบรน (surface active effect)

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นและทำหายอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาถึงแนวทางการพัฒนาการใช้การนำใช้ดินข้าวโพดหมักร่วมกับยูเรียและการเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันต่อประสิทธิภาพกระบวนการหมักการสังเคราะห์จุลินทรีย์ในสัตว์เคี้ยวเอื้องและการให้ผลผลิตในรูปแบบน้ำนมที่มีคุณภาพตลอดจนเพื่อจะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในการเพิ่มคุณภาพอาหารสัตว์ในเกษตรกรผู้เลี้ยง โคนม-โคเนื้อตลอดจนเพื่อส่งเสริมการแปรรูปและพัฒนาคุณภาพอาหารสัตว์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

กรอบแนวคิดในการวิจัย





แผนภาพการวิจัยทางด้านโภชนศาสตร์ที่มีผลกระทบต่อการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง