



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมน  
และสมรรถนะการผลิต

Utilizing protein-enriched cassava pulp in beef cattle diet on  
rumen fermentation and productive performances

นางสาวสุปรีณา ศรีใสคำ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้  
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐ (เพิ่มเติม)

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802235

สัญญาเลขที่ 4/2560

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมน  
และสมรรถนะการผลิต

Utilizing protein-enriched cassava pulp in beef cattle diet on  
rumen fermentation and productive performances

นางสาวสุปรีณา ศรีไสคำ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 (เพิ่มเติม) มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 4/2560

สุปรีณา ศรีใสคำ  
สิงหาคม 2561

## บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในอาหารชั้นต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิตของโคเนื้อบราห์มันลูกผสม การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย 3 การศึกษาเบื้องต้น และ 1 การทดลอง คือ 1.1) การศึกษาเบื้องต้นถึงองค์ประกอบทางเคมี พบว่า คุณค่าทางโภชนาของกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบทางเคมีเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในสูตรอาหารได้ 1.2) การเพิ่มโปรตีนจากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับยูเรียในระดับห้องปฏิบัติการ จัดแผนการทดลองแบบ 5 x 6 Factorial in ใน CRD โดยปัจจัย A เป็นระดับยูเรีย 5 ระดับคือ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และปัจจัย B เป็นระยะเวลาในการหมักที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน พบว่า ปริมาณโปรตีนและยูเรียทุกสูตรได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในการหมักของวันที่ 2 เป็นต้นไป โดยที่ระดับการเติมยูเรีย 1.00 เปอร์เซ็นต์ สูงที่สุด รองลงมาคือ 0.75, 0.50, 0.25 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนและยูเรียตกค้างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับการเติมยูเรียที่สูงขึ้น สรุปได้ว่ากระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วยราและยีสต์สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้ โดยระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมที่สุดคือ 5 วัน และยูเรียที่ระดับ 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นสูตรที่ดีที่สุด และ 1.3) การศึกษาวัตถุแห้งที่ย่อยสลายได้ในโคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัวของกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทั้ง 11 กลุ่มการทดลองจากการศึกษาที่ 1.2 ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับยูเรียกับระยะเวลาในการหมัก

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่มีคุณภาพในแต่ละระดับของสูตรอาหารชั้นโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต จัดแผนการทดลองแบบ 4x4 Latin square design ใช้โคเนื้อจำนวน 4 ตัว อายุประมาณ 14-17 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 250±25 กิโลกรัม โดยมีการบันทึกน้ำหนักตัวก่อนเริ่มเข้างานทดลอง ทำการเก็บข้อมูลเป็นระยะเวลา 84 วัน ปรับสัตว์เป็นระยะเวลา 14 วัน แบ่งออกเป็น 4 ช่วงการทดลอง ช่วงละ 21 วัน โดยที่กลุ่มการทดลองที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม) กลุ่มการทดลองที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis) กลุ่มการทดลองที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis) และกลุ่มการทดลองที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis) โดยทั้ง 4 กลุ่มการทดลองได้รับฟางหมักเป็นแหล่งของอาหารหยาบที่ให้แบบเต็มที่ ไม่พบว่า ปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนา น้ำหนักตัว ปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะหมัก การเปลี่ยนแปลงประชากรของแบคทีเรียและโปรโตซัว และกรดไขมันระเหยได้ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

**คำสำคัญ:** โปรตีน, กากมันสำปะหลังสด, กากมันสำปะหลังหมัก, กระบวนการหมัก, *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*

## ABSTRACT

The present research aimed to study the utilization of fermented fresh cassava pulp (FFCP) as an energy source of concentrate for Brahman-cross beef cattle. This study comprised 2 sections (3 research studies and 1 research experiment). The first section was conducted to determine the preliminary study of chemical composition, increasing protein in FFCP using *Aspergillus oryzae* (*A. oryzae*) and *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) and digestibility of FFCP in the rumen of fistulated cows. The latter section was designed to investigate in the experiments. The experiment aimed to determine a suitable method of fermenting fresh cassava pulp (FCP) using fungi and yeasts. The results showed that the nutritional value of FCP has the appropriate chemical composition to be used as a source of energy in the diet. The experiment was designed to determine the crude protein of FCP after incubating with *A. oryzae* and *S. cerevisiae* plus urea: laboratory scale. The 5 x 6 factorial in CRD arrangement was used with Factor A, five urea addition levels; 0, 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.00% of dry matter (DM) and was incubated at 0, 1, 2, 3, 4 and 5 days (Factor B). The results showed that the CP and urea of all formulas at day 2 fermentation increased markedly, with 1.00% urea addition levels being the highest followed by 0.75%, 0.50%, 0.25 and 0% respectively. The CP and urea remaining significantly increased with increasing levels of urea addition. It can be concluded from the experiment that the CP can be enriched in fresh cassava pulp through the fermentation process obtained from fungi and yeasts. The best fermentation period was 5 d and formula urea addition levels at 0.50%, 0.75% and 1.00% were the best formulation. While the trial with lactating cows was carried on, 3 rumen fistulated dairy cows. Cows were fed concentrate and rice straw as in the trial with lactating dairy cows. The result showed that rumen degradable dry matter was no interaction between urea addition levels and incubation time (day) in all groups.

The experiment was carried out to investigate the effect of different level of FFCP in concentrates on rumen fermentation and productive performances of beef cattle. This experiment was designed in 4x4 Latin square design. Four Brahman-cross beef cattle, averaging 14-17 months old and 250±25 kg body weight that was recorded live weight (LW) before the start of the trial. The experiment lasted 84 days that the first 14 days were considered as adaptation period and measurements were made during the last 21 days in 4 periods. The first group was fed 0% FFCP concentrate, the second, third and fourth group were fed 10, 20 and 30% FFCP concentrate respectively. All cows were fed *ad libitum* urea treated rice straw as roughage. The results showed no significant differences in daily feed intake, digestibility of nutrient, LW change, blood urea nitrogen, rumen pH, ammonia-nitrogen, population change of bacteria and protozoa and volatile fatty acids in rumen fluid in all groups.

**Keywords:** protein, fresh cassava pulp, fermented cassava pulp, fermentation, *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย	3
1.3 วิธีการดำเนินวิจัยโดยสรุปทฤษฎีและแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	3
1.3.1 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
<b>บทที่ 2 การตรวจเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 สถานการณ์การเลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทย	5
2.2 มันสำปะหลัง	10
2.2.1 คุณค่าทางโภชนาการของมันสำปะหลัง	12
2.2.2 กากมันสำปะหลัง (Cassava root meal)	13
2.2.3 การใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง	15
2.2.4 การเพิ่มโปรตีนในผลพลอยได้จากมันสำปะหลัง	16
2.2.5 ราและยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับหมักกากมันสำปะหลัง	19
2.2.5 การใช้ยีสต์เพื่อปรับปรุงกระบวนการหมักภายในกระเพาะหมัก	21
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	
3.1 แผนการทดลองและกลุ่มการทดลอง	27
3.1.1 การทดลองเบื้องต้น (Pre-experiment)	27
3.1.2 ศึกษาการย่อยสลายในรูเมนของอาหารผสมทั้ง 5 สูตร โดยการใช้ถุงไนลอน	29
3.1.3 การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต	30
3.2 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	32
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	34
3.4 สถานที่ทำการวิจัย	34
3.5 ระยะเวลาการทดลอง	34
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง</b>	35
<b>บทที่ 5 สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	60
<b>บทที่ 6 ผลผลิต</b>	61

## สารบัญ

	หน้า
รายงานสรุปการเงิน	62
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก	71
ประวัตินักวิจัย	75

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าของอาหารของมันสำปะหลัง ข้าวโพด ปลายข้าว โดยมันสำปะหลังปรับโปรตีน โดยกากถั่วเหลือง หรือปลาป่น	13
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังก่อนและหลังหมักยีสต์	14
2.3 องค์ประกอบทางโภชนาของกากมันสำปะหลังหมักยีสต์	15
2.4 องค์ประกอบทางโภชนาของยีสต์	20
2.5 องค์ประกอบเคมีของมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์	22
2.6 สารพิษและสารต่อต้านโภชนาในมันสำปะหลัง	23
2.7 ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ต่อระบบนิเวศในกระเพาะหมัก	24
2.8 ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ต่อการกินได้และผลผลิตน้ำนม	25
3.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังสด	35
3.2 ผลของระดับโปรตีนของตัวอย่างกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วยที่ <i>A. oryzae</i> และ <i>S. cerevisiae</i> ร่วมกับยู่เรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์	36
3.3 ผลของระดับยู่เรียคงเหลือของตัวอย่างกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วย <i>A. oryzae</i> และ <i>S. cerevisiae</i> ร่วมกับยู่เรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์	37
3.4 การย่อยสลายวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย <i>A. oryzae</i> และ <i>S. cerevisiae</i>	39
3.5 ชนิดและปริมาณของวัตถุติดที่ใช้ในแต่ละสูตรอาหารทดลอง	43
3.6 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นและอาหารหยาบที่ใช้ในการทดลอง	45
3.7 ปริมาณการกินได้โภชนาของโคเนื้อบราห์มันลูกผสมที่ได้รับการทดแทนกากมันสำปะหลังสดหมักยีสต์ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน	47
3.8 น้ำหนักตัวและการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโค	50
3.9 ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนาของ	52
3.10 ค่าปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN), ค่าความเป็นกรด-ด่าง (rumen pH), แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในของเหลวในกระเพาะหมัก (NH <sub>3</sub> -N), การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ และกรดไขมันระเหยได้ในของเหลวในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับได้รับฟางหมักยู่เรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับแตกต่างกัน ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้	55



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1.3.1	กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	4
2.1	ขั้นตอนการคัดแยกกากมันสำปะหลัง	11
2.2	กระบวนการขัดขวางการหายใจของเซลล์จากสารพิษไซยาไนด์	12
3.1	แผนผังการจัดองค์ประกอบปัจจัยการทดลองในแผนการทดลอง 4x4 Latin square design	31
3.2	ผังการเก็บตัวอย่างในงานทดลองโคเนื้อตลอดระยะเวลาการทดลอง	31

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สืบเนื่องจากโครงการโคบาลบูรพา ของจังหวัดสระแก้ว ซึ่งรัฐบาลได้ให้การสนับสนุนเป็นระยะเวลา 6 ปี นับตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2560-2565 โดยเป็นโครงการเพื่อช่วยเหลือเกษตรกรในพื้นที่ 3 อำเภอของจังหวัดสระแก้ว ได้แก่ อำเภอรัญประเทศ อำเภอโคกสูง และอำเภอวัฒนานคร เมื่อพิจารณาถึงปัญหาจนเป็นที่มาของโครงการนี้ พบว่าในเขตพื้นที่อำเภอดังกล่าวประสบกับปัญหาภัยแล้งเป็นประจำทุกปี ส่งผลกระทบต่ออย่างมากต่อการทำการเกษตรกรรมด้านการเพาะปลูกข้าว ทำให้ประสบความยากลำบากต่อการดำรงชีพมากขึ้น โครงการนี้จึงมีความเหมาะสมสำหรับพื้นที่ในจังหวัดสระแก้ว โดยสนับสนุนให้เกษตรกรที่สมัครใจ ปรับเปลี่ยนจากการปลูกข้าวมาเป็นการทำปศุสัตว์ โดยรัฐบาลจะอุดหนุนแม่โคเนื้อให้แก่เกษตรกร 6,000 ราย รายละ 5 ตัว และอุดหนุนแพะเนื้อแก่เกษตรกร 100 ราย รายละ 32 ตัว พร้อมให้สินเชื่อแบบไม่คิดดอกเบี้ยเป็นค่าก่อสร้างโรงเลี้ยง ขุดบ่อน้ำ ปลูกพืชเลี้ยงสัตว์ และทำโรงฆ่าสัตว์มาตรฐาน ทั้งนี้ เพื่อแก้ไขปัญหาให้กับเกษตรกรให้มีอยู่มีกินอย่างยั่งยืนและสร้างรายได้ของตนเองที่มั่นคงให้แก่ตัวเกษตรกรเอง

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้โครงการดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการวางพื้นฐานเกษตรกรรมให้กับประชาชนเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสระแก้ว หากแต่เกษตรกรก็ต้องมีความรู้ความเข้าใจต่อการเปลี่ยนแปลงนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการจัดการด้านอาหารโคเนื้อ การดูแลรักษาพืชอาหารสัตว์ที่เป็นระบบ และการจัดการการเลี้ยง เพื่อสร้างโอกาสในการเพิ่มผลผลิตให้โคเนื้อ เพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและลดการนำเข้าและเป็นการพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไป สำหรับการจัดการเลี้ยงโคเนื้อโดยทั่วไปนั้น อาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการเลี้ยงโคเนื้อ ปัจจุบันพบว่าธุรกิจการเลี้ยงโคเนื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรรายย่อยและรายกลางของประเทศไทย มักประสบปัญหาเกี่ยวกับต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นเป็นเท่าตัว ซึ่งต้นทุนของการสร้างสมรรถนะการผลิตเนื้อและคุณภาพเนื้อมากกว่า 70% คือต้นทุนค่าอาหารสัตว์ จากการรายงานของประวีร์ (2530) การประมาณโดยเฉลี่ยของค่าใช้จ่ายในการให้ผลผลิต 76% เป็นค่าใช้จ่ายด้านอาหารสัตว์ ซึ่งคิดเป็น 16% คือค่าใช้จ่ายของอาหารหยาบและ 60% เป็นค่าใช้จ่ายด้านอาหารข้น ที่ผ่านมามีการสำรวจราคาของวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งประเภทพลังงานและโปรตีน พบว่ามีการปรับตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะวัตถุดิบแหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด และมันสำปะหลัง ได้ถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นส่วนผสมในการผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์ ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อต้องปรับตัวเพื่อลดต้นทุนการผลิต) อย่างไรก็ตาม โคเนื้อต้องการอาหารทั้งพลังงานและโปรตีนในการสร้างผลผลิต การให้อาหารหยาบเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงจำเป็นต้องเสริมอาหารข้น ทว่าการให้อาหารข้นเพิ่มเติมจากอาหารหยาบ (หญ้าหรือพืชวงศ์ถั่ว) เป็นเพียงเพื่อเสริมโภชนะในส่วนที่บกพร่อง (ชวนิศนดากร, 2530) ทั้งนี้หญ้าจะมีคุณภาพดีเฉพาะในระยะที่หญ่ายังอ่อนอยู่เท่านั้น เมื่อหญ้าอายุมากขึ้นคุณภาพจะลดลง (สายัณห์, 2522) จึงมักเสริมอาหารข้นในระดับสูงเพื่อให้โคได้รับโภชนะเพียงพอต่อการให้ผลผลิต เป็นสาเหตุทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น อาหารข้นประกอบด้วยกลุ่มของโภชนะสำคัญ 2 ชนิด คืออาหารพื้นฐาน ได้แก่ อาหารพวกที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง ปกติจะมีราคาต่ำ และอาหารพวกเสริมโปรตีน โคที่ได้รับอาหารข้นมีอาหารพื้นฐานมักจะได้รับโปรตีนไม่เพียงพอกับความ ต้องการโดยเฉพาะโคกำลังให้ผลผลิตหรือโคขุน การผสมอาหารเสริมโปรตีนกับอาหารพื้นฐานจะช่วยเพิ่มโปรตีนให้แก่สัตว์มากขึ้น อาหารเสริมโปรตีนส่วนใหญ่ได้จากกากเมล็ดพืชที่สกัดเอาน้ำมันออกแล้ว เช่น กากถั่ว

เหลือง กากฝ้าย ฯลฯ ซึ่งมีความน่ากินและมีโปรตีนรวมแตกต่างกันตามชนิดของพืช โดยทั่วไปอาหารเสริมโปรตีนจะให้พลังงานได้เช่นเดียวกับอาหารพื้นฐาน และคุณค่าของอาหารเสริมโปรตีนจะขึ้นอยู่กับโปรตีนในอาหารนั้น ซึ่งจะเป็นเครื่องกำหนดราคาของอาหารด้วย ฉะนั้นอาหารเสริมโปรตีนจึงมีราคาสูงกว่าอาหารพื้นฐาน โดยเฉพาะกากถั่วเหลืองซึ่งถือว่าเป็นอาหารเสริมโปรตีนที่มีคุณภาพดีและมีราคาแพง จึงได้มีความสนใจที่จะผลิตอาหารหยาบหมักคุณภาพดี จากผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร (Agro industrial by – products) เช่น กากมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลัง และยังมีราคาไม่สูงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบพลังงานชนิดอื่น จึงน่าจะมีการนำกากมันสำปะหลังมาเป็นส่วนผสมในอาหารโคเนื้อ อย่างไรก็ตาม กากมันสำปะหลังมีโปรตีนต่ำมาก แต่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากมีพลังงานเพียงพอที่จะใช้เป็นส่วนประกอบอาหารชั้นได้ระดับสูงของอาหารโคเนื้อได้ การเพิ่มโปรตีนให้กับกากมันสำปะหลังในการใช้เป็นอาหารเลี้ยงโคเนื้อจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ protein - enriched feedstuffs จากกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังสดเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมจากอุตสาหกรรมในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง หรือผลผลิตพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร (Agro industrial by – products) ซึ่งในปัจจุบันนิยมใช้ผลผลิตจากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารไก่เนื้อ (Khempaka *et al.*, 2009), ไก่ไข่ (Chauynarong *et al.*, 2010) และในโคนม (Wanapat *et al.*, 2011) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต แม้ว่ากากมันสำปะหลังสดจะให้พลังงานที่สำคัญและเพียงพอสำหรับจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งของพลังงาน และมีอัตราการย่อยสลายได้รวดเร็วในกระเพาะหมักได้เป็นอย่างดีและสามารถใช้ประโยชน์ได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับแหล่งโปรตีนที่ถูกย่อยสลายได้เร็ว (Wanapat, 2000) หรือมีอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักสูงกว่าข้าวโพด (พีรพจน์ และกฤตพล, 2546) สามารถนำมาเป็นส่วนประกอบอาหารชั้นได้ในระดับสูง แต่มีคุณค่าทางโภชนาการประเภทโปรตีนต่ำ ในปัจจุบันพบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ โดยจากการศึกษาของ Oboh and Akindahunsi (2003), Aro *et al.* (2008) และ Oboh and Elusiyani (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่มีกรเสริมจุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมัก ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งพลังงานเพื่อสังเคราะห์เป็นเซลล์โปรตีน โดยอาศัยกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งรา *Aspergillus oryzae* จะผลิตเอนไซม์อะไมเลสและทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (Reducing sugar) และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตทำให้ได้โปรตีนเซลล์เดียว

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของกากมันสำปะหลังก่อนและหลังกระบวนการหมักราและยีสต์และการเพิ่มระดับโปรตีนจากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสด โดยการใช้น้ำตาล *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

## 1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

1.2.1 เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของกากมันสำปะหลังก่อนและหลังกระบวนการหมักราและยีสต์

1.2.2 เพื่อศึกษากระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดที่เหมาะสมโดยใช้ราและยีสต์ เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนจากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับยูเรียในระดับห้องปฏิบัติการ

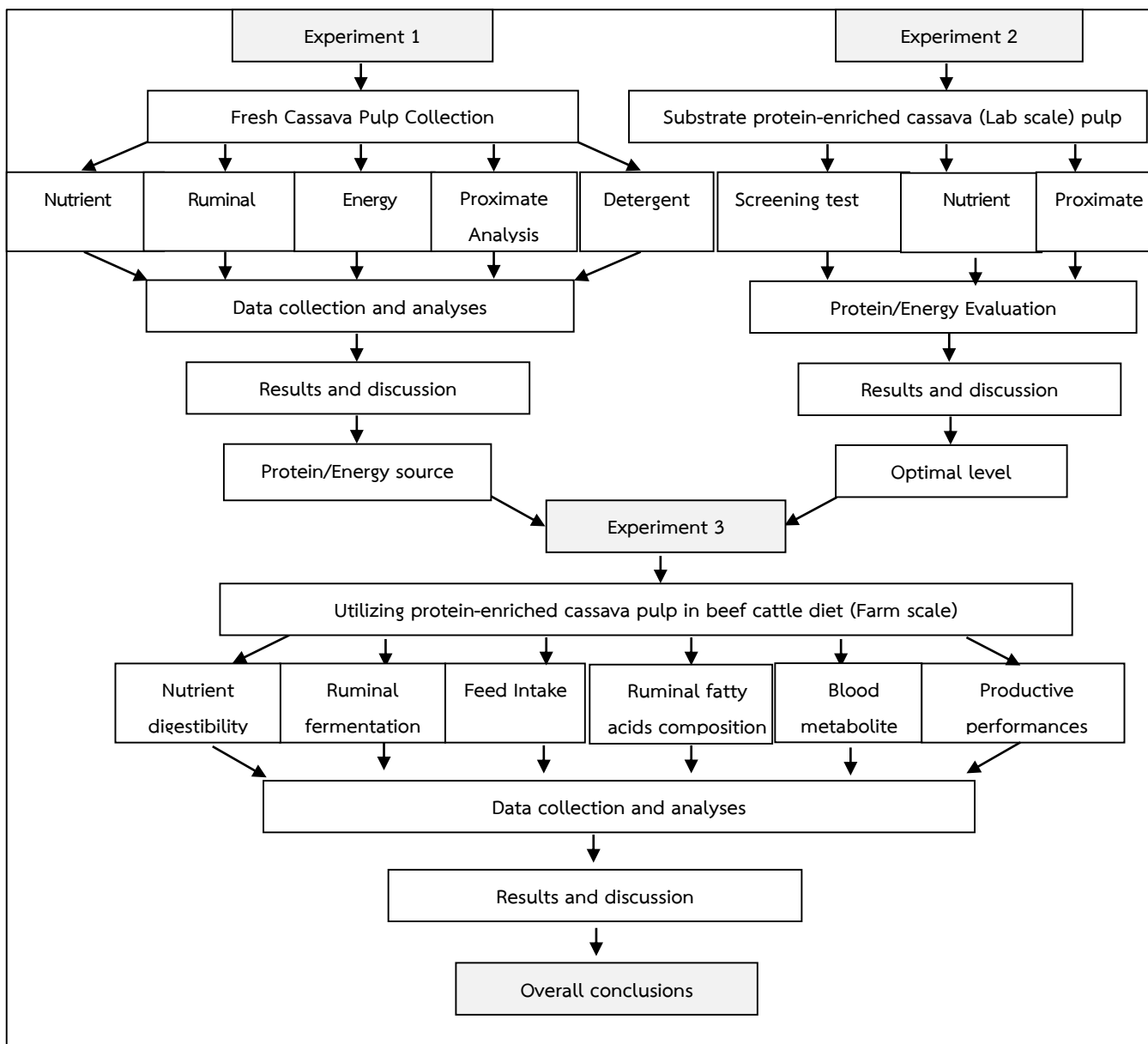
1.2.3 เพื่อศึกษาการประเมินค่าพลังงานและความสามารถในการย่อยได้ของกากมันสำปะหลังโปรตีนสูง

1.2.4 เพื่อศึกษาผลการใช้กากมันสำปะหลังโปรตีนสูงที่มีคุณภาพในแต่ละระดับของสูตรอาหารชั้นโคนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต

## 1.3 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

การวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงคุณค่าทางโภชนาของกากมันสำปะหลังก่อนและหลังกระบวนการหมักยีสต์ต่อผลผลิตเชิงคุณภาพ และศึกษาการเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกากมันสำปะหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์และศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลของระดับการใส่กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับ 0%, 10, 20% และ 30% ในสูตรอาหารชั้นต่อปริมาณการกินได้ (feed intake) ความสามารถในการย่อยได้ (digestibility) อัตราการเจริญเติบโต (average daily gain, ADG) กระบวนการหมักในรูเมน (rumen fermentation) นิเวศวิทยาในรูเมน (rumen ecology) และคาซีวเคมีในเลือด (blood metabolite) ในโคเนื้อเพศผู้ (พันธุ์ Brahman ลูกผสม ระดับเลือด 75% ขึ้นไป)

### 1.3.1 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย



### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกากมันสำปะหลังด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

1.4.2 ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังก่อนหมักและหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

1.4.3 ทราบถึงคุณค่าทางพลังงานและความสามารถในการย่อยได้ของกากมันสำปะหลังโปรตีนสูง

1.4.4 ทราบถึงประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของกากมันสำปะหลังโปรตีนสูงในสูตรอาหารชั้นที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิตของโคเนื้อ

## บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 สถานการณ์การเลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทย

ในปัจจุบันธุรกิจการเลี้ยงโคเนื้อภายในประเทศไทยกำลังกลับมาได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก จากข้อมูลสถิติและแนวโน้มความต้องการบริโภคเนื้อซี่ให้เห็นว่าการผลิตปศุสัตว์โดยเฉพาะโค กระบือเนื้อ ยังเป็นที่ต้องการของตลาดอย่างต่อเนื่องเพื่อสนับสนุนปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ของประชากรโลก ขณะที่ข้อมูลจากภาครัฐที่ระบุถึงภารกิจในการสนับสนุนให้เกษตรกรมีการเลี้ยงโคเนื้อตามแนวแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ซึ่งมุ่งพัฒนาเกษตรตามแนวทฤษฎีคู่ขนาน โดยพัฒนาเศรษฐกิจจากหญ้าควบคุมไปกับการพัฒนาเศรษฐกิจเพื่อการแข่งขัน เน้นเกษตรกรเป็นศูนย์กลางและเพื่อทดแทนการนำเข้าโคเนื้อที่มีชีวิต และเนื่องจากต่างประเทศเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาทต่อปี จะเห็นได้ว่า จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนโคเนื้อในช่วงปี พ.ศ. 2559–2560 มีโคจำนวนเพิ่มขึ้นจาก 4,084,559 ตัว เป็น 4,876,228 ตัว (กรมปศุสัตว์, 2559) และ (กรมปศุสัตว์, 2560) สอดคล้องกับข้อมูลทางสถิติกรมปศุสัตว์ รายงานว่า การผลิตโคเนื้อภายในประเทศ และมีแนวโน้มไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีอยู่อย่างไม่จำกัด ประกอบกับปัจจุบันนักท่องเที่ยวชาวต่างชาติและกลุ่มชาวมุสลิมมีการนิยมบริโภคเนื้อสูงขึ้น สอดคล้องกับ Delgado (1999) ได้สรุปแนวโน้มความต้องการผลผลิตจากการเลี้ยงปศุสัตว์โดยเฉพาะเนื้อสัตว์ชี้ให้เห็นว่า ประเทศกำลังพัฒนาปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเพิ่มขึ้นเป็น 5.4% นับตั้งแต่ปี 1983 ถึง 1993 ในขณะที่ประเทศพัฒนาแล้วเพิ่มขึ้นเพียง 1% และคาดการณ์ปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อในอีก 20 ปีข้างหน้า (ปี 2020) ของประเทศกำลังพัฒนาจะเพิ่มขึ้นประมาณ 2.8% ถือได้ว่าสูงกว่าประเทศที่พัฒนาแล้ว (0.6%) (ปราโมทย์, 2553) ทำให้ความต้องการบริโภคเนื้อโคในประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (กรมปศุสัตว์, 2560) เมื่อย้อนข้อมูลจากรายงานของกรมศุลกากรในช่วงปี 2000-2002 พบว่า ปริมาณการนำเข้าเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อเพิ่มขึ้นจาก 7,883,958 กิโลกรัม เป็น 9,322,483 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าที่เพิ่มขึ้นจาก 266,543,856 บาท เป็น 356,286,222 บาท ในส่วนนี้ คิดเป็นเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จำพวกโคกระบือ คิดเป็นมูลค่า 113,380,716 และ 136,267,202 บาท ในปี 2000-2002 ตามลำดับ และพบปริมาณการส่งออกเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อเพิ่มขึ้นจาก 346,912,928 กิโลกรัม เป็น 517,693,646 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 31,593,801,997 และ 44,337,365,048 ชี้ให้เห็นว่าปริมาณความต้องการบริโภคเนื้อทั้งภายในและภายนอกประเทศเพิ่มขึ้นเป็นปัจจัยมาจากประชากรของโลกที่เพิ่มขึ้นทำให้ความต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจะเป็นโอกาสดีที่จะทำการส่งเสริมให้มีการเลี้ยงโคเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาภาพรวมการเลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2560 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อทั้งหมด จำนวนทั้งสิ้น 2,810,317 ครัวเรือน มีการเลี้ยงโคเนื้อทั้งหมด 4,876,228 ตัว เมื่อเทียบกับจำนวนเกษตรกรและจำนวนโคเนื้อในปี พ.ศ. 2559 ที่มีเกษตรกรผู้เลี้ยงเพียง 2,532,812 ราย มีการเลี้ยงโคเนื้อจำนวน 4,084,559 ตัว เห็นได้ชัดว่าทั้งจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงและจำนวนโคเนื้อที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิมมาก โดยจังหวัดที่มีการเลี้ยงโคเนื้อมากที่สุดคือ จังหวัดนครราชสีมา พบว่า มีการเลี้ยงโคเนื้อจำนวน 245,126 ตัว (กรมปศุสัตว์, 2559) และ (กรมปศุสัตว์, 2560) จากสถิติดังกล่าว ประเมินได้ว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงจะมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงโคเนื้อ ซึ่งมีผลกำไรที่สามารถใช้ในการเลี้ยงชีพได้ แต่การทำฟาร์มโคเนื้อที่จะให้มีผลกำไรที่ดีและประสบผลสำเร็จได้ เกษตรกรต้องมีความรู้ความเข้าใจและศึกษาข้อมูลด้านต่างๆ ด้านการเลี้ยง การจัดการฟาร์มและอาหารเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาฟาร์มให้เติบโตและประสบ

ความสำเร็จอย่างยั่งยืนและมั่นคงในอาชีพ เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของธุรกิจเลี้ยงโคเนื้อในปัจจุบันนี้จะส่งผลต่อความต้องการอาหารที่มีคุณภาพเพิ่มมากขึ้นตามความต้องการของตลาดและผู้บริโภคเป็นสำคัญเช่นกัน และจากสถานการณ์ในปัจจุบันที่เกิดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบอาหารสัตว์ ทำให้วัตถุดิบอาหารสัตว์หลายอย่างมีราคาที่สูงขึ้น โดยเฉพาะวัตถุดิบแหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด และมันสำปะหลัง ดังนั้นจึงได้มีการนำเอา Agro industrial by – products มาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ทดแทน เช่น กากหรือเปลือกมันสำปะหลัง เปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคเนื้อ เนื่องจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีกากมันสำปะหลัง 3% ของมันสำปะหลังทั้งหมดที่เข้าโรงงาน ซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดใหญ่ได้อีก โคเป็นสัตว์กินพืชหรือวัสดุเศษเหลือที่มนุษย์ไม่สามารถกินได้ ดังนั้นการเลี้ยงหรือผลิตโคกระบือเพื่อให้ผลผลิตเนื้อเพื่อการบริโภคที่เพิ่มขึ้นจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสม และน่าพัฒนาต่อไปอย่างยิ่ง สัตว์เคี้ยวเอื้องมีวิวัฒนาการและพัฒนาการที่มีความเฉพาะตัว ในการที่มีระบบการหมักของพืชอาหารสัตว์ในกระเพาะหมักหรือรูเมน (rumen) โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย โปรโตซัวและรา ซึ่งจะผลิตผลผลิตสุดท้ายที่แหล่งพลังงานที่สำคัญให้กับสัตว์คือ กรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids; VFAs)

### 2.1.1 ระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักในโค

#### 2.1.1.1 ลักษณะทั่วไปของระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

ประชากรจุลินทรีย์ในรูเมนจะถูกควบคุมโดยความสมดุลของนิเวศวิทยาภายในรูเมนเอง สภาวะภายในรูเมนมีลักษณะเฉพาะตัวหลายอย่าง และแตกต่างไปจากระบบการหมักในสภาพไร้ออกซิเจนอื่นๆ ส่วนที่สำคัญของสภาวะในรูเมนคือ สามารถรักษาระดับอุณหภูมิได้และถูกควบคุมโดยขบวนการ homeothermic metabolism ของตัวสัตว์เอง นอกจากนั้นแล้วยังมีการแปรปรวนของระดับน้ำและอาหารที่ตกเข้าไปในรูเมน การหมักอาหารจะเป็นการผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid, VFA) ส่วนความเป็นกรดเป็นด่าง (rumen-pH) ของรูเมนจะอยู่ในช่วง 6 – 7 และมีอุณหภูมิอยู่ที่ 39°C ซึ่งค่อนข้างจะคงที่ (เมธา, 2533) จุลินทรีย์ในรูเมนส่วนใหญ่เป็นพวกที่อาศัยในสภาพไร้ออกซิเจน (obligate anaerobes) โดยอาจจะอยู่ได้ในสภาพที่มีออกซิเจนอยู่บ้าง อาจถูกนำมาใช้ประโยชน์ในขบวนการหมักโดยใช้เป็นตัวให้อิเล็กตรอน แต่การมีระดับของออกซิเจนอยู่มากเกินไปอาจจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์พวกนี้ได้ ระดับของออกซิเจนที่มีจะทำให้ความสมดุลของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งการสังเคราะห์ก๊าซมีเทนในรูเมน จุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทนซึ่งอยู่ในรูเมนมีความสำคัญมากต่อความสมดุลของขบวนการหมัก อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีอิทธิพลอีกมากมาย แบคทีเรียที่มีขนาดเล็กนับเป็นครึ่งหนึ่งของประชากรทั้งหมด แต่มีหน้าที่สำคัญยิ่งในขบวนการทำงานในรูเมน จุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าและมีจำนวนมากกว่าแต่มีความสำคัญน้อยในรูเมน ซึ่งประกอบไปด้วย Selenomonads, Oscillospira, Flagellates, Protozoa และ Phycomycetes พวกโปรโตซัวที่มีขนเป็นพวกที่มีขนาดใหญ่มากแต่มีจำนวนน้อย แต่บางทีอาจมีถึง 40% ของประชากรจุลินทรีย์ (เมธา, 2533) ส่วนความสำคัญนั้นนับว่าน้อยมากในรูเมน

#### 2.1.2 แบคทีเรียในรูเมน

จุลินทรีย์ในรูเมนนั้นมีอยู่มากและต่างสปีชีส์กัน ที่พบนั้นไม่ได้มีแหล่งกำเนิดเพียงในรูเมนเท่านั้น แต่อาจติดมากับอาหารหรือมาจากสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เนื่องจากสภาวะในรูเมนเป็นระบบไร้ออกซิเจนและมีอัตราการเปลี่ยนแปลงสูง จึงทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีอาหาร และมีความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสม โดยทั่วไปแล้วในทางทฤษฎีอัตราการขยายตัวของจุลินทรีย์ควรจะสูงกว่าอัตราการไหลออก

ของของเหลวในรูเมน เพราะทั้งแบคทีเรียและโปรโตซัวจะเกาะอยู่ติดกับอนุภาคของอาหาร โดย Hungate (1966) ได้จัดแบ่งชนิดของแบคทีเรียออกตามการใช้ประโยชน์ของอาหารหรือผลผลิตที่สังเคราะห์ได้ดังนี้

1) แบคทีเรียที่ใช้เซลลูโลส (Cellulolytic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตน้ำย่อยเซลลูเลส (cellulase) ซึ่งเข้าย่อยสลายเซลลูโลส นอกจากนั้นอาจสามารถย่อยเซลโลไบโอส (cellobiose) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีมากที่สุดในการเพาะของสัตว์ที่ได้รับอาหารหยาบเป็นหลัก ชนิดที่สำคัญมี *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus* และ *Cillobacterium cellulosolvans* เป็นต้น

2) แบคทีเรียที่ใช้เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose digesting bacteria)

โดยปกติแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลสจะสามารถย่อยพวกเฮมิเซลลูโลสได้ด้วย แต่แบคทีเรียที่ย่อยเฮมิเซลลูโลสไม่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ ชนิดที่สำคัญมี *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lachnospira multiparens* และ *Bacteroids ruminicola* เป็นต้น

3) แบคทีเรียที่ใช้อะไมโลส (Amylolytic digesting bacteria) แบคทีเรียพวกนี้มีเป็นจำนวนมากในการเพาะสัตว์ที่ได้รับอาหารชั้นพลังงานสูง ซึ่งมีอะไมโลสเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ชนิดที่สำคัญมี *Bacteroides amylophilus*, *Succinimonas amylophilus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantitum*, *Streptococcus bovis* และ *Bacteroides ruminicola* เป็นต้น จะเห็นว่าแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลสหลายสปีชีส์ที่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ แต่พวกที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยตรงไม่สามารถที่จะทำเช่นนั้นได้

4) แบคทีเรียที่ใช้กรด (Bacteria utilizing acids) มีแบคทีเรียหลายสปีชีส์ที่สามารถใช้กรดต่างๆ ได้ เช่น formic acid, acetic acid, fumaric acid, lactic acid และ succinic acid สปีชีส์ที่ใช้กรดแลคติกและกรดซัคซินิก คือ *Veillonella gazogenes*, *V. alacalescens*, *Propionic bacterium sp.*, *Selenomonas ruminantum*, *Peptostreptococcus elsdenii* และ *Selenomonas lactilytica* เป็นต้น

5) แบคทีเรียที่ใช้โปรตีน (Proteolytic bacteria) แบคทีเรียหลายสปีชีส์ที่ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งพลังงานพื้นฐานมีหลายชนิดคือ *Bacteroides amylophilus*, *Clostridium sporogens* และ *Bacillus licheniformis* เป็นต้น

6) แบคทีเรียที่ผลิตแอมโมเนีย (Ammonia-Producing bacteria) ตัวอย่างมี *Bacteroides ruminicola*, *Selenomonas ruminantivu*, *Peptostreptococcus elsdenii* และ บางสายพันธุ์ของ *Butyrivibrio*

7) แบคทีเรียที่ผลิตมีเทน (Methanogenic bacteria) ชนิดที่สำคัญมี *Methanobacterium ruminatum* และ *M. formicum* เป็นต้น

8) แบคทีเรียที่ใช้ไขมัน (Lipolytic bacteria) แบคทีเรียหลายชนิดที่มีความสามารถไขกลีเซอรอล และย่อยกลีเซอรอลจากโมเลกุลของไขมัน อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบแน่ชัดว่าสปีชีส์ใดที่มีความสามารถเฉพาะเช่นนั้น

9) แบคทีเรียที่สังเคราะห์วิตามิน (Vitamin-synthesizing bacteria) ยังไม่มีการศึกษาถึงแบคทีเรียที่สังเคราะห์วิตามินอย่างจริงจัง ถึงแม้ว่าจะทราบว่าแบคทีเรียหลายสปีชีส์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินปรัวมได้



### 2.1.3 เชื้อรา (The phycomycetous fungi )

ราที่อาศัยอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนพบได้ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยทั่วไป ทั้งแกะ แพะ โค และกวางบางสายพันธุ์ ซึ่งประโยชน์ที่เห็นเด่นชัดของเชื้อรา คือ การลดการสูญเสียพลังงานจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป วงจรชีวิตของเชื้อรา สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ระยะ คือ

1. ระยะ motile flagellated zoospore เป็นระยะที่เคลื่อนไหวได้ โดยมีหางในการทำหน้าที่พัดโบก
2. ระยะ non – motile vegetative หรือ reproductive phase (sporangium) เป็นระยะที่หยุดการเคลื่อนไหว และเริ่มมีการเจริญเติบโตของเชื้อราเอง บทบาทที่สำคัญของเชื้อรา โดยพบว่าเชื้อราเป็นจุลินทรีย์กลุ่มแรกที่เข้าย่อยสลายโครงสร้างของเยื่อใย โดยไปลดความตึงของเส้นใย ทำให้อาหารเยื่อใยที่สัตว์กินเข้าไปมีการแตกเปราะได้ง่าย ช่วยให้แบคทีเรียเข้าย่อยสลายได้ง่ายและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นเชื้อราจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยเยื่อใย การที่กระเพาะหมักมีเชื้อรามากจะช่วยลดระยะเวลา lag – phase ของการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย ทั้งนี้กลุ่ม anaerobic fungi เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการหมักย่อยอาหารในรูเมน โดยพบว่าเชื้อราเหล่านี้ฝังตัวอยู่ในเยื่อใยของอนุภาคอาหาร (Orpin, 1988) และเชื่อว่ามีส่วนช่วยย่อยเซลลูโลส เชื้อราในกลุ่มที่อาศัยอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนในรูเมนนั้น พบในสัตว์หลายสปีชีส์ เช่น แกะ แพะ โค และกวาง นอกจากนั้นแล้วยังพบใน ceacum ของม้า ช้าง และจิงโจ้ (เมธา, 2533) เชื้อราในระยะแพร่พันธุ์ประกอบด้วย sporangium ซึ่งเกิดจากเส้นใย rhizoids เจริญเติบโตบนผิวดินของเยื่อใยอาหาร sporangia ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะผลิต zoospores เพื่อขยายพันธุ์ต่อไป เชื้อราในกลุ่มนี้มีความสำคัญมาก โดยพบว่า เชื้อราจะเข้าย่อยสลายส่วนของเยื่อใยในอาหารเป็นการช่วยลดการจับยึดแน่นของอนุภาคอาหาร ทำให้แบคทีเรียเข้าย่อยอาหารได้ง่ายขึ้น และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (Orpin,1998) นอกจากนั้นยังพบว่าประชากรของเชื้อรานั้น จะมีปฏิสัมพันธ์กับประชากรของโปรโตซัว (เมธา, 2533)

### 2.1.4 โปรโตซัวในกระเพาะรูเมน ( Rumen protozoa)

โปรโตซัวมีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดา โปรโตซัวส่วนใหญ่เป็นพวก ciliated แต่ก็มีบางสปีชีส์ที่เป็น flagellate Protozoa (Williams, 1988) ซึ่งพบในกระเพาะรูเมนของสัตว์แรกเกิดเท่านั้น การที่มีโปรโตซัวอยู่ในกระเพาะอาหารมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตช้าลง เพราะโปรโตซัวจะกินแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทำให้จำนวนแบคทีเรียมีประโยชน์ลดลง

## 2.2 การย่อยสลายของโปรตีน/ไนโตรเจนในกระเพาะหมัก (Protein/Nitrogen Decomposition in the Rumen)

### 2.2.1 โปรตีน/ไนโตรเจนที่ละลายได้

การย่อยโปรตีนในกระเพาะหมักเกิดจากขบวนการที่เรียกว่าไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ผลของการย่อยจะได้เปปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกใช้ประโยชน์โดยตรงโดยจุลินทรีย์ อีกส่วนหนึ่งจะแตกตัวเป็นแอมโมเนียและสารประกอบคาร์บอน การย่อยสลายจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนนั้นๆ

### 2.2.2 การย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก

จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนโดยเฉพาะแบคทีเรีย จะทำหน้าที่เข้าย่อยสลายโปรตีน กิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของอาหาร แต่อย่างไรก็ตามความเป็นกรดเป็นด่างของสภาพกระเพาะรูเมนอาจมีอิทธิพลมากกว่า pH ที่เหมาะสมของการเข้าย่อยสลายโปรตีนอยู่ระหว่าง

6-7 โปรตีนจะถูกไฮโดรไลซ์ได้เปปไทด์และกรดอะมิโน ต่อจากนั้นจะมีการผลิตแอมโมเนียและกรดอินทรีย์โดยกระบวนการ deamination

### 2.2.3 การประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก

สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์ การศึกษาในห้องปฏิบัติการและการใช้ถุงในล่อนซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในปัจจุบัน

#### 2.2.3.1) การศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์

การศึกษาโดยวิธีนี้ต้องใช้สัตว์ที่เจาะกระเพาะและติดตั้งท่อแคนนูลา (re-entrant cannulae) ในกระเพาะหมักและ/หรือกระเพาะจริง และลำไส้เล็กส่วนต้น โปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก สามารถคำนวณได้จากความแตกต่างระหว่างโปรตีนที่สัตว์กินเข้าไปกับผลบวกของโปรตีนที่สร้างภายในตัวสัตว์ (endogenous pro-tein) และโปรตีนที่สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังกระเพาะจริง หรือ ลำไส้เล็ก การประมาณค่าของโปรตีนที่สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ทำได้โดยใช้สารประกอบที่มีคุณสมบัติจับจุลินทรีย์ (microbial markers) เช่น กรดนิวคลีอิก (nucleic acids) กรดไดอะมิโนไพเมลิก (diaminopimelic acid, DAPA) หรือธาตุไอโซโทป

2.2.3.2) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ การหาค่าการย่อยสลายได้ในห้องปฏิบัติการสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

##### 2.2.3.2.1) การหาค่าการละลายได้ (Solubility)

หลักการ คือ การสกัดไนโตรเจนที่ละลายได้จากอาหาร ด้วยสารละลายที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน สารละลายที่ใช้มีหลายชนิด เช่น โซเดียมคลอไรด์ และน้ำกลั่น ผลการหาค่าการละลายได้ของโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น pH และวิธีการสกัด

##### 2.2.3.2.2) การวัดปริมาณผลิตภัณฑ์สะสมสุดท้าย (end-product accumulation)

หลักการ คือ การวัดปริมาณของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นหลังการจุ่มแช่อาหารลงในของเหลวในกระเพาะ-หมักแล้วคำนวณหาค่าการย่อยสลายโปรตีนจากปริมาณแอมโมเนีย

2.2.3.2.3) การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) เป็นการใช้อินไซม์จากแหล่งต่างๆ ที่มีคุณสมบัติสามารถย่อยสลายโปรตีนให้เป็นแอมโมเนียแล้วทำการวัดปริมาณแอมโมเนียและทำการคำนวณหาค่าการย่อยสลายโปรตีนจากปริมาณแอมโมเนีย

2.2.3.2.3) การหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงในล่อนเทคนิคการใช้ถุงในล่อน หรือวิธี *in sacco* หรือ *in situ* เป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายคือ การใช้ถุงในล่อนซึ่งบรรจุอาหารที่ต้องการหาค่าการย่อยสลายโปรตีน จุ่มแช่ในกระเพาะหมักของสัตว์ทดลอง โดยใส่ทางแคนนูลาทิ้งไว้ในช่วงเวลาต่างๆ กัน นำค่าสัดส่วนโปรตีนที่สูญหายไปในแต่ละเวลาต่างๆ กันมาคำนวณโดยใช้สมการที่แนะนำโดย Orskov และ McDonald (1979):

$$p = a + b(1 - \exp(-ct))$$

เมื่อ  $p$  = the degradation at time  $t$ .

$a$  = water soluble N extracted by cold water rinsing (0 hr bag)

$b$  = potentially degrade N, other than water soluble N

$c$  = fractional rate of degradation of feed N per hour

จากสมการสามารถคำนวณค่า potential rumen degradability ได้จาก  $a + b$  ซึ่งโดยทั่วไปแล้วค่า  $a + b$  จะต้องไม่เกิน 100% แต่ถ้านำ fractional outflow rate ของ digesta ที่ไหลผ่าน rumen มาพิจารณาด้วย และคำนวณโดยสมการข้างล่าง ค่าที่คำนวณได้จะเรียกว่า effective rumen degradability

$$dg = a + bc/(c + k)$$

เมื่อ  $dg$  = effective protein degradability

$k$  = fractional outflow rate of digesta per hour

ค่า fractional outflow rate ( $k$ ) จะขึ้นอยู่กับระดับการกินอาหาร (level of feed intake) ของสัตว์ กรณีที่สัตว์ได้รับอาหารผสมระหว่างอาหารชั้นและอาหารหยาบและได้รับในระดับเพื่อการดำรงชีวิต ค่า  $k$  ที่ใช้ควรจะเป็น 0.046/hr หรือ 0.05/hr แต่ถ้าสัตว์ที่ได้รับอาหารอย่างเต็มที่ ค่า  $k$  ควรจะเป็น 0.08/hr

**2.2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อน (วิศิษฐ์พร, 2542)** ปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือ ขนาดของรูพรุนของถุงไนล่อน (bag pore size) ขนาดอนุภาคของชิ้นอาหารที่จะทำการหาค่าการย่อยสลาย (sample particle size) ขนาดของตัวอย่างที่บรรจุถุงไนล่อน (sample size) ขนาดของถุงไนล่อน (bag size) ช่วงระยะเวลาของการจุ่มแช่ถุงไนล่อน (time of incubation in the rumen) ชนิดของสัตว์ทดลอง (animal species) ชนิดของอาหารที่ให้สัตว์ทดลองกิน (basal diet of cannulated animal) และอัตราการไหลผ่านของอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายจากกระเพาะหมัก (flow rate of undegraded feed)

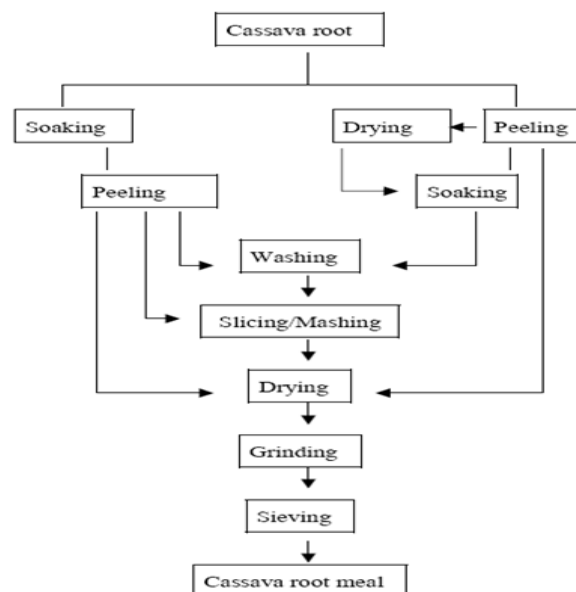
### 2.2.5 ขนาดรูพรุนของถุง

การพิจารณาเลือกขนาดรูพรุนของถุงไนล่อนต้องคำนึงถึงคุณสมบัติในการให้ของเหลวในกระเพาะหมักไหลผ่านเข้าออกได้สะดวก ในขณะเดียวกันต้องป้องกันการไหลออกของชิ้นส่วนอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลาย อาหารที่มีอนุภาคเล็กอาจไหลออกจากรูพรุนได้ โดยปกติการเตรียมตัวอย่างอาหารที่จะหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนต้องทำการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงสิ่งที่จะต้องคำนึงถึงคือ อาหารแต่ละชนิดมีความเปราะต่างกัน ฉะนั้นในการทำการบดตัวอย่างอาหารการกระจายตัวของขนาดและส่วนประกอบของอาหารที่ผ่านตะแกรง ย่อมแตกต่างกันตามความเปราะของอาหารนั้นๆ

## 2.2 มັນสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวเศรษฐกิจที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายเกือบทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในแต่ละปีมีผลผลิตมันสำปะหลังออกมามากทำให้เกษตรกรขายได้ในราคาต่ำ โดยมีการปลูกทั่วประเทศประมาณ 6 ล้านไร่ ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตรายใหญ่อันดับที่ 3 รองจากบราซิลและไนจีเรีย หัวมันสดของไทยที่ผลิตได้ถูกแปรรูปเป็นมันเส้น (cassava chips), มันอัดเม็ด (cassava pellets) และแป้งมัน (cassava starch) และส่งออกไปขายยังกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป และเอเชีย ในบางประเทศ ซึ่งประเทศเหล่านี้ส่วนใหญ่นำไปใช้ในการเลี้ยงสัตว์ (ปราโมทย์, 2554) เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งอาหารพลังงาน มีคุณค่าทางโภชนาการสูง สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดีมีประสิทธิภาพ มีอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักได้เป็นอย่างดี สามารถนำมาเป็นส่วนประกอบอาหารชั้นที่เป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคเนื้อในระดับสูงได้ แม้ว่ามันสำปะหลังมีโปรตีนต่ำ มี

ปริมาณแป้งสูง และความสามารถในการย่อยสลายในกระเพาะหมักมีอัตราสูง แต่มันสำปะหลังมีอัตราการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักสูงกว่าข้าวโพด (พีรพจน์และกฤตพล 2546) เพราะแป้งในมันสำปะหลังเป็นแป้งอ่อน จึงย่อยได้ง่าย สัตว์จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย มันสำปะหลังมีผนังเซลล์ต่ำ ไม่มีปัญหาเรื่องเยื่อใยระดับเยื่อใยประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีความเหมาะสมกับการใช้เป็นอาหารสัตว์ หากใช้ในอาหารโค จะสามารถลดความเครียดจากความร้อนได้ เนื่องจากมีผนังเซลล์ต่ำ ความร้อนที่เกิดขึ้นจากขบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะมีค่าต่ำตามไปด้วย และยังมีราคาถูกเมื่อนำไปประกอบสูตรอาหารทำให้ต้นทุนอาหารต่ำหากใช้เป็นแหล่งพลังงานหลักในสูตรที่มียูเรีย กากน้ำตาล กากผงชูรส จะทำให้สูตรอาหารมีราคาต่ำกว่าสูตรอาหารที่ใช้ข้าวโพดหรือปลายข้าว จะเห็นว่าในอาหารโคคนมนำมันเส้นมาทดแทนเมล็ดธัญพืชในสูตรอาหาร ทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อการผลิตนม (Sommart, 1998) อย่างไรก็ตามในภาวะเศรษฐกิจและภาวะราคาน้ำมันที่เพิ่มขึ้นตลอดมา มันสำปะหลังและข้าวโพด ถูกนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นส่วนผสมในการผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์ตามความต้องการของตลาดอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดการหาแหล่งพลังงานทดแทนจากแหล่งอื่นตามมา ด้วยเหตุนี้ส่งผลให้ราคาของวัตถุดิบแหล่งพลังงานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบโดยตรงต่อต้นทุนในการผลิตอาหารสัตว์เป็นอย่างมาก จึงได้มีการศึกษาหาแหล่งวัตถุดิบพลังงานชนิดอื่นมาทดแทน เช่น กากมันสำปะหลังซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการนำมาใช้ในการเลี้ยงโคนม

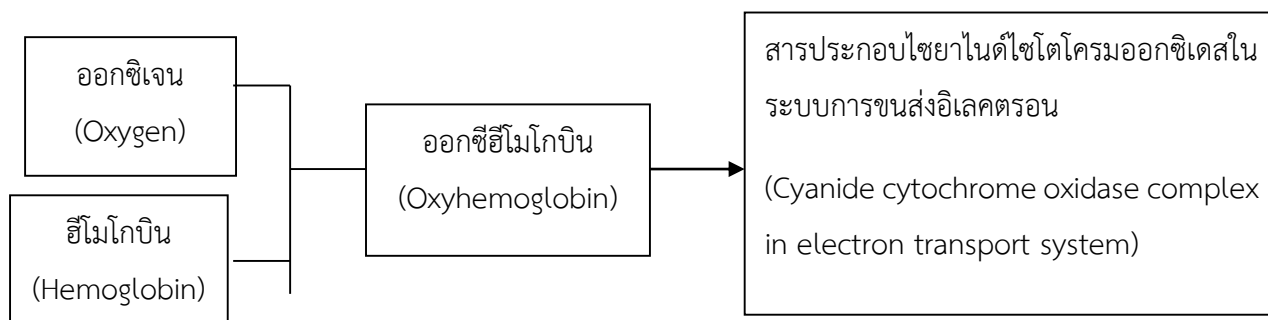


ภาพที่ 2.1 ขั้นตอนการคัดแยกกากมันสำปะหลัง (Martins et al., 1993)

ทั้งนี้ข้อจำกัดในการใช้วัตถุดิบจากมันสำปะหลังคือ สารพิษจำพวก hydrocyanic acid (HCN) มีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวคล้ายนมในส่วนต่างๆ เช่น ในกะเปาะใต้ผิวหรือใต้เปลือก ความเป็นพิษของ HCN คือ เพิ่มอัตราการหายใจ การกระตุ้นการเต้นของชีพจร การกระตุกของกล้ามเนื้อ การเกิดความผิดปกติทางเคมีที่เกิดขึ้น จะกดประสาทที่ Medullar center ทำให้ระบบการหายใจบกพร่อง และทำให้สัตว์ตายได้ เกิดภาวะขาดออกซิเจนและปรากฏการณ์นี้เรียกว่า Cellular hypoxia หรือ Cytotoxic anoxia ซึ่งไม่สามารถส่ง

ออกซิเจนให้กับขบวนการขนส่งอิเล็กตรอน เป็นผลเนื่องจากการเกิดของสารประกอบไซยาไนด์ไซโตโครมออกซิเดส (รูปที่ 2.2) (ปีตุนาถ, 2547)

ภาพที่ 2.2 กระบวนการขัดขวางการหายใจของเซลล์จากสารพิษไซยาไนด์



ที่มา: ปีตุนาถ (2547)

### 2.2.1 คุณค่าทางโภชนาการของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงาน ที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบหลัก มีโปรตีนต่ำ โดยมีพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) 3,300 kcal/kg มีเยื่อใยประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ (อุทัย และคณะ, 2540) แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมี ขึ้นอยู่กับชนิดของมันสำปะหลังและปัจจัยอื่นๆ (ตารางที่ 1) รากของมันสำปะหลังถือเป็นบริเวณที่มีการสะสมอาหารประเภทแป้งอยู่มากที่สุด ซึ่งจัดเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพลังงานได้ จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในมันสำปะหลังของเมธา และคณะ (2538) พบว่า ระดับของโปรตีนของแป้งมัน มันเส้น มันอัดเม็ด เปลือกมัน กากมันสำปะหลังมีระดับต่ำ แต่มีแป้งหรือพลังงานอยู่สูง นอกจากนี้ยังสามารถนำส่วนของใบมันสำปะหลังไปตากแห้งไปใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อเสริมโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (เมธาและฉลอง, 2533) เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการต่างๆ ในระดับสูง คือ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) 90% มีโปรตีนที่ย่อยได้ (digestible protein, DP) 18.3% โภชนาที่่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrient, TDN) 56% โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) 24.7% ether extract (EE) 5.9% เยื่อใยหยาบ (crude fiber, CF) 17.3% โภชนาที่ไม่ใช่ไนโตรเจน (nitrogen free extract, NFE) 44.2% เถ้า (Ash) 7.9% แคลเซียม (calcium, Ca) 1.5% ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) 0.4% เยื่อใย NDF (neutral detergent fiber) 29.6% และ เยื่อใย ADF (acid detergent fiber) 24.1% และนอกจากนี้ Wanapat *et al.* (2000a) อ้างโดยปราโมทย์ (2554) ทำการศึกษาวิจัยมันสำปะหลังทั้งต้นที่ ความสูงของต้นเหนือจากพื้น 15-30 เซนติเมตร พบว่ามันสำปะหลังทั้งต้นที่อายุประมาณ 3 เดือน เมื่อนำมาตากแห้งเพื่อผลิตมันเฮย์ (cassava hay) มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่า alfalfa hay และกากถั่วเหลือง (soybean meal) โดยพบว่ามีกรดอะมิโนจำพวก methionine (Met) isoleucine (Ile) และ lysine (Lys) ในปริมาณที่สูงกว่า

ตารางที่ 2.1 คุณค่าของอาหารของมันสำปะหลัง ข้าวโพด ปลายข้าว โดยมันสำปะหลังปรับโปรตีนโดยกากถั่วเหลือง หรือปลาป่น

องค์ประกอบ	มันสำปะหลัง	ข้าวโพด	ปลายข้าว
โปรตีน (%)	2.00	8.00	8.00
พลังงานสุกร (kcal/kg)	3260	3300	3596
ไขมัน (%)	0.75	4.00	0.90
เยื่อใย (%)	4.00	2.50	1.00
แคลเซียม (%)	0.12	0.01	0.03
ฟอสฟอรัส (%)	0.05	0.10	0.04
ไลซีน (%)	0.09	0.25	0.27
เมทไธโอนีน-ซิสตีน (%)	0.06	0.39	0.32
ทริปโตเฟน (%)	0.02	0.09	0.10
ทรีโอนีน (%)	0.07	0.32	0.36
ราคา (บาท/กก.)	2.80	5.50	6.50

ที่มา: อุทัย และคณะ (2540), \* หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ 6 ก.ค. 2548 อ้างโดยปราโมทย์ (2554)

## 2.2.2 กากมันสำปะหลัง (Cassava root meal)

กากมันสำปะหลังเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมจากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง หรือผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร (Agro industrial by – products) ซึ่งมีปริมาณมากในแต่ละปี (สุภัตรา, 2556) สำหรับกระบวนการผลิตเริ่มจากการนำหัวมันสำปะหลังสด (ความชื้นประมาณ 63.8%; แป้งประมาณ 27.7%) แยกดินออกและล้างทำความสะอาด จากนั้นเครื่องสับ (Root cutter) จะทำการสับหัวมันสำปะหลังออกเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อผ่านไปยังขั้นตอนการขูดหัวมันสำปะหลังด้วยเครื่องขูด (Rasper) แล้วแยกกากออก ในส่วนที่เป็นแป้งนั้นจะแช่อยู่ในบ่อน้ำแป้ง ซึ่งจะนำไปทำการพอกสีด้วยไโอกำมะถันและจะนำแป้งนี้มาแยกกากออกอีกครั้งด้วยตะแกรงโยก น้ำแป้งที่ได้นี้จะนำไปทำให้ข้นด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงและอบแห้ง ซึ่งจากกระบวนการนี้จะได้แป้งมันสำปะหลัง เพื่อนำไปคัดแยกโดยใช้ตะแกรงโยกต่อไป ส่วนที่เป็นกากที่ได้จากการคัดแยกทั้งสองครั้ง เป็นส่วนที่เรียกว่า กากมันสำปะหลัง (สุรพงษ์, 2525 อ้างโดยปิณฑาน (2547)) ซึ่งในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ถ้าใช้หัวมันสำปะหลัง 100% จะทำให้ได้กากมันสำปะหลัง 7% และจากรายงานของสถิติการเกษตรปี 2544 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่าปริมาณผลผลิตของหัวมันสำปะหลังสดในปี 2545-2546 มีปริมาณ 18.4 ล้านตัน/ปี ดังนั้นจะมีกากมันสำปะหลังจากกระบวนการผลิตประมาณ 1,200,000 ตัน/ปี กากมันสำปะหลังเมื่อผ่านกระบวนการผลิตแป้งมันจากโรงงานยังคงมี NFE อยู่ประมาณ 50.0-60.0%DM พลังงานรวม (GE) 1.45-2.50 MJ/kg พลังงานย่อยได้ (DE) 0.80 MJ/kg และสัตว์สามารถย่อยและใช้ประโยชน์ได้ถึง 74% ถือว่ามีปริมาณมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารโคเนื้อได้ องค์ประกอบทางโภชนาของกากมันสำปะหลังมีความแตกต่างกัน เนื่องจากความผันแปรของคุณภาพของหัวมันสำปะหลังในแต่ละภูมิภาค สายพันธุ์ ความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ใช้เพาะปลูกอายุการเก็บเกี่ยวฤดูกาลและวิธีการสกัดแป้งจึงทำโภชนาของกากมันสำปะหลังมีสัดส่วนที่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม กากมันสำปะหลังยังคงจัดเป็นของเสีย

ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตแป้งมัน และยากต่อการกำจัด เนื่องจากมีปริมาณมาก ที่ผ่านมารัฐบาลจึงพยายามสนับสนุนให้หาแนวทางการประยุกต์ใช้ โดยร่วมมือกับภาครัฐและเอกชนหาแนวทางและนำไปใช้ใน รูปแบบของงานวิจัยอย่างบูรณาการและนำไปใช้อย่างถูกวิธี เพื่อลดการเกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ในสถานะ เศรษฐกิจเช่นนี้กากมันสำปะหลังถือว่าเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด เนื่องจากเป็นแหล่งวัตถุดิบพลังงานที่มีราคาต่ำ

**ตารางที่ 2.2** องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังก่อนและหลังหมักยีสต์

โภชนะ	กากมันสำปะหลัง (%DM)	
	ก่อนหมักยีสต์	หลังหมักยีสต์
โปรตีน (crude protein, CP)	4.4	10.9
ไขมัน (ether extract, EE)	3.6	4.5
เยื่อใย (crude fiber, CF)	3.8	3.2
คาร์โบไฮเดรต (nitrogen free extract, NFE)	85.7	77.9
เถ้า (ash)	2.1	3.5

ที่มา: ญัฐพงษ์ และคณะ (2560)

คุณลักษณะโดยทั่วไปของกากมันสำปะหลัง โดยปกติกากมันสำปะหลังจะมีลักษณะเปียกความชื้น ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ แต่กากแป้งมันสำปะหลังที่ตากแห้งและใช้เป็นวัสดุผสมกับมันเส้นบดหรือมันอัดเม็ด มักมีคุณภาพต่ำลง อย่างไรก็ตาม กากมันสำปะหลังยังคงมีคุณค่าทางอาหารเหลืออยู่โดยเฉพาะในส่วนที่เป็น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ที่ย่อยง่าย (nitrogen free extract; NFE) คือ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย ซึ่งพบว่ามีอยู่ประมาณ 65-70 เปอร์เซ็นต์ และสามารถนำมาใช้ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์ได้ (สมิต, 2560) เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีความชื้นสูงและโปรตีนต่ำ ดังนั้น ก่อนที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ จึงควรต้อง ปรับปรุงคุณภาพโดยการหมัก ซึ่งถือเป็นการปรับปรุงคุณภาพของอาหารสัตว์ การหมักมันสำปะหลังและ ผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังเป็นกระบวนการหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ ซึ่งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของ จุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังนั้น สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในวัสดุหมักตามปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่ม จำนวนขึ้นได้ หมายความว่า ปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่มีความเหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์ แต่ละชนิด ผลที่ได้จากการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นการเพิ่มโปรตีนในกากมัน สำปะหลังที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำ (สุภัตรา, 2556)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางโภชนาของกากมันสำปะหลังหมักยีสต์

โภชนา (%)	กากมัน สำปะหลัง สด จารุวัลย์ (2550)	กากมันสำปะหลังหมักยีสต์				
		บุญเสริม และคณะ (2558)	ประพัฒน์ (2558)	ศุภชัย และคณะ (2557)	กำไล และคณะ (2559)	ฐิติมา และคณะ (2561)
วัตถุแห้ง	90.07	94.25	37.53	17.7	-	46.9
โปรตีน	2.96	11.2	9.43	7.78	1.81	16.1
ไขมัน	1.13	1.8	-	0.22	5.07	-
เถ้า	16.55	16.2	-	4.01	2.00	-
NDF	44.70	69.0	63.21	26.2	-	31.5
ADF	33.07	47.3	49.75	16.6	-	18.1
ADL	-	23.1	-	2.60	-	-
NFE	15.27	-	-	-	15.39	-

หมายเหตุ: NDF = Neutral Detergent Fiber, ADF = Acid Detergent Fiber, ADL = Acid Detergent lignin และ NFE = Nitrogen Free Extract

### 2.2.3 การใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

จากปริมาณผลผลิตของมันสำปะหลังที่ออกจากไร่เป็นจำนวนมากและโรงงานผลิตแปงมันสำปะหลังเป็นเป้าหมายหนึ่งสำหรับการจำหน่ายจึงเป็นผลโดยตรงต่อปริมาณของกากมันสำปะหลังตามที่มีอัตรา และเพ็ญจิตร (2542) รายงานว่า เมื่อใช้หัวมันสดจำนวน 47.8 ตัน จะได้อากมันสำปะหลังถึง 12.86 ตัน หรือคิดเป็น 26.90% ของหัวมันสด สอดคล้องกับกฤตพล (2544) สํารวจกำลังผลิตของโรงงานมีกำลังผลิตถึง 200-2,000 ตันต่อวัน มีกากมันสำปะหลัง 40-50 ตันต่อ วันคิดเป็น 23.39% โดยคุณภาพทางโภชนาการและองค์ประกอบทางเคมีเป็นสิ่งสำคัญในการพิจารณาเพื่อชี้ให้เห็นถึงคุณภาพและแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์กากมันสำปะหลัง โภชนาของมันสำปะหลังคือ DM 86-95%, Ash 1-11%, CP 1-3.5%, CF 5-28%, fat 0.1-0.8% และ starch 65-90% (Sriroth et al., 2000), NDF 25.65% และ ADF 17.79% (พีรพจนและกฤตพล, 2546) ที่ผ่านมา ได้มีการทดลองศึกษาการนำส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลังมาใช้เลี้ยงโคเนื้อและโคนม พบว่าสามารถนำส่วนของหัวมัน มันอัดเม็ด มันเส้น กากมัน มาใช้ได้จริง แม้ว่ามันสำปะหลังจะมีโปรตีนต่ำ มีปริมาณแป้งสูง และการย่อยสลายในกระเพาะหมักมีอัตราสูงกว่าข้าวโพด (พีรพจน และกฤตพล, 2546) แต่มันเส้นสามารถทดแทนเมล็ดธัญพืชในสูตรอาหาร Wanapat et al., (2000a) และ Wanapat et al. (2000b) ศึกษาการเสริม Cassava hay เพื่อใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในอาหารหยาบในโคนม พบว่าการเพิ่มระดับ Cassava hay จาก 0.56 ถึง 1.70 kg/head/day และให้อาหารชั้น 0.1 และ 1.6 kg/head/day ตามลำดับ ไม่มีผลต่อผลผลิตน้ำนม Wanapat et al. (2000a) ศึกษาการเสริม Cassava hay ในอาหารโคนม ที่ระดับ 0, 0.8 และ



1.7 kg/head/day และมีการให้อาหารชั้นในระดับที่เหมือนกัน (concentrate: milk yield = 1:2) ร่วมกับ ฟางหมักยูเรีย (5%) และให้กินเติมที่ไม่มีผลต่อผลผลิตน้ำนม มีเปอร์เซ็นต์ fat, protein และ lactose เพิ่มขึ้น โดยแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) จารุวัลย์ (2550) รายงานว่า การใช้กากมันสำปะหลังและไขมันสำปะหลังในสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องพบว่า ไม่ทำให้สภาวะแวดล้อมในกระเพาะรูเมนของแกะแตกต่างไป จากอาหารที่ไม่ใช้กากมันสำปะหลังและไขมันสำปะหลัง โดยพบว่าแกะให้สมรรถภาพทางการผลิตได้ดีกว่าและสามารถลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้ เนื่องจากกากมันสำปะหลังและไขมันสำปะหลังมีราคาต่ำกว่า จึงเป็นอีก ทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรรายย่อยที่เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง อย่างไรก็ตาม บุญเสริมและคณะ (2558) รายงานว่า การเพิ่มระดับกากมันสำปะหลังที่ได้จากการกระบวนการผลิตเอทานอลในสูตรอาหารผสมสำเร็จมีผลต่อ ปริมาณการกินได้และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ที่ลดลง

#### 2.2.4 การเพิ่มโปรตีนในผลพลอยได้จากมันสำปะหลัง

โดยทั่วไป วิธีการหมักมันสำปะหลังและผลพลอยได้จากมันสำปะหลังที่นิยมมีอยู่ 2 วิธี คือ liquid substrate หรือ submerged fermentation technique และ solid substrate fermentation technique Balagopalan et al. (2002) อธิบายถึงการหมักแบบ Liquid substrate fermentation technique ว่าเป็น กรรมวิธีหนึ่งที่อาหารจะอยู่ในรูปคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอื่นๆ และอยู่ในสถานะแขวนลอย ขณะที่ น้ำจะอยู่ในสถานะอิสระตลอดเวลา กระบวนการหมักจะสมบูรณ์เมื่ออยู่ในปอดเชื้อเมื่อเสริมจุลินทรีย์ และ จำเป็นต้องใช้เอนไซม์หรือกรดเสริมในแป้งเมื่อใช้ยีสต์เป็น microbial inoculums และต้องผ่านขั้นตอนการ centrifugation/ultra-filtration ก่อนการแยกเก็บเซลล์ยีสต์ การหมักมันสำปะหลังในแคนาดาด้วยวิธี submerged fermentation ต้องใช้อุณหภูมิสูงร่วมกับราที่ทนความร้อน เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนมันสำปะหลัง เป็นอาหารหมักโปรตีนสูง เช่นเดียวกับ Mikami et al. (1982) พบว่า การใช้ราสายพันธุ์ *Trichoderma harzianum* และ *Cephalosporium eichhorniae* หมักกับมันสำปะหลังแบบ liquid substrate fermentation สามารถเพิ่มโปรตีนได้ถึง 37.6 เปอร์เซ็นต์ (dry matter basis) เปรียบเทียบ 2.4 เปอร์เซ็นต์ ในมันสำปะหลังตากแห้งที่ไม่ได้หมักด้วยรา

สำหรับวิธีการ Solid substrate fermentation (SSF) คือ bio-system ที่ประกอบด้วย solid, porous, waterabsorbing matrix ซึ่งสามารถย่อยสลาย หรือไม่ย่อยสลาย อาศัยน้ำทำปฏิกิริยากับ solid/gas interface ในส่วนผสมของอากาศที่มีออกซิเจนกับแก๊สอื่นๆ ไกลเวียอย่างอิสระภายใต้สภาวะความดันต่ำ ภายใน fermenting substrate/mash (Raimbault, 1998) นอกจากนี้ solid/gas interface ต้องมีสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็วรา ยีสต์ หรือแบคทีเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ หรือ อาหารเลี้ยงเชื้อผสม ในขณะเดียวกัน solid matrix ต้องมีการเคลื่อนไหวเบาๆ และต้องไม่ปนเปื้อนสารยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ และต้องมีคุณสมบัติดูดซับโภชนะต่างๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และแร่ธาตุ (Raimbault, 1998) วิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย และเป็นวิธีที่ประหยัดต้นทุนในการผลิต เนื่องจากเซลล์ของจุลินทรีย์ จะติดอยู่กับ Substrate ซึ่งไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกรอง หรือปั่นเหวี่ยง เพื่อ คัดแยกเอาเซลล์ของจุลินทรีย์

Solid state fermentation (SFF) คือ bio-system ที่สามารถย่อยสลายหรือไม่ย่อยสลายได้ โดย อาศัยน้ำทำปฏิกิริยากับ solid/gas interface ในส่วนผสมของอากาศที่มีออกซิเจนกับแก๊สอื่นๆ ไกลเวียอย่าง อิสระภายใต้สภาวะความดันต่ำภายใน fermenting substrate/mash (Raimbault, 1998) เป็นวิธีการที่ ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในการผลิตอาหารพื้นบ้านและเครื่องดื่มประเภทที่มีแอลกอฮอล์ เช่น ข้าว

หมาก เต้าเจี้ยว เหล้าสาเก ข้อได้เปรียบของ SSF เมื่อเปรียบเทียบกับ submerged fermentation ได้แก่ 1) SSF จะไม่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียชนิดอื่นเพราะการเจริญของแบคทีเรียถูกจำกัดด้วย low water activity 2) กระบวนการผลิตจากกระบวนการหมักทำได้ง่ายเพราะมีความชื้นอยู่น้อย กล่าวคือ ทำให้แห้งได้ง่ายเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ 3) มีของเสียที่ต้องกำจัดน้อยและใช้พลังงานน้อย (Sato and Sudo, 1999 และ Hosobuchi and Yoshikawa, 1999) ได้พยายามเสริมแหล่งไนโตรเจนธรรมชาติ เช่น มูลไก่ เปลือกสับปะรด ถั่วลิสง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก (Balagopalan, 1988) การหมักมันสำปะหลังโดยตรงด้วย *Aspergillus*, *Neurospora* และ *Rhizopus* สามารถเพิ่มโปรตีนได้ (Khor et al., 1977) ถ้าทำการเสริมด้วยแหล่งไนโตรเจน เช่น เปลือกสับปะรดที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มโปรตีนได้ถึง 4-5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เสริมเปลือกสับปะรด 12.5% และมูลไก่ 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มโปรตีนได้ถึง 7% นอกจากนี้ถั่วเหลืองและถั่วลิสงเป็นวัตถุดิบเสริมที่ดีกว่าในการเพิ่มโปรตีนให้กับมันสำปะหลังหมัก Zvauya and Muzondo (1993) ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ *A. oryzae* ใน solid state fermentation ในระหว่างหมักทำการเพิ่มระดับ pH ให้เป็น 5 หลังจาก 10 ชั่วโมง ค่อยๆ ลดระดับ pH ลงเหลือ 3.1 yeasts และ lactic acid bacteria พบว่า ในช่วงแรกจะเพิ่มขึ้นและลดลงเมื่อผ่านระยะเวลาของการหมัก 50 ชั่วโมง โปรตีนเพิ่มขึ้นจากน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ เป็น 19 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบ่งลดลงจาก 80g/100g substrate เป็น 4g/100g substrate ต่อมา Yuthavong and Gibbons (1994) รายงานว่า การใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้การเจริญของ *C. eichhorniae* ใน solid state process สูงสุด โดยใช้ขังข้าวโพดผสม เพื่อเป็นการระบายอากาศภายในภาชนะหมัก หลังการบ่ม 1 สัปดาห์ ผลผลิตโปรตีนเพิ่มเป็น 12-19% ขณะที่ Reade and Gregory (1975) รายงานว่า การใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH และกระบวนการปลอดเชื้อ แต่ใช้กระบวนการต้นทุนต่ำในการเปลี่ยนมันสำปะหลังโดยใช้ *Aspergillus fumigatus* ใน submerged fermentation. ผลสรุปได้ว่า *Aspergillus* sp. เป็นราที่ให้ผลผลิตโปรตีนดีที่สุด (Tani et al. 1986) ในปีเดียวกัน Daubresse et al. (1986) พบว่า การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยกระบวนการ solid state fermentation โดยนำมันสำปะหลังตากแห้งมาบดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร และเพิ่มความชื้นให้เป็น 40% หลังการอบไอน้ำทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 40°C แล้วนำมาผสมกับสารละลายอาหาร (per 100 g dry matter: 3.4 g urea, 1.5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.8g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , และ 22.7g citric acid) ที่มี *Rhizopus oryzae* เป็น inoculum นำส่วนผสมมันสำปะหลัง สารละลายอาหารและ inoculum ไปเกลี่ยเป็นชั้นบางๆ (2-3 cm) บนถาด แล้วนำไปใส่ในตู้ที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์เป็นระยะเวลา 65 ชั่วโมง พบว่า โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 1% ก่อนการหมักเป็น 10.7% หลังการหมัก Charoensiri et al. (1990). ได้ทำการศึกษาโดยใช้ราที่พบในดิน *Cephalosporium eichhorniae* 152 มาเพิ่มโปรตีนในอาหารสัตว์ ราชชนิดนี้มีความสามารถในการทนต่อความร้อนและความเป็นกรด เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45°C และ pH 3.8 ทั้งยังสามารถใช้ในการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง Soccol (1994) ศึกษากระบวนการ solid state fermentation ในมันสำปะหลังโดยใช้ *Rhizopus* spp. พบว่า โปรตีนเพิ่มจาก 1.75 เปอร์เซ็นต์ เป็น 11.3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Zvauya and Muzondo (1994) ใช้ระดับความชื้นเริ่มต้นที่ 400, 450, 500 และ 600 g/kg บ่มที่ 30, 35, 40 และ 45°C และจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้  $2 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^7$  และ  $2 \times 10^8$  spores/g ราชชนิด *Aspergillus* spp ชนิด (*A. niger*, *A. oryzae* and *A. hennbergii*) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของราเพื่อเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง คือ ความชื้นเริ่มต้นที่ 550 g/kg ที่ 40°C และจำนวนสปอร์ของรา  $2 \times 10^7$  spores/g substrate และจากข้อมูลที่ผ่านมา พบว่า ราหลายชนิดที่เจริญอยู่ตามแหล่งธรรมชาติสามารถนำมาเลี้ยงให้

เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคุณสมบัติผลิตเป็นโปรตีน SCP ได้ Pond and Maner (1984) รายงานว่า SCP จากรา *Parcilomyces variottii* มีโปรตีนและความน่ากินสูง และสามารถใช้อาหารสุกรได้ในระดับสูง และมีโปรตีนที่ย่อยได้ประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ สมดุล amino acid คล้ายคลึงกับกากถั่วเหลืองมากแต่อาจมีซิสไตร์นต่ำกว่าเล็กน้อย

นอกจากนี้จะมีวิธีการหมักแบบอาศัยการเจริญเติบโตแบบเกื้อกูล ซึ่งเป็นการนำกากของเสียหรือวัสดุที่เหลือใช้จากการเกษตร และ/หรือผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งส่วนมากเป็นสารคาร์โบไฮเดรต อุตสาหกรรมที่ไม่ใช้น้ำตาล เช่น กากของเสียที่ประกอบด้วยแป้งจากวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ (จักรกริช, 2555) โดยอาศัยหลักการเจริญเติบโตแบบ Symbiotic Growth ของจุลินทรีย์ 2 ชนิด เช่น Swedish Symba Process คือ เริ่มต้นด้วยการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล โดยใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส เช่น *Endomycopsis fibuligera* จะปล่อยเอนไซม์อะไมเลส ออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ต่อจากนั้นเชื้อ *Candida utilis* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายประมาณ 90-94 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นเซลล์ของ *C. utilis* และมีผลผลิตสุดท้ายซึ่งเรียกว่า Symba yeast อันประกอบด้วย *C. utilis* เป็นหลักเนื่องจากมีอัตราการเจริญสูงกว่า *E. fibuligera* สำหรับการใช้อย่างอื่นที่อยู่ในรูปน้ำเสียที่ได้จากของเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันฝรั่งที่มีค่า BOD เริ่มต้น 10,000-20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อผ่านกระบวนการหมักด้วยระบบนี้แล้ว จะสามารถผลิตเซลล์ยีสต์ได้ประมาณ 250-300 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และมีค่า BOD จะลดลงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (Jar, 1969) สอดคล้องกับประภาส (2553) กล่าวว่า กลุ่มยีสต์ที่มีความเกี่ยวข้องในกระบวนการหมัก ได้แก่ ยีสต์ *Saccharomyces spp.* และ *Candida spp.* มีคุณสมบัติในการหมักน้ำตาลแล้วเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ (alcohol) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) รวมถึงสารอื่นๆ อีกเล็กน้อย เช่น กรดอะซิติก (acetic acid) ดังกระบวนการนี้



จากการรายงานที่ผ่านมา พบว่า ยีสต์ในกลุ่ม *Candida* เช่น *C. utilis*, *C. arborea* และ *C. tropicalis* เป็นกลุ่มที่ประสบความสำเร็จในการผลิต single cell mass production มากที่สุด (De Mot, 1990; Boze et al., 1991) ในการผลิต microbial biomass protein production นิยมใช้กระบวนการ Symba ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้แบคทีเรียกลุ่ม amylolytic bacteria ร่วมกับยีสต์ *Candida utilis* ซึ่ง amylolytic bacteria จะไฮโดรไลสแป้งให้เป็นกลูโคส และ *C. utilis* จะเจริญอยู่บน substrates ทำให้ได้ protein biomass แม้จะมีหลายรายงานแสดงให้เห็น biomass production จากกระบวนการ solid state fermentation (Daubresse et al., 1987) แต่ให้ผลผลิตโปรตีนไม่สูงมากนัก ดังนั้นการปรับเปลี่ยนสภาพของกระบวนการหมักจะทำให้ได้ผลผลิตโปรตีนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ในปัจจุบันได้มีความสนใจในการใช้กระบวนการ solid state fermentation ทดแทนวิธีการแบบ submerged fermentation มากขึ้น เช่น batch, continuous and fed-batch fermentation เพราะ solid state fermentation มีความต้องการใช้พลังงานต่ำ มีของเสียน้อย และลดปัญหาสภาพแวดล้อมจากการทิ้งของเสีย (Lonsane and Ramash, 1990) โดยการใช้อาหารหมักสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่เป็นผลพลอยได้จากมันสำปะหลัง พบว่าในปัจจุบันมักนิยมใช้ในรูปแบบเป็นการผลิตอาหารสัตว์ราคาถูกประกอบอาหารและมีคุณภาพสูง กากมันสำปะหลังเปียกที่ยังมีความชื้นเหมาะสม

จะใช้เป็นอาหารสัตว์ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาสูตรอาหารขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เพราะกากมันสำปะหลัง มีองค์ประกอบทางโภชนาที่เป็นส่วนของแป้งหลงเหลืออยู่ประมาณ 50.2 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีน เท่ากับ 2.4 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย เท่ากับ 40.6 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน เท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม เท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ณัฐพงษ์และคณะ, 2560) ในกากมันสำปะหลังยังไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ เช่น โค กระบือ แพะและแกะ เป็นต้น จึงจำเป็นต้องนำกากมันสำปะหลังมาหมักร่วมกับจุลินทรีย์ วัชพืชและคณะ (2533) รายงานว่า กระบวนการหมักผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังด้วยราและยีสต์สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ได้ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ก่อนหมักต้องมีปริมาณแป้งมากพอสำหรับการผลิต reducing sugar โดยราและยีสต์จะใช้ประโยชน์จากน้ำตาล เพื่อการเจริญของยีสต์ทำให้มีปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้น นฤมลและคณะ (2556) พบว่า การใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* หมักร่วมกับกากมันสำปะหลังสามารถเพิ่มโปรตีนให้สูงขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยพบว่า เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อและโคนมสามารถทำกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ใช้ได้เองในหลายสูตร (ธัญหทัย และคณะ, 2555) สุภัตรา (2556) รายงานว่า การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ต่างกัน 3 ชนิด คือ *A. oryzae*, *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดสามารถเพิ่มน้ำตาลรีดิวซ์โปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้ ผลที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งเกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการประกอบสูตรอาหารเลี้ยงสัตว์ เพื่อลดต้นทุนการผลิตวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนราคาแพงอย่างกากถั่วเหลืองลงได้

## 2.2.5 ราและยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับหมักกากมันสำปะหลัง

### 2.2.5.1 *Aspergillus niger*

*Aspergillus niger* หรือ *A. niger* นำมาใช้ในกระบวนการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนและยังสามารถเพิ่มระดับโปรตีนในกากมันสำปะหลังหมักได้ด้วย รา *A. niger* สามารถเพิ่มระดับโปรตีนในมันสำปะหลังได้แล้วยังสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ phytase ได้ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ phytase ได้ดีและมีสถานะการทำงานที่เหมาะสมในกระเพาะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ศศิพันธ์, 2558)

### 2.2.5.2 *Candida utilis*

รา *Candida utilis* หรือ *C. utilis* ใช้ผลิตเป็นกระบวนการหมักร่วมของยีสต์และราในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวช่วยในการเพิ่มปริมาณและเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนได้มากขึ้น (มนัสนันท์และคณะ, 2556) เพราะเจริญได้เร็วและเลี้ยงง่ายมีปริมาณโปรตีนสูง สามารถให้สารอาหารได้หลายชนิด รวมทั้งน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ใช้ได้ยากสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานเยื่อกระดาษ (sulfite waste liquor) เป็นต้น (ชุตินุชและคณะ, 2557)

### 2.2.5.3 *Aspergillus oryzae*

รา *Aspergillus oryzae* หรือ *A. oryzae* เป็นราที่ใช้ในการหมักซีอิ๊ว สามารถผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอสได้สูงมาก เนื่องด้วย *A. oryzae* เพื่อผลิตเอ็นไซม์ ด้วยระบบการหมักแบบแห้ง (solid-state fermentation) ทำให้ได้เอ็นไซม์ มากกว่าการหมักแบบเปียก (submersed fermentation) ในขบวนการผลิตเต้าเจี้ยวและซีอิ๊วจากถั่วเหลือง ถ้าไม่ต้องการใช้เชื้อที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เพราะมีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ (กาญจนา, 2556)

#### 2.2.5.4 *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์ตระกูล *Saccharomyces* เป็นยีสต์ที่รู้จักกันมานานในอุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ ขนบปัง และใช้เป็นอาหารสัตว์ ในระยะหลังได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงยีสต์ตระกูลอื่นๆ เช่น *Candida lipolytica*, *C. boidinii* และ *Pichia aganobii* ทั้งนี้ยีสต์ *S. cerevisiae* มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการหมักเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า (top yeast) เนื่องจากการผลิต CO<sub>2</sub> ได้ด้วย ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถใช้น้ำตาลอื่นๆ ได้อีก เช่น galactose, sucralose, maltose และ rahmnose จะใช้ได้เพียง 1 ใน 3 เท่านั้น ยีสต์ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลที่มีโมเลกุลเดี่ยวหรือคู่ ถ้าไม่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลที่จับกันหลายโมเลกุล (ฉัตรชัย, 2547)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางโภชนาของยีสต์

องค์ประกอบทางโภชนา	เปอร์เซ็นต์
โปรตีน	42.00
ไขมัน	2.20
เยื่อใย	1.10
เถ้า	8.60
แคลเซียม	0.50
ฟอสฟอรัส	1.20
ไลซีน	3.62
เมทไทโอนีน	0.70
เมทไทโอนีน+ซิส	1.20
ทรีปโตฟาน	0.50
ทรีโอนีน	2.45

ที่มา: สิทธิศักดิ์และคณะ (2555)

ยีสต์ *S. cerevisiae* คือ รากลุ่มหนึ่งที่มีส่วนใหญเป็นเซลล์เดี่ยว ประกอบด้วยเอนไซม์จำนวนมาก มักพบในแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง บางส่วนถูกขับออกมาในลำไส้ ซึ่งมีส่วนช่วยส่งเสริมเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในทางเดินอาหาร จึงช่วยเพิ่มอัตราการย่อยได้ ทำให้สามารถกินอาหารได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้น้ำหนักตัวหรือผลผลิตเพิ่มขึ้นตาม หากได้รับอย่างสม่ำเสมอจะมีส่วนช่วยในการปรับสมดุลของจุลชีพในลำไส้ ด้วยเหตุนี้ยีสต์หลายชนิดจึงถูกนิยมนำมาใช้ในสุกรและสัตว์ปีก อย่างไรก็ตาม การใช้ยีสต์ในอาหารสัตว์เริ่มขึ้นในต่างประเทศซึ่งมีสภาพแวดล้อมอุณหภูมิ ตลอดจนคุณภาพของวัตถุดิบอาหารสัตว์แตกต่างกันไป ดังนั้นการใช้ยีสต์ในอาหารสัตว์นั้นส่วนใหญ่มักใช้ในรูปแบบของอาหารเสริมโปรตีน ปัจจุบันได้รับความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ทั้งในสัตว์ปีก สัตว์เคี้ยวเอื้อง ตลอดจนสัตว์เลี้ยงในบ่าน (สิทธิศักดิ์และคณะ, 2555) จากการศึกษาของ Pond and Maner (1984) พบว่า การใช้ Single cell protein (SCP) จากยีสต์ในอาหารสุกรให้ผลค่อนข้างแปรปรวนขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ที่ใช้ทดสอบและแหล่งอาหารของยีสต์นั้นๆ ยีสต์ที่เพาะเลี้ยงใน n-paraffin สามารถใช้ได้ทั้งระดับ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารสำหรับสุกรที่หนัก 9-155 กิโลกรัม โดยไม่เกิดผลเสียต่อสมรรถนะการผลิต ในขณะที่ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยไฮโดรคาร์บอนหรือ methanol หรือ sulphite liquor ในระดับ 6-6.1 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารสุกรรุ่น มีสมรรถนะการเติบโตดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มี

โปรตีนจากพืชผสมกับจากสัตว์เป็นหลัก แต่สามารถปรับปรุงสมรรถนะดังกล่าวให้ดีเท่ากับกลุ่มควบคุมด้วยการเสริมไลซีน เมทไธโอนีนและไอโซลูซีนในอาหาร SCP จากยีสต์ (Beck and Handwerker, 1974 และ Frydrych, Heger and Fronek, 1983)

### 2.2.6 การใช้ยีสต์เพื่อปรับปรุงกระบวนการหมักภายในกระเพาะหมัก

ยีสต์มีศักยภาพในการเป็นแหล่ง probiotics ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง พบว่า สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมักได้ เนื่องจากภายในกระเพาะหมักของโคที่ความจุประมาณ 100-150 ลิตร มีสภาวะภายในเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic) ที่อุณหภูมิประมาณ 39 องศาเซลเซียส ค่า pH ประมาณ 6-7 ภายในกระเพาะมีสภาวะที่เรียกว่า dynamic คือมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ภายในประกอบไปด้วยประชากรของจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา) อยู่อย่างหนาแน่นและทำหน้าที่ในการย่อยอาหารได้ถึง 60-70 เปอร์เซ็นต์ ของการย่อยได้ทั้งหมด (สินีนานูและคณะ, 2558)

#### 2.2.6.1 บทบาทของยีสต์ในกระเพาะหมัก

สินีนานู และคณะ (2558) ระบุว่า ยีสต์สามารถเข้าไปแย่งใช้ glucose และ oligosaccharide สายเล็กๆ ที่ได้จากการย่อยของ amylolytic bacteria ที่เกาะติดอยู่กับเม็ดแป้งได้ ทำให้มี glucose ที่จะใช้ประโยชน์โดยแบคทีเรีย *S. cerevisiae* สามารถใช้ glucose ได้มากถึง 4 g glucose/h/g DM) ยีสต์สามารถใช้ออกซิเจน ( $O_2$ ) ที่เข้าสู่กระเพาะหมักโดยทางอาหารและนำที่กินเข้าไป เพื่อใช้ในการผลิตพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง ยีสต์เป็นแหล่งโภชนะหนึ่งสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เนื่องจากมีโภชนะจำพวกวิตามิน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนในปริมาณที่สูง โดยยีสต์สามารถสะสม malate และปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ได้ รวมทั้งสามารถปลดปล่อยโปรตีนออกมานอกเซลล์ในรูปของเอ็นไซม์หรือโปรตีนที่เกาะอยู่กับผนังเซลล์อีกด้วย นอกจากนี้ mannoproteins ยังถูกสังเคราะห์ได้จากยีสต์ *S. cerevisiae* ในปริมาณมาก เพื่อใช้เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ระหว่างการเจริญเติบโต โปรตีนหรือ peptide บางส่วนถูกปลดปล่อยออกมาขณะอยู่ในช่วง stationary phase หลังจากที่ยีสต์ผ่านกระบวนการสลายตัวเอง (autolysed) โปรตีน แร่ธาตุและวิตามินจาก cytosol, B-D-glucans และ mannoproteins จากผนังเซลล์ สามารถใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในกระเพาะหมัก

#### 2.2.6.2 ยีสต์ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของกระเพาะหมัก

สินีนานู และคณะ (2558) รายงานว่า การเกิด acidosis ภายในกระเพาะหมักเกิดจากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็ว readily fermentable carbohydrates (RFC) เนื่องจากสัตว์ได้รับอาหารชั้นมากเกินไป ทำให้ค่าความเป็น rumen pH ลดต่ำลงหลังการให้อาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยง่ายในกระเพาะหมักเพิ่มสูงขึ้นหลังเกิดกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว มีผลให้ rumen pH ลดลง ขณะที่เมื่อค่าความเป็น rumen pH ในกระเพาะหมักลดต่ำลงจะมีแบคทีเรียที่ผลิต lactase เพิ่มขึ้น วาสนา (2560) รายงานว่า บทบาทของยีสต์สามารถนำมาใช้เป็น acetic acid ได้โดยตรง เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถปรับตัวและเจริญอยู่ได้ในสภาวะที่เป็นกรด (pH เท่ากับ 3-4) ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ lactic acid dehydrogenase และ alcohol dehydrogenase รวมถึงสามารถนำใช้เป็นสารตั้งต้น (substrate) ที่หลากหลายได้ โดยเฉพาะแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนจาก lactic acid นำใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ (biomass) ต่อไป

### 2.2.6.3 ยีสต์ต่อความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใยและจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างจำพวกเซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยมีสัดส่วนตั้งแต่ 15-70 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสัตว์เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์และไม่สามารถละลายได้ง่าย นอกจากนี้ยังไม่สามารถย่อยได้โดยน้ำย่อยในตัวเองหรือเพิ่มปริมาณการกินได้และความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ ทั้งนี้การเสริมยีสต์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในกระเพาะหมัก และเหนี่ยวนำให้เจริญเติบโตดีขึ้น (สินีนานูและคณะ, 2558)

ตาราง 2.5 องค์ประกอบเคมีของมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์

References	Type of fermentation		Analyzed composition			
			CP	Ash	Fat	Crude fibre
Obob and Akindahunsi. (2003)	Flour	Fermented	10.9 <sup>a</sup> ±0.1	3.5±0.1	4.5 <sup>a</sup> ±0.2	3.2±0.1
		Unfermented	4.4 <sup>c</sup> ±0.1	2.1±0.1	3.6 <sup>ab</sup> ±0.1	3.8±0.1
	gari	Fermented	6.3 <sup>b</sup> ±0.1	1.9±0.1	3.0 <sup>ab</sup> ±0.2	3.7±0.2
		Unfermented	3.6 <sup>c</sup> ±0.1	1.9±0.2	2.6 <sup>b</sup> ±0.2	4.3±0.4
Aro et al. (2008)		T1	1.12±0.04 <sup>c</sup>	2.74±0.04 <sup>b</sup>	-	19.20±0.23 <sup>a</sup>
		T2	7.00±0.03 <sup>a</sup>	3.04±0.29 <sup>b</sup>	-	14.77±0.48 <sup>bc</sup>
		T3	5.83±0.58 <sup>b</sup>	3.96±0.25 <sup>a</sup>	-	13.74±0.49 <sup>bc</sup>
		T4	7.00±0.02 <sup>a</sup>	3.63±0.21 <sup>ab</sup>	-	16.92±0.44 <sup>b</sup>
		T5	6.71±0.29 <sup>ab</sup>	3.39±0.03 <sup>ab</sup>	-	18.18±0.50 <sup>ab</sup>
Obob and Elusiyan. (2007)	Low-cyanide	Fermented				
		<i>R. oryzae</i>	10.5±0.2 <sup>e</sup>	2.6±0.4 <sup>b</sup>	7.4±0.5 <sup>d</sup>	1.9±0.1 <sup>a</sup>
		<i>S. cerevisiae</i>	12.6±0.3 <sup>f</sup>	2.5±0.2 <sup>b</sup>	2.9±0.5 <sup>b</sup>	2.1±0.3 <sup>a</sup>
	Medium-cyanide	Unfermented	6.4±0.5 <sup>b</sup>	1.4±0.3 <sup>a</sup>	2.9±0.5 <sup>b</sup>	3.8±0.4 <sup>d</sup>
		Fermented	8.8±0.2 <sup>c</sup>	2.9±0.2 <sup>b</sup>	4.5±0.4 <sup>c</sup>	
		<i>R. oryzae</i>	9.6±0.3 <sup>d</sup>	3.0±0.3 <sup>b</sup>	5.0±0.3 <sup>c</sup>	1.6±0.2 <sup>a</sup>
	<i>S. cerevisiae</i>	4.7±0.3 <sup>a</sup>	0.9±0.3 <sup>a</sup>	1.1±0.3 <sup>a</sup>	1.8±0.2 <sup>a</sup>	
	Unfermented				2.7±0.3 <sup>c</sup>	

หมายเหตุ: <sup>abc</sup> ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) YMFCC, Yeast-Malate Fermented Cassava Chip; T1, unfermented and un-inoculated CSR; T2, CSR fermented with *A. fumigates* + *L. delbrueckii* and *L. coryneformis*; T3, CSR fermented with *A. niger* + *L. delbrueckii* and *L. coryneformis*; T4, CSR fermented with *A. flavus* + *L. delbrueckii* and *L. coryneformis*; T5, CSR fermented with *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii*

คาร์โบไฮเดรตโดยทั่วไปส่วนใหญ่จะถูกย่อยในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องด้วยน้ำย่อยจากภายนอกเซลล์ของแบคทีเรีย โปรโตซัว และรา โดยประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ จะเกาะติดอยู่กับ particles ของ

อาหาร กล่าวว่ามีประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์เป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายพวกอาหารเยื่อใย และ 30 เปอร์เซ็นต์ มาจากเซลล์ของแบคทีเรียของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหยได้ เช่น กรดอะซิติก (acetic acid, C<sub>2</sub>) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid, C<sub>3</sub>) กรดบิวทีริก (butyric acid, C<sub>4</sub>) และพบกรดวาลาริครดไฮโซวาลาริค และกรด 2-เมทิลบิวทีริก ในปริมาณน้อย (ปนและคณะ, 2546) ทั้งนี้ชนิดของกรดไขมันที่ระเหยได้ในกระเพาะหมัก ขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของอาหารเป็นสำคัญ โดย acetic acid จะถูกผลิตได้มากหากสัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารประเภทเยื่อใยสูง ขณะที่ propionic acid จะผลิตได้มากเมื่อได้รับอาหารจำพวกแป้ง ส่วนโปรตีนจะให้ branched chain fatty acid ในปริมาณสูง ซึ่งจะถูกจุลินทรีย์และตัวสัตว์นำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างผลผลิต

มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ (ตารางที่ 2.5) Oboh and Akindahunsi. (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyani (2007) พบว่า ปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแปลงในมันสำปะหลังเป็นโปรตีนในร่างกายของจุลินทรีย์ แต่ในขณะเดียวกัน Crude fibre ในมันสำปะหลังที่หมักโดยไม่เสริมจุลินทรีย์ นั้นต่ำกว่าการหมักโดยการเสริมจุลินทรีย์และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับ เนื่องจากการหมักแบบธรรมดานั้นมีจุลินทรีย์ที่อาศัยในธรรมชาติอยู่หลายชนิดทำให้สามารถย่อยเยื่อใยในมันสำปะหลังได้ดีกว่า การใช้จุลินทรีย์ในการหมักมันสำปะหลังสามารถช่วยลดสารพิษในมันสำปะหลังได้โดย Ganiyu Oboh (2006) และ Oboh and Akindahunsi (2003) ได้ศึกษาทดลองพบว่า Cyanide ที่เป็นสารพิษและ Phytate ที่เป็นตัวต่อต้านโภชนะในมันสำปะหลังเมื่อผ่านการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ มีปริมาณลดลงมากกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2.6 สารพิษและสารต่อต้านโภชนะในมันสำปะหลัง

reference	Type of fermentation	Cyanide(mg/kg)	Phytate(mg/100g)	Tannin(%)	
Ganiyu Oboh. (2006)	Inoculated	6.2 <sup>a</sup> ± 0.3	789.7 <sup>b</sup> ± 0.2	-	
	Fermented				
	Naturally Fermented	23.3 <sup>b</sup> ± 0.2	705.1 <sup>c</sup> ± 0.2	-	
	Unfermented	44.6 <sup>a</sup> ± 0.2	1043.6 <sup>a</sup> ± 0.1	-	
Ganiyu Oboh. (2003)	Flour	Fermented	9.5 <sup>c</sup> ±0.2	-	0.2
		Unfermented	21.3 <sup>a</sup> ±0.3	-	0.2
	gari	Fermented	9.1 <sup>c</sup> ±0.2	-	0.1
		Unfermented	14.6 <sup>b</sup> ±0.3	-	0.2

<sup>abc</sup> ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

จากตารางที่ 2.6 พบว่าการใช้จุลินทรีย์ในการหมักมันสำปะหลัง สามารถช่วยลดปริมาณสารพิษในมันสำปะหลังได้โดย Ganiyu Oboh.,(2006)และ Oboh and Akindahunsi. (2003) ได้ทำการทดลองและพบว่า



ปริมาณของ Cyanide ที่เป็นสารพิษและ Phytate ที่เป็นตัวต่อต้านโภชนะในมันสำปะหลังเมื่อผ่านการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ มีปริมาณลดลงมากกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 2.7** ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ต่อระบบนิเวศในกระเพาะหมัก

References	Type of fermented	Ruminal pH	NH <sub>3</sub> -N (ng/dl)	Blood urea nitrogen	Total VFA
Sittisak et al,(2009a)	concentrate at 14% CP	6.6 <sup>b</sup>	17.2 <sup>b</sup>	8.6 <sup>b</sup>	102.4 <sup>b</sup>
	yeast-malate fermented cassava	6.9 <sup>a</sup>	21.4 <sup>a</sup>	13.4 <sup>a</sup>	117.6 <sup>a</sup>
Sittisak et al,(2009b)	concentrate at 14% CP	6.7 <sup>b</sup>	17.6 <sup>b</sup>	9.4 <sup>b</sup>	-
	yeast fermented cassava	6.9 <sup>a</sup>	20.8 <sup>a</sup>	12.1 <sup>a</sup>	-
Polyorach et al, (2010)	(YFCC) replacement, %				
	0	6.4 <sup>d</sup>	17	16.3 <sup>a</sup>	87.0 <sup>b</sup>
	33	6.5 <sup>c</sup>	16.7	14.2 <sup>b</sup>	100.3 <sup>ab</sup>
	67	6.6 <sup>b</sup>	16.2	13.7 <sup>b</sup>	101.8 <sup>ab</sup>
	100	6.7 <sup>a</sup>	16.9	13.3 <sup>b</sup>	112.0 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ:** <sup>ab</sup> ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(YFCC)= yeast fermented cassava chip

**อ้างอิง:** จักรกริช (2555)

จากตารางที่ 2.7 พบว่า การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยยีสต์นั้น ทำให้ค่า pH ในกระเพาะหมักอยู่ในสถานะที่เกือบเป็นกลาง ซึ่งต่างจากอาหารที่ไม่ได้เสริมมันสำปะหลังที่หมักด้วยยีสต์ที่มีค่า pH ต่ำกว่าซึ่งเสี่ยงกับสถานะการเป็นกรดในกระเพาะที่จะทำให้เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกระเพาะอาหารได้ นอกจากนี้ค่า NH<sub>3</sub>-N ยังมีสูงกว่าด้วยเช่นกัน ซึ่ง NH<sub>3</sub>-N นี้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์ VFA ได้ อย่างไรก็ตาม การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้น มีปริมาณของ Urea nitrogen ในเลือดสูงอาจทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย ของสัตว์

การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้น Polyorach et al. (2010) พบว่าการใช้ yeast fermented cassava chip (YFCC) ทดแทนกากถั่วเหลืองที่ระดับ 100% ส่งผลต่อการกินได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม คือมีระดับของเปอร์เซ็นต์ไขมันและโปรตีนสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ขณะที่ Promkot et al. (2013) กลับไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการกินได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมในการให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์ (ดังตารางที่ 2.8)

ตารางที่ 2.8 ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ต่อการกินได้และผลผลิตน้ำนม

Referace	Diet	DMI (Kg/d)	Milk yield (kg/d)	Milk composition (%)		
				Fat	Protein	Lactose
Polyorach et al, (2010)	(YFCC)replacement, %					
	0	11.2 <sup>b</sup>	13.5 <sup>b</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	4.5
	33	11.7 <sup>ab</sup>	14.0 <sup>b</sup>	4.1 <sup>a</sup>	3.3 <sup>ab</sup>	4.6
	67	12.8 <sup>ab</sup>	14.5 <sup>ab</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>a</sup>	4.6
	100	13.9 <sup>a</sup>	15.0 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>	4.7
Postpartum						
Promkot et al, (2013)	d 1 to d 21	Control	11.1	12.6		
		(YFCC)	11.8	13.2		
	d 1 to d 42	Control	11.6	13.3		
		(YFCC)	12.3	14.4		
	d 1 to d 60	Control	11.9	11.9		
		(YFCC)	12.1	12.3		

หมายเหตุ: <sup>ab</sup> ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

YFCC= yeast fermented cassava chip

#### 2.2.6.4 การใช้ยีสต์เพื่อเป็นแหล่งโปรตีน

กลไกของกระบวนการการเปลี่ยนแปลงให้เป็น yeast cell mass โดยใช้ *C. utilis* ร่วมกับราที่ผลิต amylase (amylase-producing fungal species) กล่าวคือ amylase-producing fungi จะเปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูป lower saccharides ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น glucose ซึ่ง *C. utilis* สามารถใช้เพื่อการสังเคราะห์เซลล์ได้อย่างรวดเร็ว low-molecular-weight sugars (glucose, maltose, etc.) จะถูกดูดซับโดย *C. utilis* ทันทีเพื่อการสังเคราะห์เซลล์ (Litchfield, 1991). Tai and Mbongo (1994) ได้ทำการศึกษาการใช้เปลือกมันสำปะหลังเป็น substrate ในการเพิ่มโปรตีน โดยทำการศึกษาอิทธิพลของระดับ pH อุณหภูมิ ความชื้น และสารเสริมอินทรีย์ พบว่าโปรตีนเพิ่มสูงสุดเมื่อเสริมด้วย ยูเรีย ที่อุณหภูมิ 30°C ระดับ pH ที่ 5.5 และความชื้นที่ระดับ 130% การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงเลือกใช้ solid state fermentation ในการ bioconversion กากมันสำปะหลังสำหรับผลิต biomass protein production โดยใช้ราและยีสต์ในการทำ inoculums ประพัฒน์ (2558) รายงานว่า จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของกากมันสำปะหลังได้ โดยที่นำกากมันสำปะหลังมาหมักเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน จะช่วยปรับปรุงให้ค่าโภชนาโปรตีน การย่อยได้ วัตถุแห้ง การย่อยได้อินทรีย์วัตถุ การย่อยได้โปรตีน การย่อยได้ของ NDF และ ADF สูงสุด ซึ่งสามารถที่จะนำไปใช้หรือเป็นส่วนประกอบหนึ่งในอาหารสัตว์ได้ ศุภชัยและคณะ (2557) รายงานว่า อัตราการเจริญเติบโต ลักษณะซาก ชิ้นส่วนของเนื้อและผลตอบแทนสุทธิ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการใช้กากมันหมักยีสต์ทดแทนอาหารชั้น สามารถลดต้นทุนอาหารได้ จิตติมาและคณะ (2561) พบว่าการหมักกากมัน

สำปะหลังด้วยยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนและลดปริมาณเยื่อใยลงได้ ซึ่งการหมักกากมันสำปะหลังเป็นการหมักเพื่อถนอมอาหารเพื่อให้พืชอาหารมีระยะเวลาการเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างจากกากมันสำปะหลังสดที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และยีสต์ *S. Cerevisiae* ของสุปรีณาและพิพัฒน์ (2561) พบว่ากากมันสำปะหลังสดในสูตรที่หมักในระยะเวลา 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างสูง ขณะที่สูตรที่หมักในระยะเวลา 4 วัน มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างสูงตามลงมา ( $P>0.05$ ) กับสูตรที่หมักในระยะเวลา 2 วัน ซึ่งสรุปได้ว่า ยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามจำนวนระยะเวลาการหมัก

อนึ่ง กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคเนื้อ เพราะมันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกมากในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกของไทย แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง มันเส้น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลัง จะให้พลังงานเพียงพอ แต่ยังมีคุณค่าทางอาหารต่ำ จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในกากสำปะหลังร่วมกับการหมักยีสต์ และศึกษาการตอบสนองต่อสมรรถนะการผลิตของโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์เป็นอาหาร ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ protein - enriched feedstuffs เพื่อนำไปพัฒนาเป็นอาหารสัตว์ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงแต่มีราคาต้นทุนต่ำ อีกทั้งการศึกษาเกี่ยวกับการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์เป็นอาหารโคเนื้อในปัจจุบันยังคงมีข้อมูลจำกัด ดังนั้นเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวการวิจัยครั้งนี้จึงดำเนินไปเพื่อแสดงให้เห็นถึงการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมเกษตรในท้องถิ่นอย่างกากมันสำปะหลังซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีมาก หาได้ง่ายในท้องถิ่น และมีราคาถูก เมื่อผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพโดยการหมักร่วมกับยีสต์เพื่อเพิ่มระดับโปรตีนให้สูงขึ้นก่อนนำมาใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีน/พลังงานในอาหารชั้นแล้ว จะสามารถช่วยลดต้นทุนให้เกษตรกรในการผลิตอาหารโคเนื้อไว้ใช้เองต่อไป และเป็นทางเลือกการใช้วัตถุดิบประเภทพลังงานและโปรตีนที่มีราคาแพงอย่างกากถั่วเหลืองโดยไม่ส่งผลกระทบต่อรายเชิงลบต่อการผลิตสัตว์

### บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 แผนการทดลองและกลุ่มการทดลอง

**3.1.1) การทดลองเบื้องต้น (Pre-experiment):** การศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังเป็น substrates ในการผลิต protein-enriched feed ระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory-scale)

การเพิ่มโปรตีนจากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วย *Aspergillus oryzae* (*A. oryzae*) และ *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) การทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษากระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดที่เหมาะสมโดยใช้เชื้อราและยีสต์ เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนจากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียในระดับห้องปฏิบัติการ จัดแผนการทดลองแบบ 5 x 6 Factorial in ใน CRD โดยให้ปัจจัย A เป็นระดับยูเรีย 5 ระดับคือ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และปัจจัย B เป็นระยะเวลาในการหมักที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน

#### อุปกรณ์และวิธีการ

##### 3.1.1.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังสดและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนา

ตัวอย่างกากมันสำปะหลังสดในการวิจัยครั้งนี้ได้รับการอนุเคราะห์จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง บริษัท แป้งมันอีสาน จำกัด จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการสุ่มตัวอย่างกากมันสำปะหลังแบบหลายๆ จุดและมีสภาพสม่ำเสมอทั้งหมดหรือเป็นเนื้อเดียวกันภายในโรงงาน จากนั้นนำตัวอย่างกากมันสำปะหลังที่ได้เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท เก็บในตู้ทำความเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

ก่อนนำกากมันสำปะหลังสดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นั้นทำการสุ่มอีกครั้งจากตัวอย่างทั้งหมด โดยใช้ไม้พายแบ่งตัวอย่างออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน (quaternary sampling) แยกเอา 2 ส่วนที่อยู่ตรงข้าม (จะเป็นแนวทะแยง หรือแนวตั้ง หรือแนวนอน) ออกไปใน 2 ส่วนที่เหลืออยู่ผสม คลุกเคล้ารวมกันถ้ายังเห็นว่าจำนวนตัวอย่างยังมากอยู่ให้แบ่งเป็น 4 ส่วน ทำซ้ำอีก จนกว่าจะได้จำนวนตัวอย่างเหลือพอที่จะนำไปวิเคราะห์ จากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (Proximate Analysis) (AOAC, 1990) (AOAC, 2010) ซึ่งวิเคราะห์หัตถุแห่ง โดยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง, โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP (AOAC 18<sup>th</sup> ed., 2010, Method 984.13)) โดยเครื่อง Kjeltac auto analyzer, ไขมัน (Ether extract) โดยเครื่อง Automatic Soxhlet extraction (AOAC 18<sup>th</sup> ed., 2010, Method 2003.05), เถ้า (Ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ส่วนเยื่อใยหยาบ (Crude fiber, CF (AOAC 18<sup>th</sup> ed., 2010, Method 962.09)) เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid insoluble ash, AIA (AOAC 18<sup>th</sup> ed., 2010, Method 942.05) และการวิเคราะห์เยื่อใยโดย Detergent analysis (Goering and VanSoest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) และ Acid detergent lignin (ADL) โดยเครื่อง Fibertec auto analyser และพลังงานรวม (แคลอรี/กรัม) ด้วย Analytical Method / Bomb Calorimeter โดยตัวอย่างกากมันสำปะหลังสดได้รับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีการดังกล่าวจากห้องปฏิบัติการวิเคราะห์โภชนศาสตร์สัตว์ อาคารเครื่องมือ 1 และอาคารเครื่องมือ 9, 10 ศูนย์เครื่องมือ

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จำนวน 2 ซ้ำต่อหนึ่งตัวอย่างทดลอง ทำการเปรียบเทียบข้อมูลของกากมันสำปะหลังสดก่อนและหลังการหมักยีสต์ที่ได้จากการศึกษาระดับ lab scale (งานทดลองที่ 1 ดังแสดงในตารางที่ 3.1) มีค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนเริ่มต้นเท่ากับ  $2.81 \pm 0.09$  เชื้อเริ่มต้นเท่ากับ  $1.02 \times 10^5$  CFU/ml และเชื้อวันที่เสร็จสิ้นการทดลองเท่ากับ  $6.87 \times 10^6$  CFU/ml

ทำการสุ่มตัวอย่างกากมันสำปะหลังสดอีกส่วนมาชั่งน้ำหนักปริมาณ 2-3 กรัม แล้วนำตัวอย่างที่ชั่งไปอบแห้งที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างประมาณ 20 กิโลกรัม มาบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร และนำตัวอย่างที่ผ่านการบดไปใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองขั้นต่อไป

### 3.1.1.2 ขั้นตอนการหมักกากมันสำปะหลัง

ขั้นตอนนี้เป็นการนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ตามขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ มาหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับยูเรีย 5 ระดับ โดยจัดการทดลองเป็นแบบ  $5 \times 6$  Factorial in Completely Randomized Design (CRD) โดยกำหนดให้มีปัจจัย A เป็นระดับยูเรีย (0%, 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.00%) และปัจจัย B เป็นระยะเวลาการหมัก (0, 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน) ตามลำดับนำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมกากมันสำปะหลังสดบรรจุลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ ขวดละ 40 กรัม แล้วเติมน้ำเพื่อปรับความชื้นให้ได้ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของแต่ละตัวอย่าง นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการปรับความชื้นไปฆ่าเชื้อโดยการนึ่งในหม้อนึ่ง (Autoclave) ด้วยความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม *Aspergillus oryzae* ที่มีความเข้มข้น  $3.25 \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ต่อ 1 ขวด ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และทำการหมักโดยตั้งขวดตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการกระบวนการหมัก แล้วไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อ ทำการเตรียม *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวโดยเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติม *Saccharomyces cerevisiae* มีความเข้มข้น  $8 \times 10^5$  เซลล์/มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขวดละ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง ในวันที่ 3 ของการหมักพร้อมกับเติมยูเรียในแต่ละระดับ เติมน้ำกลั่นลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขวดละ 30 มิลลิลิตร แล้วนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติมน้ำกลั่นแล้วไปหมักตามระยะเวลาการหมัก 5 วัน โดยนำไปเขย่าในเครื่อง Shaker ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน นำตัวอย่างที่ได้จากการหมักและผ่านการเขย่า ไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของราและยีสต์แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง และเปอร์เซ็นต์โปรตีนโดยเครื่อง Kjeltac auto analyzer และวิเคราะห์ปริมาณยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักตามวิธีการของ Knorst, Neubert, and Wohlrab (1996) และโปรตีน

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยใช้ Proc GLM (SAS, 2004) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

**3.1.2) ศึกษาการย่อยสลายในรูเมนของอาหารผสมทั้ง 5 สูตร โดยการใส่ถุงไนลอน (nylon bag)**  
นำตัวอย่างกากมันสำปะหลังโปรตีนสูงที่ได้จากการหมักทั้ง 5 สูตร มาทำการศึกษาการย่อยสลายได้ในรูเมน โดยการใส่ถุงไนลอน (nylon bag) เข้าบ่มในรูเมนของโคเจาะกระเพาะ (rumen degradability or *in sacco* digestibility) (Ørskov et al., 1980) โดยการนำตัวอย่างอาหารชนิดต่างๆ ที่บดไว้และถุงไนลอนที่มีขนาดรูพรุนของถุง (pore size) 47  $\mu\text{m}$  ที่ใช้ในการทดลองไปอบที่อุณหภูมิ 60-70°C นาน 2 ชั่วโมง เพื่อไลความชื้น ชั่งน้ำหนักของวัตถุดิบอาหารสัตว์ประมาณ 5 กรัม ลงในถุงไนลอนทำการชั่งและบันทึกน้ำหนัก หลังจากนั้นนำถุงไนลอนที่ใส่ตัวอย่างวัตถุดิบแล้ว นำมาร้อยติดกับเชือกยาวประมาณ 90 ซม นำไปบ่มในรูเมนโดยให้เชือกอยู่ในส่วนที่ลึกที่สุดของรูเมนให้แต่ละถุงมาระยะเวลาการบ่มอยู่ในรูเมนที่เวลา 0, 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยแต่ละ ตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ ใช้โคเจาะกระเพาะรูเมนจำนวน 3 ตัวและให้ถุงที่ใส่ในโคแต่ละตัวเป็น 1 ซ้ำ โดยโคเจาะกระเพาะรูเมนเป็นโคนมเพศเมียลูกผสมพันธุ์โฮลสไตส์ฟริเซียน (Holstein Friesian) สายเลือดประมาณ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ได้รับฟางข้าวแห้ง ให้แบบเต็มที่ (*ad libitum*) และอาหารข้นสำเร็จรูป 3 กก. ต่อตัวต่อวัน เมื่อบ่มถุงไนลอนในรูเมนของโคเจาะกระเพาะได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำถุงทั้งหมดออกจากรูเมน ล้างน้ำเพื่อล้างของเหลวจากรูเมนออกจากส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลาย หลังจากนั้นนำถุงไนลอนไปแช่แข็ง (-20°C) เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ จนครบทุกชม. ก่อนนำไปอบที่ 60°C นาน 36 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักถุงและตัวอย่างอาหารที่เหลือ ส่วนค่า washing loss (ชั่วโมงที่ 0) ทำโดยนำตัวอย่างไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 390 เบนเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำอบและชั่งน้ำหนักถุงเช่นเดียวกันเพื่อวิเคราะห์ DM นำค่าสัดส่วนที่สูญเสียไปในระยะเวลาต่างๆ ของวัตถุแห้ง มาคำนวณหาอัตราการย่อยสลายได้ (effective degradability, *dg*) ต่อไป โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY EXCEL (Ørskov and McDonald, 1979) ตามสมการดังนี้

$$P = A + B(1 - e^{-ct})$$

เมื่อ  $P$  = degradation rate at time  $t$  (%),

$A$  = the intercept of the degradation curve at time zero (%),

$B$  = the fraction of DM, OM and CP which will be degraded when given sufficient time for digestion in the rumen (%),

$c$  = a rate constant of disappearance of fraction  $B$  ( $\text{h}^{-1}$ ), and

$t$  = time of incubation (h)

โดยอัตราการย่อยสลายได้หรือประสิทธิภาพในการย่อยได้ของ DM นี้จะคำนวณได้จากสมการข้างล่างดังนี้คือ

$$dg = \frac{a + bc}{(c + k)}$$

เมื่อ  $dg$  = effective degradability

$a$  = water soluble extracted by cold water rinsing (0 hr bag)

$b$  = potentially degrade

$c$  = fraction rate of degradation of feed per hour

$k$  = fractional outflow rate of digesta per hour

หรือ  $k$  = the solid outflow rate from the rumen obtained from the previous experiment

เมื่อคำนวณได้ค่า Effective degradability (dg) โดยค่าที่ใช้พื้นฐานจาก rate of passage เท่ากับ 0.08 ต่อชั่วโมง หากวิเคราะห์โปรตีนด้วย จะสามารถนำไปประมาณค่าโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน (Rumen degradable protein, RDP) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน (Rumen undegradable protein, RUP) ต่อไป

$$\text{RDP} = \text{CP} * \text{dg}$$

$$\text{CP} = \text{RDP} + \text{RUP} \text{ หรือ } \text{RUP} = \text{CP} - \text{RDP}$$

### 3.1.3 การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต

#### 3.1.3.1 สัตว์ทดลอง

โคเนื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นโคเนื้อบราห์มันลูกผสมระดับเลือด 75% ขึ้นไป จำนวน 4 ตัว เพศผู้ อายุประมาณ 14-17 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นประมาณ  $250 \pm 25$  กิโลกรัม โคเนื้อทุกตัวถูกเลี้ยงโดยขังในคอกเดี่ยว และมีแร่ธาตุก้อนและน้ำสะอาดในอ่างซีเมนต์ให้กินตลอดเวลา โคเนื้อทุกตัวได้รับการกายภาพาริทั้งภายนอกและภายใน และฉีดวิตามิน A, D<sub>3</sub> และ E ตามน้ำหนักตัวสัตว์ก่อนเข้าการทดลอง ซึ่งน้ำหนักตัวเริ่มต้นและทำเครื่องหมาย จากนั้นทำการสู่มเข้าคอกทดลอง ไขเวลาในการปรับสัตว์ทดลอง (adjusting period) เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับสภาพคอกทดลองและอาหารทดลอง และวัดปริมาณการกินเพื่อปรับปริมาณอาหารที่ให้สัตว์กินก่อนการทดลองจริงเป็นเวลา 14 วัน ช่วงละ 21 วัน จำนวน 4 ช่วงเวลา ระยะเวลาทดลอง 84 วัน (experimental period) รวมตลอดระยะเวลาการทดลองทั้งสิ้น 98 วัน การจ่ายอาหารโคเนื้อจะให้ 2 ครั้ง คือ เวลา 07.00 น. และ 16.00 น. โคเนื้อทุกตัวถูกเลี้ยงโดยขังในคอกเดี่ยวขนาดประมาณ 6 ตารางเมตรต่อตัว โคเนื้อทดลองทุกกลุ่มจะได้รับอาหารข้นสำเร็จรูปชนิดอัดเม็ด 3 กิโลกรัม ที่ระดับโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ และให้ฟางหมักยูเรียเป็นอาหารหยาบแบบ *ad libitum* โดยในแต่ละกลุ่มได้รับการทดแทนกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ 4x4 Latin square design โดยมีทรีตเมนต์ (treatment) ที่ศึกษาจำนวน 4 ทรีตเมนต์ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารข้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

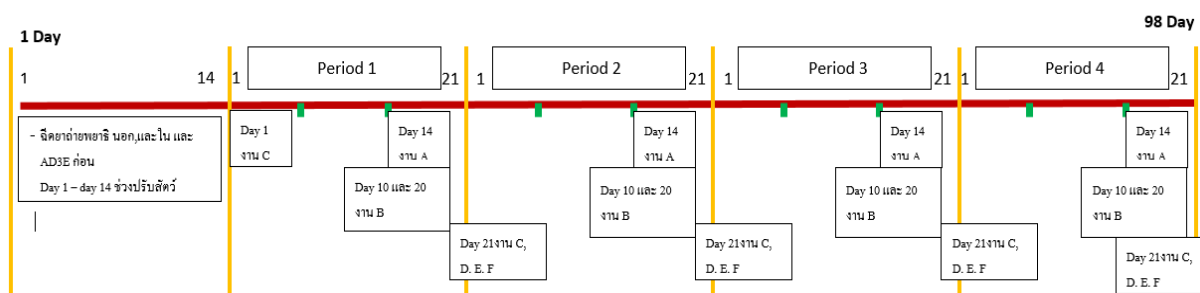
### 3.1.3.2 แผนผังการจัดองค์ประกอบปัจจัยการทดลองในแผนการทดลอง 4x4 Latin square design

ภาพที่ 3.1 แผนผังการจัดองค์ประกอบปัจจัยการทดลองในแผนการทดลอง 4x4 Latin square design

No.โค / period	1	2	3	4
โคตัวที่ 1	สูตร 1 (0%)	สูตร 2 (10%)	สูตร 3 (20%)	สูตร 4 (30%)
โคตัวที่ 2	สูตร 2 (10%)	สูตร 3 (20%)	สูตร 4 (30%)	สูตร 1 (0%)
โคตัวที่ 3	สูตร 3 (20%)	สูตร 4 (30%)	สูตร 1 (0%)	สูตร 2 (10%)
โคตัวที่ 4	สูตร 4 (30%)	สูตร 1 (0%)	สูตร 2 (10%)	สูตร 3 (20%)

หมายเหตุ: % = เปอร์เซ็นต์, สูตร 1 = ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ 0%, สูตร 2 = ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis), สูตร 3 = ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis) และ สูตร 4 = ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

ภาพที่ 3.2 ผังการเก็บตัวอย่างในงานทดลองโคเนื้อตลอดระยะเวลาการทดลอง



#### หมายเหตุ:

งาน A = สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือในแต่ละทรีตเมนต์ทุกๆ 2 สัปดาห์ ของการทดลอง เพื่อนำไป วิเคราะห์ทางองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ DM, ash, CP และ NDF, ADF และ ADL

งาน B = บันทึกการให้อาหาร ปริมาณการกินอาหารที่โคกินทุก 10 วัน เพื่อตรวจวัดปริมาณการกินได้อาหาร หยาดและอาหารชั้นที่เหลือต่อวัน ก่อนให้อาหารเช้าของวันถัดไป โดยการนำอาหารชั้นและอาหารหยาดที่เหลือในแต่ละวันมาชั่งน้ำหนัก

งาน C = ชั่งน้ำหนักตัวโค หลังจากการปรับสัตว์ 21 วัน หลังอาหารอย่างน้อย 16 ชั่วโมง

งาน D = สุ่มเก็บมูลในวันสุดท้าย (day 21) ก่อนให้อาหารช่วงเช้า และเย็น โดยการล้วงทวารหนัก

งาน E = suction rumen fluid ทำการสุ่มเก็บในช่วง 2 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยสุ่มเก็บชั่วโมงที่ 4 หลังจากการให้อาหาร และแบ่ง rumen fluid ออกเป็น 3 ส่วน (20, 20 และ 1 มิลลิลิตร)

งาน F = สุ่มเก็บตัวอย่างเลือด โดยสุ่มเก็บจากชั่วโมงที่ 4 หลังจากการให้อาหาร 3-5 มิลลิลิตรในหลอด heparinized หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3000 รอบต่อนาที (rpm), 15 นาที แล้วเก็บส่วนของเหลวใส เก็บไว้ไนต์ -20 องศาเซลเซียส



### 3.2 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

#### 3.2.1. การศึกษาหาการย่อยได้และปริมาณการกินได้ทั้งหมด การกินได้ (feed intake)

ชั่งและบันทึกปริมาณการให้อาหารและปริมาณการกินอาหารที่โคกินทุก 10 วัน จากการชั่งอาหารที่ให้สัตว์กินและส่วนที่เหลือจากการกินที่วางอาหารเพื่อตรวจวัดปริมาณการกินได้อาหารหยابและอาหารชั้นที่เหลือต่อวันก่อนให้อาหารเช้า โดยการนำอาหารชั้นและอาหารหยابที่เหลือในแต่ละวันมาชั่งน้ำหนักโดยสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารแต่ละชนิด (อาหารชั้นกลุ่มควบคุม อาหารชั้นกลุ่มทดลองและอาหารหยاب) ก่อนกินและหลังกิน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นรายตัวตลอดการทดลอง แล้วนำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี Proximate analysis ได้แก่ DM, CP, ash, AIA ตามวิธีการ AOAC (2010) CF และ NDF, ADF และ ADL ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) จากนั้นการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ ทำการศึกษาหาการย่อยได้และปริมาณการกินได้ทั้งหมดโดยใช้วิธีการเก็บมูลที่สัตว์ขับถ่ายออกมาภายนอกแล้วดังนี้

#### 3.2.2 การสุ่มเก็บตัวอย่างมูล (Feces) เพื่อศึกษาการย่อยได้

สุ่มเก็บมูล 10 เปอร์เซ็นต์ ของมูลที่ขับถ่ายออกมาในโคเนื้อทดลองแต่ละตัวก่อนจ่ายอาหารช่วงเช้าในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง เพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เพื่อนำไปคำนวณสัมประสิทธิ์การย่อยได้ ตามวิธีการของ Schnieder and Flatt (1975) โดยใช้ตัวชี้บ่งภายใน (internal indicator) คือ ถ้ำที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ซึ่งทำการสุ่ม โดยสุ่ม 1-2 ครั้งต่อวัน (ก่อนให้อาหารเช้า (06.00 น.)-ก่อนให้อาหารเย็น (15.00 น.)) ทำการล้างเอามูลจากทวารหนักของสัตว์ทดลองโดยตรง หรือสุ่มจากมูลกองที่ใหม่ที่สุดหลายๆ กองรวมกัน (เมธา, 2533) ในการสุ่มเก็บมูลในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (ครั้งเดียวตลอดระยะเวลาการทดลอง) เพื่อไม่ให้สัตว์เกิดความเครียด ที่อาจเกิดจากมีคนเข้าไปในพื้นที่คอกทดลองเพื่อทำการล้างทวารหนัก และลดจำนวนครั้งหรือความถี่ในการเก็บมูล) โดยปริมาณอาหารที่กินและขับออกมาจะต้องปรับให้เป็นอาหารแห้งเสียก่อน แล้วจึงนำมาเข้าสู่ตรรกานวนดังนี้

$$\text{Apparent digestibility (\%)} = \frac{100 \times \text{DMI or nutrient intake} - \text{DMI or nutrient in feces}}{\text{DMI or nutrient intake}}$$

#### 3.2.3 น้ำหนักตัว (body weight)

บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโคเนื้อ โดยทำการชั่งน้ำหนักโคเนื้อก่อนเข้าการทดลอง และทดลองทุกๆ 2 สัปดาห์ของระยะทดลองหลังอาหารอย่างน้อย 16 ชั่วโมง เพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต, ปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่อน้ำหนักตัว

#### 3.2.4 สมรรถภาพการผลิต

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต (average daily gain, ADG)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน}}$$

#### 3.2.5. การศึกษาเกี่ยวกับของเหลวและนิเวศวิทยาในรูเมน

วัดและสุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวจาก rumen fluid (collection of rumen fluid samples) ทำการสุ่มเก็บในช่วง 2 วันสุดท้ายของการทดลองติดต่อกัน โดยสุ่มเก็บ ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังให้อาหาร (1 ครั้ง/ชั่วโมงการสุ่มเก็บ) โดยวิธีการใช้เครื่อง suction pump ตอสายยางอีกด้านมีหัวตะกั่วเจาะรูสอดผ่านปากและหลอดอาหารของโคไปยังรูเมน เก็บของเหลวในรูเมนประมาณ 60-80 มิลลิลิตร แล้วทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

(pH) ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างด้วยเครื่อง pH meter (Mini Lab TSFET Model 10120) และเครื่องวัด pH จะต้องได้รับการปรับ (calibrate) ด้วยการใช้ buffers ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และ 4.0 ก่อน จากนั้นทำการแบ่งของเหลวจากกรูเมนออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก (test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร ที่เติมด้วย 6 N HCl ประมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ นำไปปั่นเหวี่ยงใส (centrifuge) ด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เก็บเอาเฉพาะส่วนที่ใส (supernatant) เก็บไว้ประมาณ 15 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาจุกเกลียว แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ แอมโมเนียไนโตรเจน (ammonia-nitrogen,  $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ตามวิธีการกลั่น (Bromner and Keeney, 1965) โดยใช้เครื่อง Gerhardt Kjeldatherm Vapodeat 30

ส่วนที่ 2 สุ่มเก็บประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุกขนาด 25 มิลลิลิตร ที่ภายในเติม 25%  $\text{H}_2\text{PO}_3$  (Song and Kennelly, 1990) ประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงใสเช่นเดียวกับส่วนแรก ที่ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที จากนั้นย้ายใส่หลอด Vial สีขาว ขนาด 2 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมัก ได้แก่ total volatile fatty acid, (TVFA) และกรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid,  $\text{C}_2$ ) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid,  $\text{C}_3$ ) และกรดบิวทีริก (butyric acid,  $\text{C}_4$ ) โดยใช้เครื่อง GC (Gas Liquid Chromatography) รุ่น (HP6890 GC METHOD) column Supelco wax TM 10 Fused silica capillary Column 30 n, 32 mm ID, 25  $\mu\text{m}$  filmthickness Mfg. under HP U.S. patent 4, 293, 415

ส่วนที่ 3 ทำการสุ่มเก็บ 1 มิลลิลิตร เติม 10 เปอร์เซ็นต์ formaldehyde 9 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ (total direct count) โดยแบคทีเรียและโปรโตซัว โดยใช้ Haemocytometer ขนาด 400 ช่อง (haemocytometer มีขนาด กวขยล =  $1 \times 1 \times 0.1$  มิลลิเมตร โดยทำการนับแบคทีเรีย 20 ช่องเล็กในแนวทแยงมุม โดยนับ 2 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยตามวิธีการของ Galyean (1989) ส่วนโปรโตซัวทำการนับ 1 ช่องใหญ่ ในการนับใช้กล้องจุลทรรศน์ (Model CHS OLYMPUS) ใช้กำลังขยายดังนี้ แบคทีเรียใช้กำลังขยาย 400 เท่า โปรโตซัวใช้กำลังขยาย 100 เท่า ทำการนับ 2 ซ้ำ เช่นเดียวกันเพื่อหาค่าเฉลี่ยของประชากรจุลินทรีย์

### 3.2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดโคเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 4 บริเวณ Jugular vein ใส่ในหลอดเก็บเลือดชนิดมีฝาจุกชนิดที่มี heparin เก็บไว้ในความเย็นที่  $4^{\circ}\text{C}$  ก่อนนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่น 0.75 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่แห้งและสะอาด จากนั้นเติมสารตัวอย่าง (ซีรัมหรือพลาสมา) ที่เตรียมไว้แล้ว ควรจะมีลักษณะใสไม่มีสี และไม่มีตะกอน จำนวน 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลายไทโอเซมิคาร์บาไซด์ ไดอะซีทิล โมโนซิม (Thiosemicarbazide diacetyl monoxime) 0.4 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดของเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride) 4.0 มิลลิลิตร ลงในส่วนผสมดังกล่าว แล้วปั่นหลอดทดลองนี้ให้มีส่วนผสมเข้าดีโดยใช้เครื่องเขย่า (mixer) เตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร รวมกับ สารละลายในข้อ 1 และ 2 อย่างละ 4.0 มิลลิลิตร เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานยูเรียไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร แทนสารตัวอย่างทำเหมือนข้อ 5 และนำหลอดทดลองลงแช่ในอ่างน้ำเดือด (boiling bath) เป็นเวลา 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็นประมาณ 3 นาที ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำ เพื่อไปวัดหาค่าปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด ด้วย

เครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 550 นาโนเมตร ตามวิธีการของ Mackay and Mackay (1972) แล้วนำค่าไนโตรเจนในกระแสดมมาทำการหาค่าเฉลี่ย

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x4 Latin square design (Steel and Torries, 1980), เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2004)

### 3.4 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, อาคารเครื่องมือ 1, 9 และ 10 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

### 3.5 ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2560 ถึง 1 สิงหาคม 2561

#### บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในกากมันสำปะหลังสดเริ่มต้น แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่า มีค่าเฉลี่ยของ DM, Ash, CP, CF, EE, NDF, ADF และ ADL เท่ากับ 28.84, 1.73, 2.81, 14.81, 0.43, 24.03, 17.39 และ 1.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังสดในครั้งนี้ อยู่ในช่วงค่าเฉลี่ยปกติที่มีการรายงานในงานวิจัยอื่น (Khang et al., 2000, NRC, 2001, Preston, 2004, Suksombat et al., 2006, Srisaikham et al., 2018a และ Srisaikham et al., 2018b) ค่าเฉลี่ยของกากมันสำปะหลังสดสูงกว่าอาหารชั้น แต่ต่ำกว่าฟางหมักยูเรีย อย่างไรก็ตาม การแปรผันในองค์ประกอบทางเคมี เช่น เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ไขมัน และโปรตีนและค่าพลังงานของกากมันสำปะหลังสดอาจมาจากความแตกต่างกันในสายพันธุ์ อายุของมันสำปะหลัง กระบวนการเก็บเกี่ยว ชนิดของดิน การใช้ปุ๋ยสภาพอากาศฤดู และกรรมวิธีการผลิตของโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง สอดคล้องกับกำไลและคณะ (2559) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีในกากมันสำปะหลังมีปริมาณแปรผันในระดับสูง อาจเนื่องมาจากขั้นตอนและกระบวนการในการเก็บรักษากากมันสำปะหลังแตกต่างกัน ซึ่งทำให้คุณค่าทางโภชนาการของกากมันสำปะหลังแตกต่างกัน (Srisaikham et al., 2018) ขณะที่เปอร์เซ็นต์เถ้าค่อนข้างผันผวนไปตามปริมาณการปนเปื้อนของดินหรือทรายขณะตากกากมันสำปะหลัง (ปีตุนาถ, 2547)

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังสด

องค์ประกอบทางเคมี	เปอร์เซ็นต์ (%)
DM	24.84±0.54
Ash	1.73±0.02
CP	2.81±0.09
CF	14.81±0.28
EE	0.43±0.36
NDF	24.03±0.28
ADF	17.39±0.77
ADL	1.71±0.21

หมายเหตุ: DM = วัตถุแห้ง, Ash = เถ้า, CP = โปรตีนหยาบ, CF = เยื่อใย, EE = ไขมัน, NDF = เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกลาง, ADF = เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกรด และ ADL = acid detergent lignin

จากการศึกษากระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วยที่ *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรีย (ตารางที่ 2) พบว่า ในสูตรที่ระยะเวลาหมัก 5 วัน ร่วมกับยูเรียทุกระดับ มีโปรตีนเฉลี่ยสูงสุดที่สุด คือ 3.40 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสูตรหมักระยะเวลา 4 วัน มีโปรตีนเฉลี่ย 3.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สูตรหมักระยะเวลา 1 วัน มีโปรตีนเฉลี่ยต่ำที่สุด คือ 2.88 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาปริมาณยูเรียที่ตกค้างจากกากมันสำปะหลัง

สดที่ผ่านกระบวนการหมัก ที่ระยะเวลาหมัก 5 วันมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า ปริมาณโปรตีนและยูเรียตกค้างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้น

ตารางที่ 3.2 ผลของระดับโปรตีนของตัวอย่างกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วยที่ *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์

วัน (หมัก)	ระดับของยูเรียที่เสริม (%)					Mean±SD
	0 %	0.25 %	0.50 %	0.75 %	1.00 %	
0	2.09 <sup>a,z</sup>	2.52 <sup>ab,y</sup>	3.07 <sup>c,x</sup>	3.56 <sup>c,w</sup>	4.60 <sup>a,v</sup>	3.17 <sup>c,u</sup>
1	2.16 <sup>a,z</sup>	2.45 <sup>b,y</sup>	3.03 <sup>c,x</sup>	3.39 <sup>d,w</sup>	3.38 <sup>c,v</sup>	2.88 <sup>d,u</sup>
2	2.35 <sup>a,z</sup>	2.62 <sup>a,y</sup>	3.41 <sup>a,x</sup>	3.68 <sup>c,w</sup>	4.15 <sup>bc,v</sup>	3.24 <sup>c,u</sup>
3	2.10 <sup>a,z</sup>	2.28 <sup>c,y</sup>	3.07 <sup>c,x</sup>	3.60 <sup>c,w</sup>	4.11 <sup>bc,v</sup>	3.03 <sup>c,u</sup>
4	2.03 <sup>a,z</sup>	2.66 <sup>a,y</sup>	3.38 <sup>ab,x</sup>	3.80 <sup>b,w</sup>	4.39 <sup>b,v</sup>	3.25 <sup>b,v</sup>
5	2.19 <sup>a,z</sup>	2.57 <sup>ab,y</sup>	3.50 <sup>a,x</sup>	4.08 <sup>a,w</sup>	4.65 <sup>a,v</sup>	3.40 <sup>a,v</sup>
Mean±SD	2.15 <sup>z</sup> ±0.38	2.52 <sup>y</sup> ±0.22	3.24 <sup>x</sup> ±0.34	3.69 <sup>w</sup> ±0.31	4.21 <sup>v</sup> ±0.22	

A = 0.001 B = 0.001 A\*B = 0.001

หมายเหตุ: A คือ จำนวนวันในการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae*, B คือ เปอร์เซ็นต์ยูเรียที่เสริม, A\*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันในการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* กับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

SEM = Standard error of mean

<sup>abcd</sup> ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ )

<sup>wxyz</sup> ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ )

ตารางที่ 3.3 ผลของระดับยูเรียคองเหลือของตัวอย่างกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสดด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์

วัน (หมัก)	ระดับของยูเรียที่เสริม (%)					Mean±SD
	0 %	0.25 %	0.50 %	0.75 %	1.00 %	
0	ND	ND	0.05 <sup>c,x</sup>	0.10 <sup>d,x</sup>	0.23 <sup>d,x</sup>	0.13 <sup>d,x</sup>
1	ND	ND	0.07 <sup>c,x</sup>	0.16 <sup>c,x</sup>	0.29 <sup>d,x</sup>	0.17 <sup>c,x</sup>
2	ND	ND	0.11 <sup>b,x</sup>	0.22 <sup>b,x</sup>	0.40 <sup>c,x</sup>	0.24 <sup>b,x</sup>
3	ND	ND	0.13 <sup>b,x</sup>	0.24 <sup>b,x</sup>	0.47 <sup>c,x</sup>	0.28 <sup>b,x</sup>
4	ND	ND	0.19 <sup>a,z</sup>	0.26 <sup>b,z</sup>	0.51 <sup>ab,z</sup>	0.32 <sup>ab,z</sup>
5	ND	ND	0.21 <sup>a,z</sup>	0.33 <sup>a,z</sup>	0.56 <sup>a,z</sup>	0.36 <sup>a,z</sup>
Mean±SD	ND	ND	0.15 <sup>z</sup> ±0.09	3.16 <sup>y</sup> ±0.15	4.73 <sup>x</sup> ±0.22	

A = 0.001 B = 0.001 A\*B = 0.001

หมายเหตุ: A คือ จำนวนวันในการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae*, B คือ เปอร์เซ็นต์ยูเรียที่เสริม, A\*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันในการหมักกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* กับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

SEM = Standard error of mean, ND = Non-detected or Zero

abcd ที่อยู่คอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

xyz ที่อยู่แถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างจากกากมันสำปะหลังสดที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และยีสต์ *S. cerevisiae* ใน Table 2 และ 3 พบว่าในสูตรที่หมักในระยะเวลา 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างสูง ขณะที่สูตรที่หมักในระยะเวลา 4 วัน มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและยูเรียที่ตกค้างสูงตามลงมาโดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่หมักในระยะเวลา 2 วัน ในขณะที่ยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามจำนวนระยะเวลาการหมัก (0-5 วัน) และระดับของยูเรียที่เติมลงไปในการหมักกากมันสำปะหลังสดทุกสูตร สอดคล้องกับงานทดลองของจักรกริช (2555) ซึ่งรายงานว่ ปริมาณโปรตีนและปริมาณยูเรียที่ตกค้างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* พบว่า ปริมาณโปรตีนและยูเรียที่ตกค้างนั้นสูงขึ้นตามระดับของยูเรีย (ที่ระดับ 0, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์) ที่เติมลงไปในการหมักมันสำปะหลัง หรือผ่านการหมักด้วย *A. niger* หรือ *S. cerevisiae* (Iyayi and Losel, 2001) ทั้งนี้อาจเนื่องจากจุลินทรีย์หลังเอนไซม์ในระหว่างที่เกิดกระบวนการหมักจากยูเรียที่ตกค้างจากการหมักทำให้มีการผลิตโปรตีนเกิดขึ้นและการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เรียกว่า Single cell protein ทำให้พบปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากการหมักกากมันสำปะหลังสด นอกจากนี้ยังมีรายงานสนับสนุนว่า ยีสต์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์หมักต่างๆ ได้ดีกว่ารา โดย *S. cerevisiae* และ *Candida tropicalis* สามารถปรับปรุงระดับโปรตีนจากการหมักข้าวโพดอบคั่วให้สูงขึ้น (Wainright, 1992) ทำนองเดียวกัน Essers (1994) แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มโปรตีนของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโดยราและยีสต์ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าราและยีสต์สามารถเติบโตได้ดีโดยไม่ต้องมีการเติมไนโตรเจน แต่หากต้องการให้ไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์มีมากพอที่จุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตและใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในปริมาณมาก

Essers (1994) พบว่าเมื่อมีการเติมแหล่งไนโตรเจน จะทำให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ยูเรียจึงทำงานเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของราและยีสต์ เนื่องจากมักใช้เป็นสารเพื่อยกระดับโปรตีนให้สูงขึ้น เพราะเมื่อยูเรียถูกย่อยจะให้ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียเช่นเดียวกับโปรตีน แต่ให้ในปริมาณที่สูงกว่าโปรตีน

ผลที่ได้รับจากการศึกษานี้ให้ข้อสังเกตได้ว่า จำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์อาจมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นและนำไปสู่การเกิดมวลโปรตีนมากขึ้นเมื่อมีการเติมยูเรียในระหว่างการหมักกากมันสำปะหลังสด สอดคล้องกับการศึกษาของ Antai and Mbongo (1994) ในเปลือกมันสำปะหลัง และในมันสำปะหลัง Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) อ้างโดย จักรกริช (2555) รายงานว่า การใช้จุลินทรีย์หมักร่วมกับมันสำปะหลังทำให้มีการสังเคราะห์เซลล์โปรตีนสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ เนื่องจากเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งพลังงานโดยจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับ Yuthavongand and Gibbons (1994) รายงานว่า การเจริญของ *C. eichhorniae* ใน Solid state process สูงสุดเมื่อมีการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนผสมซังข้าวโพดในภาชนะหมัก ผลผลิตโปรตีนเพิ่มเป็น 12-19 เปอร์เซ็นต์ หลังบ่มนาน 1 สัปดาห์ นอกจากนี้ Reade and Gregory (1975) พบว่า การใช้ *Aspergillus fumigatus* ในการปรับปรุงคุณภาพมันสำปะหลังร่วมกับยูเรีย มีค่าใช้จ่ายต้นทุนต่ำ นอกจากรา *Aspergillus sp.* ที่เป็นราที่ให้ผลผลิตโปรตีนในระดับดี (Tani et al., 1986) โดยไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH และไม่ต้องทำให้ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 3.4 การย่อยสลายวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae*

Day	Trt	0 h	2 h	4 h	8 h	16 h	32 h	48 h	dg*	CP±SD
1	0%	57.9	64.3	69.9	73.3	74.3	76.1	81.4	67.1	2.16±0.32
	0.25%	59.9	68.5	71.4	76.2	80.3	82.1	83.1	69.3	2.42±0.06
	0.50%	60.5	70.9	74.9	76.9	80.1	81.9	83.6	71.3	3.03±0.16
	0.75%	62.8	71.2	75.8	79.0	81.4	83.1	84.2	72.2	3.39±0.02
	1.00%	64.7	70.9	75.9	80.9	82.8	83.5	85.6	72.9	3.38±0.05
2	0%	58.4	67.2	67.3	77.4	78.9	77.4	82.1	68.2	2.35±0.10
	0.25%	60.9	69.8	76.4	79.1	85.1	87.7	88.7	70.1	2.62±0.02
	0.50%	60.9	72.1	74.1	78.9	83.1	83.1	84.9	71.1	3.41±0.25
	0.75%	62.2	73.1	78.9	80.2	82.4	87.1	86.1	72.3	3.68±0.03
	1.00%	62.9	74.1	77.1	83.1	85.1	86.2	86.1	72.1	4.15±0.14
3	0%	57.4	67.1	70.1	74.3	79.1	81.7	84.2	66.9	2.10±0.03
	0.25%	58.9	69.5	73.4	76.7	81.3	83.1	86.7	69.7	2.28±0.5
	0.50%	61.1	70.2	77.1	77.9	80.9	81.0	83.1	73.1	3.07±0.20
	0.75%	63.7	72.1	75.4	78.2	81.9	83.1	86.2	72.2	3.60±0.10
	1.00%	64.9	71.9	76.5	81.4	83.1	86.5	87.6	72.9	4.11±0.09
4	0%	56.1	68.2	71.2	75.3	79.3	82.1	84.4	67.1	2.03±0.05
	0.25%	60.1	69.4	75.1	77.1	82.2	83.5	87.1	70.4	2.66±0.26
	0.50%	60.2	71.7	75.4	78.0	82.9	83.5	84.1	73.5	3.38±0.13
	0.75%	62.1	72.7	76.8	78.9	82.7	84.7	86.0	73.7	3.80±0.13
	1.00%	63.7	73.1	75.9	80.9	83.3	86.7	88.1	75.2	4.39±0.10
5	0%	59.1	69.1	71.1	76.4	79.8	81.3	85.5	67.2	2.19±0.14
	0.25%	60.1	67.4	72.3	76.1	81.4	85.4	86.7	68.2	2.57±0.03
	0.50%	59.4	71.5	73.8	77.2	80.5	82.8	85.6	72.8	3.50±0.02
	0.75%	62.1	72.2	76.1	78.9	82.7	84.2	87.7	74.1	4.08±0.09
	1.00%	66.7	70.9	75.9	80.9	84.8	86.5	87.6	74.9	4.65±0.09
SEM		1.54	2.11	2.97	1.19	1.66	1.45	1.62		
Day		0.5471	0.3324	0.1935	0.0502	0.0531	0.0525	0.0513		
Trt		0.0512	0.0512	0.0611	0.0501	0.0585	0.0523	0.0507		
Day*Trt		0.2001	0.1773	0.2776	0.4019	0.5034	0.4105	0.6812		

หมายเหตุ: Day = จำนวนวันในการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับยีสต์, h = ชั่วโมง, dg = อัตราการย่อยสลายได้, SEM = Standard error of mean, Trt = treatment, \*Outflow rate (fraction/h) = 0.08, CP = crude protein, SD = standard deviation และ Trt 0% กลุ่มที่ 1 กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์, Trt 0.25% กลุ่มที่ 2 กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์, Trt 0.50% กลุ่มที่ 3 กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.50 เปอร์เซ็นต์, Trt 0.75% กลุ่มที่ 4 กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75 เปอร์เซ็นต์ และ Trt 1.0% กลุ่มที่ 5 กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์



การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 วัน ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 หลังการบ่มในกระเพาะหมัก เท่ากับ 57.9, 64.3, 69.9, 73.3, 74.3, 76.1, 81.4, 67.1 เปอร์เซ็นต์, 59.9, 68.5, 71.4, 76.2, 80.3, 82.1, 83.1 เปอร์เซ็นต์, 60.5, 70.9, 74.9, 76.9, 80.1, 81.9, 83.6 เปอร์เซ็นต์, 62.8, 71.2, 75.8, 79.0, 81.4, 83.1, 84.2 เปอร์เซ็นต์ และ 64.7, 70.9, 75.9, 80.9, 82.8, 83.5, 85.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 วัน ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 หลังการบ่มในกระเพาะหมัก เท่ากับ 58.4, 67.2, 67.3, 77.4, 78.9, 77.4, 82.1 เปอร์เซ็นต์, 60.9, 69.8, 76.4, 79.1, 85.1, 87.7, 88.7 เปอร์เซ็นต์, 60.9, 72.1, 74.1, 78.9, 83.1, 83.1, 84.9 เปอร์เซ็นต์, 62.2, 73.1, 78.9, 80.2, 82.4, 87.1, 86.1 เปอร์เซ็นต์ และ 62.9, 74.1, 77.1, 83.1, 85.1, 86.2, 86.1 เปอร์เซ็นต์ การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 หลังการบ่มในกระเพาะหมัก เท่ากับ 57.4, 67.1, 70.1, 74.3, 79.1, 81.7, 84.2 เปอร์เซ็นต์, 58.9, 69.5, 73.4, 76.7, 81.3, 83.1, 86.7 เปอร์เซ็นต์, 61.1, 70.2, 77.1, 77.9, 80.9, 81.0, 83.1 เปอร์เซ็นต์, 63.7, 72.1, 75.4, 78.2, 81.9, 83.1, 86.2 เปอร์เซ็นต์ และ 64.9, 71.9, 76.5, 81.4, 83.1, 86.5, 87.6 เปอร์เซ็นต์ การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 วัน ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 หลังการบ่มในกระเพาะหมัก เท่ากับ 56.1, 68.2, 71.2, 75.3, 79.3, 82.1, 84.4 เปอร์เซ็นต์, 60.1, 69.4, 75.1, 77.1, 82.2, 83.5, 87.1 เปอร์เซ็นต์, 60.2, 71.7, 75.4, 78.0, 82.9, 83.5, 84.1 เปอร์เซ็นต์, 62.1, 72.7, 76.8, 78.9, 82.7, 84.7, 86.0 เปอร์เซ็นต์ และ 63.7, 73.1, 75.9, 80.9, 83.3, 86.7, 88.1 เปอร์เซ็นต์ และส่วนสุดท้ายคือ การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 วัน ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 หลังการบ่มในกระเพาะหมัก เท่ากับ 59.1, 69.1, 71.1, 76.4, 9.8, 81.3, 85.5 เปอร์เซ็นต์, 60.1, 67.4, 72.3, 76.1, 81.4, 85.4, 86.7 เปอร์เซ็นต์, 59.4, 71.5, 73.8, 77.2, 80.5, 82.8, 85.6 เปอร์เซ็นต์, 62.1, 72.2, 76.1, 78.9, 82.7, 84.2, 87.7 เปอร์เซ็นต์ และ 66.7, 70.9, 75.9, 80.9, 84.8, 86.5, 87.6 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 พบว่าที่ชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 ภายหลังจากการบ่มกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียทั้ง 5 ระดับ ในจำนวนวันหมักตั้งแต่วันที่ 1 ถึง 5 ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) อย่างไรก็ตาม กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียทั้ง 5 ระดับ มีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น จะมีอัตราการย่อยสลายได้วัตถุแห้งในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามเวลา ( $P>0.05$ ) ทั้งนี้เป็นเพราะการเข้าทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักจะสะดวกขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (เมธา, 2533) กากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่จำนวนวันหมัก 1 วัน มีอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้ง เท่ากับ 67.1, 69.3, 71.3, 72.2 และ 72.9 ตามลำดับ อัตราการย่อยสลายวัตถุแห้ง ( $d_gDM$ ) ของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 68.2, 70.1, 71.1, 72.3 และ 72.1 ในจำนวนวันหมักที่ 2 วัน และอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50,

0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่จำนวนวันหมัก 3, 4 และ 5 วัน เท่ากับ 66.9, 69.7, 73.1, 72.2, 72.9, 67.1, 70.4, 73.5, 73.7, 75.2, 67.2, 68.2, 72.8, 74.1 และ 74.9 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3.4) ประสิทธิภาพในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (effective DM degradability) ที่ flow rate 0.08/h พบว่าค่าเฉลี่ยอัตราการย่อยสลายวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ณ การหมักสูงสุดที่จำนวนวันหมัก 5 วัน ( $dgDM = 71.44$ ) รองลงมา คือ จำนวนวันหมักที่ 4, 3, 2 และ 1 วัน ( $dgDM = 71.98, 70.79, 70.76$  และ  $70.56$  ตามลำดับ) การย่อยได้ของวัตถุแห้งของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 5 ระดับ พบว่า เปอร์เซ็นต์การย่อยได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มในกระเพาะหมักยาวนานขึ้นหรือเพิ่มขึ้น และพบว่าที่เวลาต่างๆ กัน เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังนั้นประสิทธิภาพในการย่อยได้ของวัตถุแห้งของการหมักกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่จำนวนวันหมักที่ 5 วันจะดีที่สุด เรียงลำดับรองลงมาคือ จำนวนวันในการหมักที่ 4, 3, 2 และ 1 ตามลำดับ โดยเฉลี่ยพบแนวโน้มของประสิทธิภาพในการย่อยได้ของวัตถุแห้งของการหมักกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียในระดับสูงสุดที่ 1.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ระดับ 0.75, 0.50, 0.25 เปอร์เซ็นต์ และไม่เสริมยูเรีย ตามลำดับ

จากการศึกษาการย่อยสลายได้วัตถุแห้งของสูตรกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 5 สูตรและฟางหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบ แสดงไว้ในตารางที่ 3.5 พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น เป็นเพราะการเข้าทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักยาวนานขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (เมธา, 2533) พบว่าทุกสูตรอาหารมีการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งในชั่วโมงที่ 48 มีค่าสูงสุด อาจเนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้ในสูตรอาหารมีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบในระดับสูง ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมัก (Wanapat et al., 2000) สอดคล้องกับรายงานความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายอยู่สูง (โอภาสและคณะ, 2539) แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า เมื่อสัดส่วนของกากมันสำปะหลังด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียในระดับสูงสุด และจำนวนวันหมักยาวนานที่สุด ไม่ได้ทำให้ผลของอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้งสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยทั่วไปเมื่อสัตว์ได้รับอาหารชนิดใหม่หรือมีการเปลี่ยนอาหารใหม่จำเป็นต้องให้เวลากับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เพื่อให้มีการปรับตัวระยะหนึ่ง ให้เกิดการใช้ประโยชน์จากอาหารทดลองใหม่ได้ดียิ่งขึ้น ในการเปลี่ยนอาหารใหม่ในช่วงแรกมักทำให้การย่อยได้ของอาหารลดลง แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปสักระยะหนึ่ง จุลินทรีย์สามารถปรับตัวได้แล้ว การย่อยได้ก็ค่อยๆ เพิ่มขึ้น และแม้แต่ความถี่ในการให้อาหารก็ส่งผลต่อการย่อยได้ของสัตว์ (วิศิษฐิพร, 2542) ทั้งนี้อาหารแต่ละชนิดมีค่าการย่อยได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีและทางกายภาพของอาหารนั้นๆ อย่างไรก็ตาม ความสมดุลของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับการเพิ่ม-ลดปริมาณการกินได้ของสัตว์ เนื่องจากระบบนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีความซับซ้อน ขึ้นอยู่กับอาหารที่สัตว์ได้รับ โดยทั่วไป โครงสร้างของ molecule ของผนังเซลล์พืช (cell wall) ของอาหารหยาบจะถูกย่อยสลายลงโดย Anaerobic bacteria, protozoa และ fungi อัตราการย่อยสลายของอาหารภายใน reticulo-rumen จะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางกายภาพและเคมีของอาหารเป็น

สำคัญ ฉะนั้นอาหารที่มีส่วนประกอบของ soluble fractions หรือคาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีโครงสร้าง (non-structural carbohydrate) อยู่สูงจะสามารถถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าอาหารที่มีส่วนประกอบที่เป็นแบบ Insoluble structural fraction หรือคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้าง (structural carbohydrate) (วิศิษฐ์พร, 2542) หากพิจารณาถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของ rumen ammonia จุลินทรีย์มีความต้องการ nitrogen ในรูปของ ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ในปริมาณมากเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ protein nitrogen ต่อการเจริญเติบโต จะพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของ rumen ammonia สูง (160-220  $\text{mgNH}_3\text{-N/Litre}$ ) มีอัตราการไหลผ่านของ microbial protein จาก rumen ไปยัง abomasum สูงมากกว่าที่ความเข้มข้นของ rumen ammonia ที่ระดับ 90 และ 130  $\text{mgNH}_3\text{-N/Litre}$  (Hume et al., 1970 และ Allen และ Miller, 1976) ในโคที่ได้รับอาหารหยาบที่มีไนโตรเจนและการย่อยได้ต่ำ มีปริมาณความเข้มข้นของ rumen ammonia ขั้นต่ำที่ทำให้โคกินอาหารได้เพียงพอควรอยู่ที่ระดับ 200  $\text{mgNH}_3\text{-N/Litre}$  (Krebs และ Leng, 1984; Boniface et al., 1986; Perdok et al., 1988) ซึ่งให้เห็นว่าอัตราการย่อยได้ของวัตถุดิบจะมีค่าสูงสุดเมื่อ ammonia มีความเข้มข้นเท่ากับ 230  $\text{mgNH}_3\text{-N/Litre}$  (Mehrez et al., 1977) และการเสริมยูเรียในอาหารที่มีโปรตีนต่ำให้สัตว์กินจะเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของ rumen ammonia ทำให้การย่อยได้ของอาหารหยาบสูงขึ้น (Krebs และ Leng, 1984; Boniface et al., 1986; Perdok et al., 1988) พบความสัมพันธ์เชิงทฤษฎีที่ว่า โคนมเจาะกระเพาะในการศึกษาครั้งนี้ได้รับอาหารหยาบที่มีการหมักยูเรีย เพิ่มความเข้มข้นของ rumen ammonia ทำให้การย่อยได้ของอาหารหยาบและการกินได้เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับอัตราการย่อยได้ของ DM ในกากมันสำปะหลังสดหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับของยูเรียอย่างไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของระดับยูเรียในกากมันสำปะหลังหมักยีสต์มีผลเพิ่มความเข้มข้นของ ammonia ในกระเพาะหมัก สอดคล้องกับค่าของเปอร์เซ็นต์โปรตีนหยาบที่เพิ่มสูงขึ้นตามระดับของยูเรีย

ตารางที่ 3.5 ชนิดและปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในแต่ละสูตรอาหารทดลอง

ส่วนประกอบ	สูตรอาหารชั้น (กิโลกรัม)			
	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>
มันสำปะหลัง	20	20	20	20
กากมันสำปะหลัง	50	40.5	31	21.5
กากมันสำปะหลังหมัก*	0	10	20	30
กากถั่วเหลือง	10	9.5	9	8.5
กากปาล์ม	12	12	12	12
กากน้ำตาล	5	5	5	5
ยูเรีย	2	2	2	2
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5
ฟอสฟอรัส	0.5	0.5	0.5	0.5

หมายเหตุ: \* กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน

<sup>1/</sup> กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

<sup>2/</sup> กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

<sup>3/</sup> กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

<sup>4/</sup> กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

อาหารชั้นที่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ในการทดลองครั้งนี้มีสัดส่วนการใช้กากมันสำปะหลังและกากถั่วเหลืองแตกต่างกัน คือ 50.0, 40.5, 31.0 และ 21.5 กิโลกรัม ลดลงไปตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น ตามลำดับ ขณะที่สัดส่วนการใช้กากถั่วเหลืองจะลดลงไปตามระดับการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น เท่ากับ 10.0, 9.5, 9.0 และ 8.5 กิโลกรัม ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3.5) (วัตถุดิบทั้งหมดรวมกันเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร) ตามลำดับ พบว่า ในกลุ่มที่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 4 ระดับ มีค่าวัตถุแห้งใกล้เคียงกัน คือ 92.5, 93.1, 93.3 และ 92.8 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบเคมีอื่น ได้แก่ อินทรียวตฤ โปรตีนหยาบ ไขมัน และเยื่อใย (NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber และ ADL = acid detergent lignin) ของในระหว่างกลุ่มการทดลองอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันทุกกลุ่ม มีค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 94.6,

14.2, 3.5, 51.3, 25.1 และ 5.1 เปอร์เซ็นต์ ผลของการลดระดับของกากมันสำปะหลังและกากถั่วเหลืองลง ร่วมกับการปรับใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน เพิ่มขึ้นที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารข้นไม่มีผลทำให้องค์ประกอบเยื่อใยหรือองค์ประกอบทางโภชนาการอื่นๆ แตกต่างกัน ค่าพลังงานโดยการ วัตโภชนาที่ย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrient; TDN), digestible energy (DE), metabolizable energy (ME), net energy for maintenance (NEm) และ net energy for growth (NEg) มีค่าใกล้เคียงกันตลอดทั้ง 4 สูตรอาหารทดลอง ขณะที่ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีฟางหมักยูเรียที่ใช้ในการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.6 พบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่เป็นวัตถุแห้งเท่ากับ 66.1, อินทรีย์วัตถุเท่ากับ 85.7, โปรตีนหยาบเท่ากับ 7.8 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน เท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (NDF) มีค่าเป็น 75.8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (ADF) มีค่าเป็น 51.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลิกนิน (ADL) มีค่าเป็น 10.6 เปอร์เซ็นต์, TDN มีค่าเท่ากับ 40.02 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง, DE เท่ากับ 1.77, ME มีค่าเท่ากับ 1.42 Mcal/kgDM, NEm มีค่าเท่ากับ 0.61 Mcal/kgDM และ NEg เท่ากับ 0.10 Mcal/kgDM (ดังตารางที่ 3.6)

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่นำมาทำเป็นสูตรอาหารข้นผสมมาจากการคำนวณสูตรอาหาร และสัดส่วนของวัตถุดิบแต่ละชนิด ซึ่งไม่เท่ากันในแต่ละสูตร โดยเลือกใช้วัตถุดิบทั้งแหล่งพลังงานและโปรตีน แร่ธาตุ ได้แก่ กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง กากปาล์ม กากน้ำตาล ยูเรีย เกลือ และพรีมิกซ์ วัตถุดิบอาหาร สัตว์ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารข้นทดลองทุกสูตรถูกปรับให้มีโปรตีน (isonitrogenous) และพลังงาน (isocaloric) ใกล้เคียงกันที่สุด จึงมีการเพิ่มและลดระดับการใช้สัดส่วนของกากมันสำปะหลังและกากถั่วเหลือง ในสูตรอาหาร ตลอดจนการเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน เพิ่มขึ้นที่ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารข้นของการทดลองในครั้งนี้ ซึ่งกากมันสำปะหลังจัดเป็นวัตถุดิบประเภทพลังงาน แต่มีโปรตีนและไขมันในระดับต่ำมาก (Khajaraen et al., 1979) อย่างไรก็ตาม กากมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นอาหาร สัตว์ได้ 20 เปอร์เซ็นต์ (ชวนิศนदार, 2500) ปีตุนาถ (2547) พบว่า กากมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ทดแทน ในสูตรอาหารได้สูงถึง 45 เปอร์เซ็นต์ แต่ความฟามของกากมันสำปะหลังเมื่อนำมาผสมในสูตรอาหารข้น เพิ่มขึ้น อาจทำให้สัตว์มีอัตราการกินได้น้อยลง โดยปีตุนาถ (25747) ระบุว่า โคนมที่รับกากมันสำปะหลัง เป็นแหล่งวัตถุดิบพลังงานในอาหารข้น 45% ร่วมกับหญ้าหมักนั้น มีอัตราการกินได้สูงที่สุด เนื่องจากมีอัตรา การย่อยสลายของวัตถุแห้งหรือค่า Effective degradability of dry matter (DM) สูงที่สุด เท่ากับ 66.40 เมื่อเทียบกับโคนมในกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบพลังงานในอาหารข้นต่ำกว่าคือ ที่ระดับ 35 และ 40% ซึ่งพบว่า มีอัตราการย่อยสลายอยู่ที่ระดับ 65.90 และ 66.10 ตามลำดับ สอดคล้องกับเวียงสกุล และคณะ (2548) รายงานว่า การใช้กากมันสำปะหลัง 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้งและ อินทรีย์วัตถุ ณ ชั่วโมงที่ 12 อย่างไรก็ตาม การใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารผสมสำเร็จรูปโคนมเพื่อทดแทน ข้าวโพดที่ระดับ 0, 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการกินได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณ น้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม (โอภาส, 2542) และจากรายงานของ Losada and Alderete (1977) การใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการใช้ยูเรียและกากน้ำตาลในโคเพศผู้ตอนไม่มีความสัมพันธ์ต่อกันที่ในเชิงอัตราการเจริญเติบโต นอกจากนี้ระดับของกากมันสำปะหลังยังไม่มีผลต่ออัตราการกินได้เมื่อมีกากน้ำตาล ร่วมด้วย และการที่มันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังมีเปอร์เซ็นต์ไขมันต่ำ จึงใช้กากปาล์มและกากน้ำตาลใน

การปรับองค์ประกอบทางเคมีของเปอร์เซ็นต์ไขมันเพื่อให้เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากจะเป็นแหล่งพลังงานแล้ว ยังมีส่วนช่วยในการหล่อลื่นอาหารขณะที่สัตว์กินเข้าไปอีกด้วย เพิ่มความน่ากินเพราะกากมันสำปะหลังมีความฟามและมีฝุ่นมาก รวมถึงในการประกอบสูตรอาหารจึงยังคงต้องใช้วัตถุดิบโปรตีนสูงเป็นแหล่งโปรตีน ซึ่งวัตถุดิบที่มีโปรตีนสูง ได้แก่ กากถั่วเหลืองและยูเรีย เนื่องจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีทางโปรตีนของกากมันสำปะหลังหมักก็ยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน เพิ่มขึ้นที่ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นของการทดลองในครั้งนี้ไม่สามารถทดแทนการใช้กากถั่วเหลืองได้หมด เพราะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนหลังการหมักประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนเช่นเดียวกัน ดังนั้นในสูตรอาหารจึงมีการใช้ยูเรียเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารร่วมด้วย มีส่วนช่วยลดการใช้กากถั่วเหลืองที่มีราคาแพงลงได้ไม่มากนัก สอดคล้องกับรายงานของ Wanapat et al. (2000) พบว่า มันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมักและสามารถใช้ประโยชน์ได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับแหล่งโปรตีนอื่นที่ถูกย่อยสลายได้เร็ว ส่งผลให้จุลินทรีย์ได้รับพลังงานและไนโตรเจนเพียงพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์ต่อไป

**ตารางที่ 3.6** องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นและอาหารหยาบที่ใช้ในการทดลอง

	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>	UTS
วัตถุดิบแห้ง	92.5	93.1	93.3	92.8	66.1
อินทรีย์วัตถุ	93.9	93.8	95.2	95.3	85.7
โปรตีนหยาบ	14.3	14.1	14.2	14.3	7.8
ไขมัน	3.6	3.5	3.4	3.3	0.5
NDF	52.4	51.1	50.9	50.7	75.8
ADF	26.5	25.3	26.2	25.7	51.0
ADL	4.6	4.9	5.0	5.9	10.6
<sup>5</sup> TDN <sub>1x</sub> (%DM)	73.19	71.93	70.60	71.15	40.02
<sup>6</sup> DE (Mcal/kgDM)	3.20	3.15	3.11	3.14	1.77
<sup>7</sup> ME (Mcal/kgDM)	2.63	2.58	2.55	2.56	1.42
<sup>8</sup> NE <sub>m</sub> (Mcal/kgDM)	1.75	1.71	1.69	1.72	0.61
<sup>9</sup> NE <sub>g</sub> (Mcal/kgDM)	1.07	1.04	1.01	1.03	0.10

**หมายเหตุ:** UTS = urea treated rice straw, NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber, ADL = acid detergent lignin, and TDN = total digestible nutrient (% DM) at 1 X maintenance, DE = digestible energy, ME = metabolizable energy, NEm = net energy for maintenance และ NEg = net energy for growth

<sup>1/</sup> กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

<sup>2/</sup> กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

หมายเหตุ: ต่อ

<sup>3/</sup> กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

<sup>4/</sup> กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

$$^5/\text{TDN}_{1x} (\%) = \text{tdNFC} + \text{tdCP} + (\text{tdFA} \times 25.25) + \text{tdNDF} - 7$$

$$^6/\text{DE}_{1x} (\text{Mcal/kg}) = ((\text{tdNFC}/100) \times 4.2) + ((\text{tdNDF}/100) \times 4.2) \times ((\text{tdCP}/100) \times 5.6) + ((\text{FA}/100) \times 9.4) - 0.3$$

$$^7/\text{ME} = [1.01 \times (\text{DEp}) - 0.45] + [0.0046 \times (\text{EE} - 3)]$$

$$^8/\text{NE}_m = 0.086\text{LW} - 0.75 (\text{NRC}, 1988)$$

$$^9/\text{NE}_g = 0.045\text{LW} - 0.75 (\text{LWG}/1,000) + 1.119 + 1.0\text{LWG}/1,000$$

### ปริมาณการกินได้วัตถุดิบและโปรตีนของอาหาร

การกินได้ของวัตถุดิบและโปรตีนในโคเนื้อบราห์มันลูกผสมที่ได้รับการทดแทนกากมันสำปะหลังสดหมักยีสต์ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน คือ อาหารสูตรควบคุมหรือกลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis) กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis) และกลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มที่ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis) ผลการทดลองไม่พบว่า การกินได้โดยอิสระของโคเนื้อทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.7 โดยปริมาณการกินได้วัตถุดิบของอาหารชั้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.8 กิโลกรัมวัตถุดิบต่อตัวต่อวัน ทั้งสี่กลุ่ม ปริมาณการกินได้วัตถุดิบของอาหารหยาบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.1, 6.1, 6.0 และ 6.2 กิโลกรัมวัตถุดิบต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ และการกินได้ของอาหารรวมเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเท่ากับ 8.9, 8.9, 8.8 และ 9.0 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ สำหรับการกินได้ของโปรตีนต่อวันพบว่าโคเนื้อกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนในสูตรอาหารชั้นที่ระดับ 30% (DM basis) สูงกว่าทุกกลุ่มการทดลอง อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ตารางที่ 3.7 ปริมาณการกินได้โภชนะของโคเนื้ออบราห์มันลูกผสมที่ได้รับการทดแทนกากมันสำปะหลังสดหมักยีสต์ในสัดส่วนที่ต่างกัน

	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>	SEM	p-value
<b>การกินได้วัตถุดิบแห้ง (KgDM/d)</b>						
อาหารหยาบ	6.1 ± 0.1	6.1 ± 0.2	6.0 ± 0.2	6.2 ± 0.1	0.24	0.3512
อาหารข้น	2.8 ± 0.0	2.8 ± 0.0	2.8 ± 0.0	2.8 ± 0.0	-	-
รวม	8.9 ± 0.1	8.9 ± 0.2	8.8 ± 0.2	9.0 ± 0.1	0.22	0.2581
อาหารหยาบ (g/kgW <sup>0.75</sup> )	79.5 ± 2.1	79.7 ± 2.3	77.5 ± 2.2	80.9 ± 2.4	2.20	0.0762
อาหารข้น (g/kgW <sup>0.75</sup> )	36.5 ± 0.9	36.6 ± 0.9	36.2 ± 0.9	36.5 ± 0.9	0.14	0.8987
รวม	116.1 ± 2.6	116.2 ± 2.6	113.6 ± 2.6	117.5 ± 1.7	2.11	0.0897
<b>การกินได้โปรตีน (gDM/d)</b>						
อาหารหยาบ	474.2 ± 4.1	478.1 ± 5.2	471.1 ± 6.2	481.3 ± 4.1	5.63	0.5033
อาหารข้น	400.4 ± 0.1	394.8 ± 0.1	397.6 ± 0.1	400.4 ± 0.1	1.99	0.8990
รวม	874.6 ± 3.7	872.9 ± 4.3	868.7 ± 6.3	881.7 ± 4.1	4.42	0.0835
อาหารหยาบ (g/kgW <sup>0.75</sup> )	6.2 ± 0.1	6.2 ± 0.1	6.1 ± 0.1	6.3 ± 0.4	0.21	0.5359
อาหารข้น (g/kgW <sup>0.75</sup> )	5.2 ± 0.1	5.2 ± 0.1	5.1 ± 0.1	5.2 ± 0.2	0.15	0.9904
รวม	11.4 ± 0.2	11.3 ± 0.2	11.2 ± 0.2	11.5 ± 0.2	0.18	0.3664

หมายเหตุ BW = body weight, BW<sup>0.75</sup> = metabolic body weight, <sup>a, b, c, d</sup> Means within a row with different superscripts are significantly different (P<0.05) และ SEM = Standard error of mean

<sup>1/</sup> กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยีสต์ร่วมกับอาหารข้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

<sup>2/</sup> กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยีสต์ร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

<sup>3/</sup> กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยีสต์ร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

<sup>4/</sup> กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยีสต์ร่วมกับอาหารข้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

จากการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยีสต์ที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารข้น ไม่พบความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างการกินได้วัตถุดิบแห้งและการกินได้ของโปรตีนของโคเนื้อทั้ง 4 กลุ่มการทดลองเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยีสต์ที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น โดยทั่วไป มันสำปะหลังจัดเป็นแหล่งของอาหารพลังงานที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ยังพบว่ามีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้ของ



อาหารภายในกระเพาะหมักอย่างรวดเร็วด้วย (Wanapat et al., 2000) ส่งผลให้อัตราการกินได้สูงตามไปด้วย (Timminga, 1979) เช่นเดียวกับ Martin et al. (2000) รายงานว่า อาหารชั้นที่มีแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็ว และมีแหล่งไนโตรเจนที่สามารถย่อยได้รวดเร็วนั้น จะทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารและนำมาใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์ตนเองได้รวดเร็ว ส่งผลให้กระบวนการย่อยสลายอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าอาหารชั้นทดลองทั้ง 4 สูตรที่ได้จากการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน มีอัตราการย่อยสลาย (Effective degradability of DM) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยเหตุนี้จึงไม่ส่งผลให้อัตราการกินได้ของโคเนื้อในทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันตามไปด้วย และในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับโปรตีนที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมักร่วมกับแหล่งพลังงานในระดับสูงสามารถเพิ่มการสังเคราะห์จุลินทรีย์และสามารถเพิ่มการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุอาหารประเภทแป้งได้สูงขึ้น ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ว่าอาหารที่มีแป้งที่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักมีผลต่อการนำใช้ประโยชน์ของไนโตรเจน (Tedeschi et al., 2000) ซึ่งผลการการกินได้วัตถุแห้งและโปรตีนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Nitipot et al. (2004) ทดแทนมันสำปะหลังด้วยกากมันสำปะหลังที่ระดับ 0, 50 และ 100% ในอาหารชั้นของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน (Crossbred Holstein Friesian) ระดับเลือดมากกว่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ และอยู่ในระยะให้นม ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ร่วมกับการให้ฟางข้าวแบบเต็มที่ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินได้ทั้งหมด พฤติกรรมการกิน การย่อยได้ของเยื่อใย ผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก ค่าเมทาบอลิซึมในเลือด และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ( $P > 0.05$ ) เช่นเดียวกับการใช้กากมันสำปะหลังทดแทนในอาหารชั้นที่ระดับ 35, 40 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในโคลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียนระยะให้นมไม่มีผลทำให้ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง ปริมาณน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม หรือน้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลงทุกกลุ่มการทดลอง (Suksombat et al., 2006) และ Promkot et al. (2013) ไม่พบความแตกต่างของการกินได้ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมในการให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์ อาจเนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน มีระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นเพียง 4-5 เปอร์เซ็นต์ และมีการปรับสูตรอาหารทั้ง 4 สูตรให้มีระดับโปรตีนที่ใกล้เคียงกัน จึงไม่พบว่าการกินได้วัตถุแห้งและโปรตีนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) อนึ่ง ปริมาณการกินได้ยังผันแปรตามปริมาณโปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (rumen degradable protein; RDP) และโปรตีนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (rumen un-degradable protein; RUP) (ปัตนาก, 2547) ซึ่งพบว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักสูงจะส่งผลให้ปริมาณการกินได้สูงกว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้น้อยในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ยังพบว่า ระดับของโปรตีนมีผลต่อปริมาณการกินได้ในโคเนื่องจากอาหารที่มีโปรตีนสูงจะทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักได้รับไนโตรเจนเพียงพอต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้การย่อยได้สูงขึ้น เกิดสภาพการไหลผ่านของอาหารจากกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น ทำให้การกินได้สูงขึ้น (Claypool et al., 1980) อ้างโดยปัตนาก (2547) อย่างไรก็ตาม ส่วนของโปรตีนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักจะมีผลต่อสมดุลกรดอะมิโนในสัตว์ ซึ่งจะส่งผลต่อกลไกการควบคุมการกินได้ (Egan and Moir, 1965) เมื่อร่างกายของสัตว์เกิดภาวะกรดอะมิโนไม่สมดุลจะมีผลต่อกระบวนการวิลิเมตาโบไลต์ ทำให้ลดการใช้ประโยชน์ของสารตั้งต้น เนื่องจากการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ กระทบต่อขั้นตอนวิธีการเคลื่อนย้ายสารอาหารต่างๆ ซึ่งอาจเป็น

สาเหตุให้เกิดการกระตุ้น chemoreceptor และการควบคุมการกินได้ในสมองของตัวสัตว์ (Forbes, 1986) สอดคล้องกับการใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบพลังงานในอาหารชั้นในโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียนของปีตุนาด (2547) พบว่า กลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังทดแทนในอาหารชั้นที่ระดับต่ำ คือ 35% และหญ้าหมักเป็นอาหารหยาบ จะได้รับโปรตีนที่สามารถย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักต่ำกว่า (1,391 กรัม/วัน) ที่ได้รับกากมันสำปะหลังทดแทนในอาหารชั้นที่ระดับสูงกว่า คือ 40% (1,400 กรัม/วัน) และ 45% (1,412 กรัม/วัน) ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลทำให้การกินได้ของโคนมได้รับกากมันสำปะหลังทดแทนในอาหารชั้นที่ระดับต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังทดแทนในอาหารชั้นสูง จะเห็นได้ชัดว่า ผลการทดลองในครั้งนี้ การกินได้วัตถุดิบและการกินได้โปรตีนของโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น ใกล้เคียงกัน อาจเนื่องจากอัตราการย่อยสลายได้ของวัตถุดิบของกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ไม่ได้มีความแตกต่างกัน อนึ่ง ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการกินได้ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Factors affecting the intake of ruminants) ที่ถูกเลี้ยงดูในคอกกัก (indoor feeding) จะถูกควบคุมด้วย 2 ปัจจัยหลัก คือ metabolic factor และ physical factor (วิศิษฐ์พร, 2542)

#### อัตราการเจริญเติบโต

น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง (กรัม/วัน) ของโคเนื้อที่ได้รับจากอาหารทดลอง ทั้ง 4 สูตร แสดงไว้ในตารางที่ 3.8 พบว่า น้ำหนักตัวของโคเนื้อก่อนการทดลอง (252.3, 25.1, 253.8 และ 250.5 กิโลกรัม ตามลำดับ) น้ำหนักตัวหลังสิ้นสุดการทดลอง (325.8, 325.1, 330.3 และ 325.3 กิโลกรัม ตามลำดับ) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น มีค่าเป็น 73.5, 74.0, 76.5 และ 74.8 กิโลกรัม ตามลำดับ และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง (750, 755, 755 และ 763 กรัม/วัน ตามลำดับ) ที่ศึกษาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง โดยสรุปการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P>0.05$ )

ตารางที่ 3.8 น้ำหนักตัวและการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโค

	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>	SEM	p-value
น้ำหนักเริ่มต้น (กก.)	252.3	251.1	253.8	250.5	5.12	0.8779
น้ำหนักสุดท้าย (กก.)	325.8	325.1	330.3	325.3	6.19	0.3370
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กก.)	73.5	74.0	76.5	74.8	4.03	0.3442
ADG*, g/day	750	755	775	763	11.87	0.4111

หมายเหตุ ADG = average daily gained, <sup>a, b, c</sup> Means within a row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ), SEM = Standard error of the mean และ

<sup>1/</sup> กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

<sup>2/</sup> กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

<sup>3/</sup> กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

<sup>4/</sup> กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ของโคเนื้อในการทดลองครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง สอดคล้องกับปิตุนาถ (2547) ศึกษาในระดับสูงสุดของการใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในอาหารชั้นต่อปริมาณน้ำนม, องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม, การกินได้ของโคนม และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงที่ระดับ 35, 40 และ 45 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหาร ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการศึกษาของ เวชสิทธิ์และคณะ (2541) ทดสอบใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งของพลังงานทดแทนข้าวโพดที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารของลูกโคนมเพศผู้ พบว่าน้ำหนักตัวมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงดีกว่าการใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่มทั้งหมด และน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวันสูงกว่าโคนมกลุ่มอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เมื่อพิจารณาถึงปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อวัน (dry matter intake; kg/d) พบว่า ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เมื่อมีปริมาณของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม พบว่ามีแนวโน้มทำให้การกินได้ของอาหารหยابลดลงในกลุ่มที่ 3 ที่โคเนื้อได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้การกินได้ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิตินี้ อาจเนื่องมาจากอาหารที่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ในทุกระดับของสูตรอาหารชั้นนั้นไม่ได้มีผลทำให้มีระดับของเยื่อใยเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยปกติแล้วเยื่อใยจากอาหารที่สัตว์กินเข้าไปอาจจะส่งผลทำให้การย่อยได้ลดลงและส่งผลทำให้ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งอาหารหยابลดลงได้ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในครั้งนี้กับงานวิจัย (unpublished paper) ที่มีความเกี่ยวข้องกันในแพะเนื้อที่ทดสอบการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในระดับต่างๆ ในสูตรอาหารชั้นของแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนต่อการกินได้ กระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน และสมรรถนะการผลิต ที่ระดับการทดแทนด้วยกากมันสำปะหลังโปรตีนสูงในสูตรที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (DM basis) ร่วมกับอัลฟาฟาแห้งชนิดอัดเม็ดให้แบบเต็มที พบว่า ทั้ง 3 ระดับมีผลทำให้แพะมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและพบค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เปลี่ยนแปลงต่อวัน (กรัม/วัน) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือกลุ่มแพะทดลองที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนในสูตรอาหารชั้นที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ (DM basis) ต่อตัวต่อวันและอัลฟาฟาแห้งชนิดอัดเม็ดเป็นแหล่งของอาหารหยาบมีค่าสูงสุดรองลงมาคือที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (DM basis) และ 30 เปอร์เซ็นต์ (DM basis) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีเพียงกลุ่มแพะทดลองที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนในสูตรอาหารชั้นที่ระดับ 20% (DM basis) ต่อตัวต่อวันกลุ่มเดียวที่มีน้ำหนักตัวหลังสิ้นสุดการทดลองสูงสุด โดยทั่วไปแล้ว ปริมาณการกินได้โปรตีนที่เพิ่มขึ้นจากอาหารที่สัตว์ได้รับนั้นจะส่งผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวสัตว์ในระยะหลังสิ้นสุดการทดลอง สอดคล้องกับ Claypool et al. (1980) พบว่าโปรตีนมีผลต่อปริมาณการกินได้เนื่องจากอาหารที่มีโปรตีนสูงจะทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักได้รับไนโตรเจนเพียงพอต่อการเจริญเติบโต ซึ่งจะส่งผลให้การย่อยได้สูงขึ้น เมื่อการย่อยได้สูงขึ้นการไหลผ่านของอาหารจากกระเพาะหมักก็เพิ่มสูงขึ้น ทำให้โคสามารถกินอาหารได้มากขึ้น ทั้งนี้ปริมาณการกินได้ของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนการเสริมกากมันสำปะหลังสดที่ระดับ 3.5 และ 7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ร่วมกับอาหารชั้นและหญ้าสดที่ให้แบบเต็มทีในโคนมลูกผสมพันธุ์ไฮสไตน์ฟรีเซียนในระยะ early-mid lactation ที่น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่  $394 \pm 40$  กิโลกรัม (Srisaikham et al., 2018) ซึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงต่อผลผลิตและองค์ประกอบของนมในกลุ่มที่ได้รับการเสริมกากมันสำปะหลังสดอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณการเสริมกากมันสำปะหลังสดทั้ง 2 ระดับไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัวของวัวตลอดช่วงการทดลอง ( $P > 0.05$ ) การศึกษาวิจัยจำนวนมากแนะนำให้ลดระดับการทดแทนมันสำปะหลังที่มี HCN สูงในอาหารชั้นลงเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาที่อาจเกิดขึ้นต่อปริมาณการกินได้ที่ต่ำลงของสัตว์และผลกระทบต่อการผลิตในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Suranindyah and Astuti, 2012; Ukanwoko and Ibeawuchi, 2014) อย่างไรก็ตาม การศึกษาทดลองในครั้งนี้ การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ในทุกระดับของสูตรอาหารชั้นถูกนำไปใช้ในระดับที่เหมาะสมจากการสืบค้นเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมาก่อนแล้ว จึงไม่พบว่ามีโคเนื้องอกกลุ่มการทดลองใดน้ำหนักตัวลด ถึงแม้ว่า Srisaikham et al. (2018) จะรายงานว่ามีการตรวจพบไซยาไนด์ (cyanide content) ด้วยวิธี Pyridine Pyrazorone method (O'Brien, 1991) ในกากมันสำปะหลังสด เท่ากับ  $72.20 \pm 1.64$  mg./kg. dry solid) แต่จากการศึกษาของ Nhi et al., (2001) ไม่พบว่ามีปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลัง

### ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะของโค

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ในโภชนะ โดยใช้ตัวชี้บ่งภายใน (internal indicator) พบว่า ถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ของอาหารทดลองและในโคกลุ่มที่ได้รับการกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ในทุกระดับของสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ดังแสดงในตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.9 ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะของโค

	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>	SEM	p-value
AIA in UTS, %	-----7.93-----				-	-
AIA in feed, %	2.1	2.1	2.2	2.2	0.33	0.37
AIA in feces, %	15.9	15.7	15.7	15.4	1.21	0.86
*DDM, %	61.7	61.2	61.1	60.1	4.71	0.72

UTS = urea treated rice straw, AIA = acid insoluble ash, DM = dry matter, \* Digestibility coefficient dry matter =  $100 - (100 \times \% \text{AIA in feed} / \% \text{AIA in feces})$ , SEM = Standard error of the mean

a, b, c, d Means within a row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ )

1/ กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

2/ กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

3/ กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

4/ กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

เนื่องจากการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นครั้งนี้มีการปรับสัดส่วนของวัตถุดิบบางตัวเพื่อให้มีระดับโปรตีนที่ใกล้เคียงกันทุกสูตร (เฉลี่ยประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน) จึงไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการย่อยโภชนะได้ของโคในทุกกลุ่มการทดลอง โดยทั่วไปความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบและโปรตีนหายไปในสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันนั้น ประสิทธิภาพของการย่อยได้โภชนะจะผันแปรไปตามปริมาณการกินได้วัตถุดิบและโปรตีน กล่าวคือสัตว์จะอาศัยความสามารถในการย่อยจากจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก เข้าย่อยสลายอาหารที่ผ่านไปในกระเพาะหมัก ซึ่งความสามารถในการย่อยอาหารได้ของจุลินทรีย์จะสัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์ในเชิงบวก ฉะนั้นการย่อยได้ของโภชนะโปรตีนจะขึ้นอยู่กับระดับของโปรตีนในอาหาร (Schnieder and Flatt, 1975) นอกจากนี้ระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักก็มีส่วนช่วยในการย่อยได้ของโภชนะ เมื่อระดับแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจะทำให้การย่อยได้ของวัตถุดิบเพิ่มขึ้น (Song and Kenelly, 1990) ขณะที่การขาดโปรตีนในอาหารจะมีผลทำให้การย่อยได้ของพลังงานลดลงและทำให้ปริมาณการกินได้ลดลง หากทำการเสริมอาหารที่มีโปรตีนสูง หรือ non-protein nitrogen เช่น urea ให้กับสัตว์ที่กินฟางเป็นอาหารหลัก การย่อยได้ของฟางข้าวจะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับค่าแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักของโคเนื้อของการทดลองในครั้งนี้ที่ไม่พบความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองทั้ง 4 กลุ่ม จึงไม่มีผลกระทบต่อความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะของโค นอกจากนี้ พิพัตน์ (2560) ได้อธิบายถึง อิทธิพลของอัตราการไหลผ่านของ Digesta จากกระเพาะหมักที่มีต่อการย่อยได้ของอาหารในกระเพาะหมักคือ ถ้าอัตราการไหลผ่านเพิ่มขึ้น จะทำให้การย่อยได้ของอาหารในกระเพาะหมักลดลง ทั้งนี้เพราะ digesta มีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักน้อย ทำให้จุลินทรีย์

มีระยะเวลาในการเข้าย่อยสลายอาหารน้อยลง แต่การไหลผ่านที่เร็วจะทำให้สัตว์กินอาหารได้เพิ่มขึ้น ถึงแม้ว่า แป้งในมันสำปะหลังมีคุณสมบัติเป็นแป้งที่สามารถย่อยได้เร็วในกระเพาะหมัก สมเจต (2530) ระบุว่า กากมันสำปะหลังยังคงมีปริมาณแป้งอยู่สูงประมาณ 64.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง แต่การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อ pH ภายในกระเพาะหมักให้เปลี่ยนแปลงออกไปจากระดับของค่า pH ภายในกระเพาะหมักที่ปกติ จนทำให้สมดุลของกระบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะเสียไป ปกติแล้วจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการย่อยได้ของอาหารในกระเพาะหมัก (Factors affecting ruminal digestion โดยเฉพาะแบคทีเรียจะทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์เข้าย่อยสลายโปรตีน กิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของอาหาร ระดับความเป็นกรดต่าง (pH) ภายในกระเพาะหมัก ระดับของแอมโมเนียในกระเพาะหมัก ถ้าต่ำจะทำให้การย่อยสลายของโปรตีนสูงขึ้น ส่วน pH ที่เหมาะสมต่อการเข้าย่อยสลายโปรตีนจะอยู่ระหว่าง 6-7 แต่ pH ไม่มีผลทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยโปรตีนต่างกัน (Ørskov, 1980) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณเยื่อใยในอาหาร, โภชนะที่สำคัญ, อุณหภูมิสภาพแวดล้อม, ความถี่ของการให้อาหาร, ลักษณะรูปร่างของอาหาร หรือแม้แต่การปรับตัวต่ออาหารชนิดใหม่ด้วย

#### ค่าชีวเคมีในเลือด

ค่าชีวเคมีในกระแสเลือดที่ทำการวิเคราะห์ศึกษา คือ ความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด (Blood Urea Nitrogen; BUN) ของโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในเลือด ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร เท่ากับ 7.2, 7.2, 7.3 และ 7.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ( $P>0.05$ ) (ดังแสดงในตารางที่ 3.10)

ระดับไนโตรเจนในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากแหล่งโปรตีนที่สัตว์ได้รับจากอาหารที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักในปริมาณแตกต่างกัน โดยหลังจากที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินอาหารเข้าไปแล้ว แอมโมเนียไนโตรเจนจะเพิ่มสูงขึ้นตามเวลาที่ใช้ในการย่อยอาหารด้วยจุลินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้นนั่นเอง โดยระดับยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดจากการทดลองครั้งนี้อยู่ในช่วง 12.2-13.5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ในทำนองเดียวกัน พบว่าค่าความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นตามระดับการเสริมยูเรีย 1 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 3.10 อย่างไรก็ตาม ค่าแอมโมเนียไนโตรเจน และค่าความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดอยู่ในช่วงที่เหมาะสม (Ferguson et al., 1993) สอดคล้องกับ พัชรจาวรารณและคณะ (2556) พบว่า เปอร์เซ็นต์โปรตีนหยาบในอาหาร สัมพันธ์กับความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในซีรัม เมื่อแม่โคนมสายเลือดโฮลสไตน์ฟริเซียนสูงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้รับมีโปรตีนหยาบเฉลี่ย  $11.01 \pm 3.47$  เปอร์เซ็นต์ จากการที่เกษตรกรผสมอาหารชั้นเองจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หาได้ในท้องถิ่นและสหกรณ์โคนม ได้แก่ มันสำปะหลัง ข้าวโพดบด รำหยาบ รำละเอียด กากปาล์ม กากถั่วเหลือง แร่ธาตุและอาหารสำเร็จรูป ร่วมกับการให้หญ้าสดหรือฟางข้าวแยกกับการให้อาหารชั้น มีความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนเฉลี่ย  $12.95 \pm 6.36$  มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ มีระดับสูงกว่ารายงานในจังหวัดขอนแก่นของ Aiumlamai et al. 2010 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์โปรตีนหยาบในอาหาร และความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนใน

เลือดเป็น  $9.9 \pm 1.2$  และ  $5.86 \pm 3.72$  มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่าระดับของไนโตรเจนในกระแสเลือดจะผันแปรไปตามอาหารที่สัตว์ได้รับ เช่นเดียวกับโคมนที่อยู่ในช่วงการให้ผลผลิตและได้รับถั่วอัลฟัลฟ่าหมัก พบว่าระดับของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนอยู่ในช่วง 18.7-22.9 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรพลาสมา และยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดอยู่ในช่วง 15.0-20.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรพลาสมา ส่วนปริมาณผลผลิตน้ำนมอยู่ในช่วง 31.1 - 32.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน (Robinson et al., 1991) Puchala et al. (2005) รายงานว่า ระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนจะเพิ่มสูงขึ้นหลังการให้อาหาร ณ ชั่วโมงที่ 3 จากกระบวนการหมักที่เพิ่มสูงขึ้น ภายหลังจากที่ได้รับอาหารชั้นและจะลดลงในชั่วโมงที่ 6 จากการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือด สอดคล้องกับ Church (1979) ได้อธิบายการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นเดียวกันว่า โดยทั่วไปยูเรียจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมัก โดยการทำงานของจุลินทรีย์ ได้ผลผลิตสุดท้ายคือ แอมโมเนีย โดยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์จะถูกใช้ไปในการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ ส่วนแอมโมเนียที่เหลือจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือดผ่านไปยังตับเพื่อเข้าสู่วัฏจักรยูเรีย แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าแอมโมเนียไนโตรเจนในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่ออาหารมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น จะมีอัตราการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามเวลา และเนื่องมาจากมันสำปะหลังมีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะรูเมน (Wanapat et al., 2000) ซึ่งในกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนในสูตรอาหารชั้นที่ระดับ 30% (DM basis) ประกอบด้วยกากมันสำปะหลังที่เป็นผลผลิตจากมันสำปะหลังในระดับสูงที่สุด จึงมีความเป็นไปได้ที่การทดลองนี้จะสังเกตพบระดับของไนโตรเจนในกระแสเลือดของโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มการทดลองอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ชั่วโมงที่ 4 เพราะเป็นช่วงที่เกิดกระบวนการย่อยสลายอาหารโปรตีนได้ในระดับสูง

**ตารางที่ 3.10** ค่าปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN), ค่าความเป็นกรด-ด่าง (rumen pH), แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในของเหลวในกระเพาะหมัก ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ และกรดไขมันระเหยได้ในของเหลวในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับแตกต่างกัน ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร

	กลุ่มควบคุม <sup>1</sup>	10% <sup>2</sup>	20% <sup>3</sup>	30% <sup>4</sup>	SEM	p-value
BUN (mg%)	7.2	7.2	7.3	7.4	0.12	0.2201
Rumen pH	6.63	6.77	6.73	6.85	0.23	0.1211
$\text{NH}_3\text{-N}$ , mg%	12.2	12.3	13.3	13.5	3.01	0.1273
Direct count rumen microbes						
Bact, x 10 <sup>9</sup> cell/ml	1.38	1.43	1.65	1.70	0.27	0.2018
Prot, x 10 <sup>3</sup> cell/ml	2.63	2.15	2.88	2.50	0.36	0.2320
Total VFA (mM/L)	102.6	107.3	104.5	103.6	4.89	0.3591
Molar proportion of VFA (mol/100mol)						
Acetic acid (C <sub>2</sub> )	67.6	65.2	66.1	66.4	1.99	0.7783
Propionic acid (C <sub>3</sub> )	20.9	22.3	22.9	22.0	1.21	0.7440
Butyric acid (C <sub>4</sub> )	11.5	12.5	11.0	11.7	1.47	0.6462
C <sub>2</sub> : C <sub>3</sub>	3.2	2.9	2.9	3.0	0.15	0.4781

**หมายเหตุ:** BUN= Blood urea nitrogen, mg%= milligram percent,  $\text{NH}_3\text{-N}$  = Ruminal ammonia nitrogen, Bact = bacteria, Prot = protozoa, cell/ml = cell per millilitre

1/ กลุ่มที่ 1 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่ไม่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (อาหารกลุ่มควบคุม)

2/ กลุ่มที่ 2 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 10% (DM basis)

3/ กลุ่มที่ 3 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 20% (DM basis)

4/ กลุ่มที่ 4 ได้รับฟางหมักยูเรียร่วมกับอาหารชั้นที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรที่ระดับ 30% (DM basis)

### ค่านิเวศวิทยาภายในรูเมน

ค่านิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักที่ทำการวิเคราะห์ศึกษา คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (ตารางที่ 3.10) ของโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลอง มีค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง หลังการให้อาหารชั่วโมงที่ 4 เท่ากับ 6.63, 6.7, 6.73 และ 6.85 ตามลำดับ ( $P>0.05$ ) และค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักในโคเนื้อทดลองด้วยวิธีการ suction pump เพื่อดูดเอาของเหลวภายในกระเพาะหมักจากทางปาก ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30



เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลอง ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร ดังนี้ กลุ่มควบคุม มีระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักเท่ากับ 12.2 และ 12.3, 13.3 และ 3.5 mg% ในกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.10 จุลินทรีย์จะทำงานได้ดีถ้าสภาพภายในกระเพาะหมักมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คืออยู่ในช่วง 6.5-7.0 และค่าความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) ภายในกระเพาะหมักจะลดลงตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น จากการศึกษาทดลองในครั้งนี้พบว่า ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง หลังการให้อาหารชั่วโมงที่ 4 ของทุกกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ( $P>0.05$ ) ซึ่งให้เห็นว่า การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น ไม่มีผลกระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักที่ 6.5-7.0 ทั้งแบคทีเรีย โปรโตซัว และรา จะสามารถเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและเหมาะสมต่อการย่อยอาหาร (Czerkawawski, 1986 และเมธา (2533)) จากการศึกษาในโคนมที่ให้กินกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบพลังงานในอาหารชั้นที่ระดับ 35, 40 และ 45 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่า rumen pH ลดลงตามชั่วโมงที่เพิ่มขึ้น และ pH ภายในกระเพาะหมักจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเมื่อถึงชั่วโมงที่ 5 (ปีตุนาถ, 2547) เช่นเดียวกับ สอดคล้องกับ Puchala et al. (2005) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ณ เวลาต่างๆ คือ 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมงมีค่าเฉลี่ยลดลง หลังการให้อาหาร

ถึงแม้ว่า Bunting et al. (1989) จะรายงานเกี่ยวกับระดับโปรตีนที่สูงขึ้นในอาหารจะมีผลทำให้ rumen pH ลดลง เนื่องจากการเกิดกระบวนการหมักสูงสุดประมาณชั่วโมงที่ 3-4 หลังการให้อาหาร แต่จากการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบว่าในชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร โคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับสูงสุด คือ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น จะมี rumen pH ลดลงต่ำที่สุด ( $P>0.05$ ) ตามปริมาณการกินได้โปรตีน สูงที่สุดเมื่อเทียบกับระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยกัน ( $P>0.05$ ) อาจเนื่องจากระดับการกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ในทุกระดับไม่มีผลกระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก จนส่งผลทำให้กระบวนการย่อยสลายและกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักนั้นเปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้ระดับ pH ในกระเพาะหมักจะเป็นตัวกำหนดการกินอาหารเฉพาะในระยะเวลาสั้นๆ เท่านั้น เพราะระดับ rumen pH มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา เช่น เมื่อมีปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมัก มีผลไปลดการทำงานของ cellulolytic bacteria ลง เกิดสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะหมัก (Merten and Loften, 1980) ทั้งนี้ระดับของค่า rumen pH เป็นดัชนีหนึ่งที่สามารถบ่งบอกถึงการเกิดโรค rumen acidosis ได้ หากมีค่าลดต่ำกว่า 5.9 จะส่งผลทำให้เกิดโรค rumen acidosis (Seal and Parker, 1994; Hurley, 1998; Garrett et al., 1999 และ The Pennsylvania State University, 2001) แต่ไม่พบว่าเมื่อมีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนในสูตรอาหารชั้นครั้งนี้ในทุกระดับจะส่งผลกระทบต่อ rumen pH ที่จะมีความเป็นไปได้ที่จะเกิดโรค rumen acidosis สอดคล้องกับการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยยีสต์ของ Khampa et al. (2009) พบว่า rumen pH อยู่ในสภาวะที่เกือบเป็นกลาง ซึ่งต่างจากอาหารที่ไม่ได้เสริมมันสำปะหลังที่

หมักด้วยยีสต์ที่มีค่า pH ต่ำกว่าซึ่งเสี่ยงกับสถานะการเป็นกรดในกระเพาะหมักที่จะทำให้เป็นอันตรายต่อกระบวนการย่อยอาหารประเภทเยื่อใยของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกระเพาะอาหารได้

จากการทดลองครั้งนี้ พบปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหารระหว่างโคกลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่ไม่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์และกลุ่มโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 12.2 และ 13.5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ระดับดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์ที่ Wallace (1979) รายงานว่า เป็นระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 9.7-21.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสถานะที่แบคทีเรียในกระเพาะหมักสามารถใช้ประโยชน์จากแอมโมเนียไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ จากการรายงานของ Satter and Slyter (1974) พบว่า นอกจากค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักที่เหมาะสมแล้วระดับแอมโมเนียไนโตรเจนจะมีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งระดับที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 4-5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Boniface et al. (1986); Perdok and Leng (1990); Song and Kennelly (1990) และ Wanapat and Pimpa (1999) รายงานว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 15-20 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมให้เกิดกระบวนการย่อยสลายและกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ภายในกระเพาะหมัก พบว่าค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เช่นเดียวกับการศึกษาทดลองใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารชั้นของในโคเจาะกระเพาะลูกผสม (พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์และพันธุ์บรามันที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) ที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ของจักรกริช (2555) ไม่พบว่ามีผลต่อแอมโมเนียไนโตรเจนหลังจากให้อาหารที่ระยะเวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ Puchala et al. (2005) พบว่า เวลาที่ใช้ในการย่อยเพิ่มมากขึ้น คือ ณ เวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน ถึงแม้ว่าโดยทั่วไปปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักจะเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 3 จากกระบวนการหมักที่เพิ่มสูงขึ้นภายหลังที่สัตว์ได้รับอาหารชั้นและจะลดลงในชั่วโมงที่ 6 จากการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือด ผ่านไปยังตับเพื่อเข้าสู่วัฏจักรยูเรียก็ตาม แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าแอมโมเนียไนโตรเจนในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นด้วย จึงเห็นได้ว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับระดับไนโตรเจนในกระแสเลือด (Church, 1979) รวมถึงระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลสัมพันธ์กับระดับไนโตรเจนในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น Khampa et al. (2009a, b) ซึ่งเป็นผลมาจากแหล่งโปรตีนจากอาหารที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักในปริมาณที่แตกต่างกัน (Wanapat and Pimpa, 1999) แต่ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดมีค่าผันแปรออกไปอยู่ตลอด โดยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย (โชคชัย, 2536) เช่น ระดับโปรตีนที่สัตว์ได้รับ การย่อยได้โปรตีน (เมธา, 2529) ระดับพลังงาน การย่อยสลายโปรตีนในร่างกาย (proteolysis) เพื่อใช้ในการสร้างพลังงานในขณะอดอาหาร รวมถึง amino acid ที่ไม่ได้ถูกใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนก็จะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียไนโตรเจนในเลือด ดังตารางที่ 3.10 ในทำนองเดียวกันพบว่าคุณค่าความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดมีค่าใกล้เคียงกันตามระดับการเสริม

ยูเรียในสูตรอาหารที่เท่ากัน จึงทำให้ความสัมพันธ์ของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักไม่มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ประชากรแบคทีเรียและโปรโตซัวในกระเพาะหมักในช่วงที่ 4 หลังการให้อาหาร ของโคกลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่ไม่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์และกลุ่มโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลองทั้ง 4 สูตรทดลอง ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยเป็น  $1.54 \times 10^9$  cells/ml และมีประชากรแบคทีเรียสูงสุดในกลุ่มโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง ( $P>0.05$ ) โปรโตซัวลดลงต่ำสุดในกลุ่มโคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง ( $P>0.05$ ) และมีค่าเฉลี่ยเป็น  $2.54 \times 10^3$  cells/ml (ตารางที่ 3.10) ชนิดและจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่พบในกระเพาะหมักจะสัมพันธ์กับ rumen-pH เนื่องจากมีความสัมพันธ์ต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย (Moat, and Foster, 1995) ฉะนั้นความแตกต่างของอาหารและโภชนาที่สัตว์ได้รับจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักด้วย ถึงแม้ว่าจำนวนแบคทีเรียหลังจากการให้อาหาร ณ ช่วงที่ 4 ในโคเนื้อกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง จะไม่ได้เปลี่ยนแปลงไปตามทฤษฎีของ rumen pH หลังมีการย่อยสลายได้ของอาหารมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายสูงในกระเพาะหมัก อาจเพราะที่ระดับการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายสูง ที่ระดับโปรตีนเฉลี่ย 4-5 เปอร์เซ็นต์ดังกล่าว ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ทั้งนี้การเพิ่มปริมาณแป้งในสูตรอาหารโดยทั่วไปจะไปมีผลในการลดการทำงานของ cellulolytic bacteria เมื่ออยู่ในสภาวะการเป็นกรดอันเนื่องมาจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็ว ทำให้พบอิทธิพลในการปรับสภาพนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักต่อการลดจำนวนประชากรแบคทีเรียลง (Merten and Loften, 1980) ส่งผลต่อไปยังจำนวนของประชากรโปรโตซัว เนื่องจากอาศัยอยู่กันแบบ symbiosis โปรโตซัวส่วนใหญ่จะกินแบคทีเรียเป็นอาหารและช่วยให้กระบวนการหมัก-ย่อยสลายเยื่อใยคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ และแป้งจากธัญพืช ภายในกระเพาะหมักสมดุล ป้องกันการเกิดกรดที่รวดเร็วจากการที่สัตว์ได้รับอาหารจำพวกแป้งหรือพลังงานสูงๆ เนื่องจากแป้งถูกแบคทีเรียหมักอย่างรวดเร็ว (Dehority, 1993) อย่างไรก็ตามกลไกที่เกิดขึ้นภายในนิเวศวิทยาของกระเพาะหมักมีความสลับซับซ้อนและเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ขึ้นอยู่กับระดับของจุลินทรีย์เริ่มต้น ช่วงเวลาในการตรวจวัดและสภาพแวดล้อมเดิมของนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักด้วย แต่พบว่าการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้จากการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลองไม่ได้ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและประชากรของจุลินทรีย์อย่างแบคทีเรียและโปรโตซัวในกระเพาะหมัก

ค่าเฉลี่ยจากทุกกลุ่มของโคเนื้อที่ได้รับอาหารชั้นทั้ง 4 สูตรทดลอง หลังการให้อาหารชั่วโมงที่ 4 ของความเข้มข้นของกรดอะซิติก (acetic acid, C<sub>2</sub>) เท่ากับ 67.6, 65.2, 66.1 และ 66.4 mol/100 mol ตามลำดับ ความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิก (propionic acid, C<sub>3</sub>) ค่าเฉลี่ยจากทุกกลุ่ม เท่ากับ 20.0, 22.3, 22.9 และ 22.0 mol/100 mol ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของกรดบิวทีริก (butyric acid, C<sub>4</sub>) เท่ากับ 11.5, 12.5, 11.0 และ 11.7 mol/100 mol ตามลำดับ และสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิก เท่ากับ 3.2, 2.9, 2.9 และ 3.0 mol/100 mol ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3.10) เมื่อพิจารณาถึงกรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทีริก และสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ทุกกลุ่มการทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาของจักรกริช (2555) รายงานว่า การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารชั้นทั้งระดับที่ 0.8 และ 1.6 กิโลกรัม ต่อตัวต่อวัน ไม่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ หลังการให้อาหารที่ชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 สอดคล้องกับรายงานของ Thompson et al. (1972) พบว่าการใช้ starea ยูเรีย และกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีนในโคเนื้อเพศผู้ตอน มีค่าการสังเคราะห์ VFAs และอัตราการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม Bunting et al. (1989) พบว่า ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ที่เพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 3-4 หลังจากการให้อาหารโปรตีนสูงสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง เพราะมีผลผลิตสุดท้ายที่ได้ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักมากขึ้น โดยปริมาณของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และสัดส่วนของกรดอะซิเตตต่อโพรพิโอนิกยังสามารถที่จะบ่งบอกถึงการเกิดโรค rumen acidosis ได้ การผลิตสัดส่วนของกรดอะซิเตตต่อโพรพิโอนิกต่ำกว่า 2.2:1 จะส่งผลทำให้โคเกิดโรคได้ (Hutjens, 1996) การศึกษาครั้งนี้ ไม่พบว่าการผลิตสัดส่วนของกรดอะซิเตตต่อโพรพิโอนิกของโคมีการตอบสนองต่ออาหารที่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง ต่ำกว่าอัตราส่วนที่ 2.2:1 โคเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง ผลิตสัดส่วนของกรดอะซิเตตต่อโพรพิโอนิกในอัตราส่วนที่ปกติและไม่มีอาการเกิดโรคดังกล่าวแต่อย่างใด

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การหมักกากมันสำปะหลังสดด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรีย พบว่าในสูตรที่หมักระยะเวลา 5 วัน มีปริมาณโปรตีนหยาบเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 3.40 เปอร์เซ็นต์ (lab scale) และเมื่อพิจารณาปริมาณยูเรียตกค้าง พบว่าในสูตรที่มีการเติมยูเรียที่ระดับ 0.5, 0.75 และ 1.00% ตามลำดับ มีปริมาณยูเรียที่ตกค้างเฉลี่ยสูงที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ สูตรที่หมักในวันที่ 2 และ 3 โดยปริมาณยูเรียที่ตกค้างนั้นสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังสด

จากกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้นทดลอง สามารถเพิ่มโปรตีนได้ ที่ระดับ 4-5 เปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ย ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อการกินได้และผลผลิตของโคเนื้อบราห์มันลูกผสมระดับเลือด 75% ขึ้นไป ที่ได้รับฟางหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบหลัก สามารถนำไปใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 5 วัน ได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารชั้น โดยไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะผลิต

## 6. ผลผลิต

### การนำเสนอผลงานและผลงานตีพิมพ์

ผลงานวิจัยที่เกิดจากการดำเนินโครงการวิจัยเรื่อง “การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต” ภายใต้ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐ (เพิ่มเติม) ได้มีการตีพิมพ์และเผยแพร่เพื่อสิ้นสุดการดำเนินโครงการวิจัยเรื่อง “การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต” เรียบร้อยแล้วในวารสารวิชาการและการประชุมวิชาการระดับนานาชาติที่มีผู้ทรงคุณวุฒิร่วมกลั่นกรอง จำนวนทั้งสิ้น 3 เรื่องดังนี้ 2 บทความวิจัย และ 1 บทความย่อ โดยได้ประกาศกิตติคุณแก่มหาวิทยาลัยไว้แล้ว นางสาวสุปรินา ศรีใสคำ จึงใคร่ขอส่งผลงานวิจัย ดังนี้

1. เรื่อง “Increasing Protein in Fermented Fresh Cassava Pulp using *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae*” วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 35(2) (พิเศษ 2): พฤษภาคม – สิงหาคม 2561. (939-946). มหาวิทยาลัยแม่โจ้. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์แห่งชาติครั้งที่ 7 “The 7<sup>th</sup> National Animal Science Conference of Thailand 2018 (NAScot 2018)”

2. เรื่อง “Effects of Feeding Fermented Fresh Cassava Pulp on Lactoperoxidase Activity and Performance of Holstein Friesian Crossbred Lactating Dairy Cows” ตีพิมพ์ฉบับเต็ม (Full paper ที่มี Peer reviewer) ใน Proceeding PIM 8<sup>th</sup> National and 1<sup>st</sup> International Conference ปี 2018 หน้า 01 - 10 . ISBN (e-book) 9 7 8 - 6 1 6 - 7 8 5 1 - 0 6 - 8 . Available online: <https://conference.pim.ac.th/thai/proceeding/>

3. เรื่อง “Utilizing protein-enriched cassava pulp in beef cattle diet on rumen fermentation and productive performances” 18<sup>th</sup> Asian Australian Animal Production Congress 2018 (AAAP 2018) (Abstract). (272 p.) ณ ประเทศมาเลเซีย ณ เมือง Kuching, Sarawak ประเทศมาเลเซีย ระหว่างวันที่ 1-3 สิงหาคม พ.ศ. 2561

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก) 2560A10802235 สัญญาเลขที่ 4/2560  
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 (เพิ่มเติม) มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารโคเนื้อต่อกระบวนการหมักในรูเมนและสมรรถนะการผลิต (Utilizing protein-enriched cassava pulp in beef cattle diet on rumen fermentation and productive performances)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน อาจารย์ ดร.สุปรินา ศรีไสคำ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2560

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2560)

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) จำนวน 200,000 บาท	เมื่อวันที่ 30 มิถุนายน พ.ศ. 2560
งวดที่ 2 (40%) จำนวน 160,000 บาท	เมื่อวันที่ 18 กันยายน พ.ศ. 2560
งวดที่ 3 (10%) จำนวน 40,000 บาท	เมื่อวันที่- (หลังส่งเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์)
รวม 400,000 บาท (สี่แสนบาทถ้วน)	

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	-	-	-
2. ค่าจ้าง	100,000 บาท	100,000 บาท	
3. ค่าวัสดุ	185,000 บาท	185,000 บาท	-
4. ค่าใช้สอย	75,000 บาท	75,000 บาท	-
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ	40,000 บาท	40,000 บาท	-
รวม	400,000 บาท	400,000 บาท	-



(นางสาวสุปรินา ศรีไสคำ)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

## เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2559. สรุปข้อมูลและสถิติจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ ปี 2560. แหล่งที่มา: <http://www.oic.go.th/fileweb/cabinfocenter28/drawer090/general/data0000/00000061.pdf>, วันที่สืบค้นข้อมูล: 27 ธันวาคม 2560.
- กรมปศุสัตว์. 2560. สรุปข้อมูลสถิติเกษตรกรและโคเนื้อ. แหล่งที่มา: <http://www.oic.go.th/file/cabinfocenter28/drawer090/general/data0000/00000061.pdf>, วันที่สืบค้นข้อมูล: 29 ธันวาคม 2560.
- กาญจนา บันสิทธิ์ อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ ธีระพล บันสิทธิ์ นิภาพรณ สิงห์ทองลา และวิชาญ แก้วเลื่อน. 2556. ผลของระยะเวลาการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* ต่อไฟเตทในกากงาดำสกัดเย็น, แก่นเกษตรกร 41 ฉบับพิเศษ 1. 363-368 หน้า.
- กำไล เลหาพัฒนาเลิศ กฤติธิ์ แจ่มจำรูญ และลักขณา โกบบุเลา. 2559. การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรดและต่างเจือจางในกระบวนการปรับสภาพ และกระบวนการหมักแบบรวมการย่อยในขั้นตอนเดียว, คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต. 281-290 หน้า.
- จารุวัลย์ แสนปิง. 2550. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังและไขมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 1-114 หน้า
- จักรกริช หอมขาว. 2555. การเพิ่มโปรตีนในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโดยใช้จุลินทรีย์และผลการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารชั้นในโคเจาะกระเพาะต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 103 น.
- โชคชัย ตรีวิโรจน์. 2536. ภาวะยูเรียในเลือดของโคนมที่อยู่ระหว่างการให้นม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 84 น.
- ชุตินุช สุจริต อุไรวรรณ วัฒนกุล วัฒนา วัฒนกุล สมรักษ์ รอดเจริญ. 2557. การลดปริมาณสารอินทรีย์โดยใช้ตัวกระทำทางชีวภาพในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
- ฉัตรชัย สังข์ผุด. 2548. สภาพที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำตาลจากด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 เพื่อผลิตสุราขาว วารสารฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการว่าด้วยเศรษฐกิจชุมชนแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 ยุทธศาสตร์การพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนบนรากฐานความรู้ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 234-242 หน้า
- ฐิติมา นรโภค ธนิตพันธ์ พงษ์จงมิตร อนุสรณ์ เขิตทอง และนพรัตน์ ผกาเชิด. 2561. การใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยสารเสริมต่อปริมาณการกินได้และความสามารถในการย่อยได้ของโคเนื้อ, แก่นเกษตรกร 46 ฉบับพิเศษ 1. 590-596 หน้า
- ณัฐพงษ์ หม้อทอง และถวิล เคนวงศ์. 2560. ผลของการใช้กากมันหมักยีสต์ทดแทนอาหารชั้นเพื่อขุนโคพื้นเมืองอีสาน, ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์อุดรธานี. 1-4 หน้า.
- ธัญหทัย สุขสมพืช มณฑิชา พุทชาคำ และวรินทร์ มณีรัตน์. 2560. ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไทยละโว้ (การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55) มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช



- นฤมล สมคณา จรัส สว่างทัฬห จิตรประภา รอดจากเชื้อ และสุรศักดิ์ อุตริวิเชียร. 2557. การศึกษาการเพิ่มระดับโปรตีนของกากมะพร้าวสดและแห้งโดยกระบวนการหมักยีสต์และยูเรีย, แก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1. 290-294 หน้า.
- ประพัฒน์ ตั้งภูมิมะพิงค์. 2558. การเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารสัตว์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 1-115 หน้า.
- ประภาส โฉลกพันธ์รัตน์. 2553. การเพาะเลี้ยงยีสต์. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 1 หน้า.
- ปิ่น จันจุฬา และเมธา วรรณพัฒน์. 2546. บทบาทของอาหารเยื่อใยต่อกระบวนการหมักในรูเมน ปริมาณการกินได้ผลผลิตและองค์ประกอบมูลในโครีดนม. วารสารโคนม. 20(1) :8-22.
- ปิตุนาถ หนูเสน. 2547. การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในอาหารชั้นต่อทำให้ผลผลิตของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 183 น.
- ปราโมทย์ พวงคำ, จีแลน, เอ แซด, เหลียง, เจ บี และบาร์ชีรี, เอ็ม. 2543. ความสามารถในการย่อยได้ในลำไส้เล็กของใบกระถินและใบปอโดยใช้เทคนิค nylon bag และ mobile bag. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี: 8(2). 29-35
- พิพัฒน์ เหลืองลาวัลย์. 2560. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา 303312 Ruminant nutrition. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา. 10 น.
- พีรพจน์ นิตพิจน์ และกฤตพล สมมาตย์. 2546. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องของกากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลังโดยวิธี *In vitro* gas production technique. การสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2546. 27-28 มกราคม 2546 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- พัชรจรรยาวรรณ สุขเทียบ, สุณิรัตน์ เอี่ยมละมัย, ฉลอง วชิราภากร. 2556. ผลของโปรตีนหยาบในอาหารและยูเรียไนโตรเจนในซีรัมต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ และผลผลิตน้ำนมของโคนมในฟาร์มโคนมขนาดเล็ก. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. ปี ที่ 23 ฉบับที่ 1 พฤษภาคม 2556. 87-97 น.
- เมธา วรรณพัฒน์. 2533. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิง : 69-449.
- มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี พรพรรณ แสนภูมิ วรางคณา กิจพิพิช และกฤติยา เลิศชุมทะเกียรติ. 2556. การศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเปลือกสับประรดโดยใช้ยีสต์และบาซิลัสซับติลิสเพื่อพัฒนาเป็นอาหารสัตว์, แก่นเกษตร 41 ฉบับพิเศษ 1
- วาสนา ศิริแสน. 2560. กลยุทธ์การลดสภาวะกรดในกระเพาะรูเมนด้วยจุลินทรีย์, เชียงใหม่สัตวแพทยศาสตร์. 15(2): 51-62.
- วิศิษฐพร สุขสมบัติ. 2541. การประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยวิธีการใช้ถุงในลำอ่อน. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี : 5(1). 38-48.
- วิศิษฐพร สุขสมบัติ. 2542. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 111 หน้า.

- ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส เพลงพิณ เพ็ชรภูมิพงศ์ และกฤษฏีกา เวชกลาง. 2558. การผลิตเอนไซม์จากกากมันสำปะหลังและซังข้าวโพด เพื่อการผลิตอาหารสัตว์, สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน. 1 หน้า.
- ศุภชัย อุดชาชน วรธนา อ่างทอง พิสัย วงศ์พาณิชย์ และอุดม ชัยนนท์. 2558. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ทดแทนอาหารชั้นในสูตรอาหาร, แกนเกษตร 43 ฉบับพิเศษ 1. 44-49 หน้า.
- สมิต ยิ้มมงคล และสุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2550. การใช้กากมันสำปะหลังแห้งเป็นอาหารสัตว์: การใช้ประโยชน์ครบวงจรกับมันสำปะหลัง, ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์สถาบันสุวรรณจากกสิศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 1 หน้า.
- สิทธิศักดิ์ คำผา สมมาศ อิฐรัตน์ และอุทัย โคตรดก. 2555. การศึกษาการเพิ่มคุณค่ากากมันสำปะหลังหมักยีสต์-มาเลทและไขมันสำปะหลังเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารชั้นที่มีมันเส้นเป็นองค์ประกอบระดับสูงต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในโคเนื้อ, คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม. 1-124 หน้า.
- สินีนานู พลโยราช และเมธา วรณพัฒน์. 2558. ศักยภาพในการใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรไบโอติกส์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง, แกนเกษตร 43 (1): 191-206
- สุภัตรา โอกระโทก. 2556. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 1-93 หน้า.
- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Vol.1, 15<sup>th</sup> ed., Washington D.C. 771 p.
- Allen, S. and E.L. Miller, 1976. British Journal of Nutrition. 36: 353-368.
- Aiumlamai S. 2010. Cattle production and the importance of reproductive efficiency. In: Reproduction in cattle. Khon Kaen: Khon Kaen Print; 2010. p.395-451.
- Antai, S.P. and P.M. Mbongo. 1994. Utilization of cassava peel as substrate for crude protein formation. Plant Foods for Human Nutrition 46(4): 345-351.
- Aro, S.O., V.A. Aletor, O.O. Tewe, A.N. Fajemisin, B. Usifo and J.A. Adesida. 2008. Studies on the nutritional potentials of cassava tuber wastes (CTW) collected from a factory. Federal University of Technology, Akure, Nigeria. (2008, May): 86-92.
- Balagopalan. C., Padmaja, G., and M. George. 2002. Improving the nutritional value of cassava products using microbial techniques. FAO-Corporate Document Repository. Anim. Prod. Health. 95 p.
- Boniface, A. M., R. M. Murray and J. P. Hogan. 1986. Proceedings of the Australian Society of Animal Production. 16:151-154.
- Charoensiri, K., De-eknmkul, C., Assavaning, A., Varavinit, S. and A. Bhumiratana. 1990. Biomass protein produce from cassava using *Cephalosporium eichhorniae* 152 grown in an air-lift fermentor. Microbial. Utiliz. Ren. Res. 7: 330-335.

- Chauynarong, N., P.A. Iji. and U. Kanto. 2010. Optimum of cassava pulp in diets for layers. *In* Australian Poultry Science Symposium, 1 February 2010.
- Claypool, D.W., M.C. Pangborn and H.P. Adams. 1980. Effect dietary of protein on high producing dairy cows in early lactation. *Journal of dairy science*. 63:833.
- Czerkawski, J. W. 1986. *An Introduction to rumen studies*. New York: Pergamon Press.
- Daubresse, P., Ntibashirwa, S., Gheysen, A. and J.A. Meyer. 1986. A process for protein enrichment of cassava by solid substrate fermentation in rural conditions. *Biotechnol. Bioeng.* XXIX: 962-968.
- Egan, A.R. and R.J. Moir. 1965. Nutritional status and intake regulation in sheep. I. Effects of duodenally infused single dose of casein, urea and propionate upon voluntary intake of low protein roughage by sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 16:437-449.
- Essers, A. J. 1994. Making safe flour from bitter cassava by indigenous solid substrate fermentation. *Acta Horticultural*. 375(1): 217-224.
- Forbes, J.M. 1986. *The Voluntary Food Intake of Farm Animal*. Butterworths. London.
- Ferguson, J.D., D.T. Galligan, T. Blanchard and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76:3742-3746.
- Frydrych, Z., Heger, J., and P. Fronck. 1983. Evaluation of optimum lysine and threonine supplements to a wheat and barley-based diet in rats. *Animal Feed Science and Technology*. 8(3), 163-176.
- Garrett, E.F., M.N. Pereira, K.V. Nordlund, L.E. Armentano, W.J. Goodger and G.R. Oetzel. 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 82 :1170-1178.
- Hume, I.D. 1974. *Australian Journal of Agricultural Research*. 25: 155-165.
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and Its Microbs*. USA. Academic Press, New York. U. S. A. 533 p.
- Hurley, W. L. 1998. Nutritional Factors affecting milk yield and composition. URL. [Http://www.classes.aces.uiuc.edu](http://www.classes.aces.uiuc.edu)
- Krebs, G. and R.A. Leng. 1984. *Proceeding of the Australian Society of Animal Production*. 15: 704 (Abstract).
- Iyayi, E.A. and D.M. Losel. 2001. Changes in carbohydrate fractions of cassava peel following fungal solid state fermentation. *African Journal of Food Science and Technology* 6(3): 101-103.
- Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and M. Wanapat. 2009a. Supplementation of Malate and Yeast in Concentrate Containing High Cassava Chip on Rumen Ecology in Dairy Steers. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (5): 592-596.

- Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and M. Wanapat. 2009b. Supplementation of Yeast Fermented Cassava Chip (YFCC) as a Replacement Concentrate and Ruzi Grass on Rumen Ecology in Native Cattle. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (5): 597-600.
- Knorst, M.T., R. Neubert. and W. Wohlrab. 1997. Analytical methods for measuring urea in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 15(11): 1627-1632.
- Khempaka, S., W. Molee. and M. Guillaume. 2009. Dried cassava pulp as an alternative feedstuff for broilers: effect on growth performance, carcass traits, digestive organs, and nutrient. *The Journal of Poultry Science* 18(3): 487-493.
- Martin, O., S. M. Balcells, J. Vicente and F. Castrillo. 2000. Influence of dietary rumen degradable protein supply on rumen characteristic and carbohydrate fermentation in beff cattle offered high-grain diets. *Animal Feed Science and Technology*. 88 : 59-77.
- Mehrez, A.Z, E.R. Orskov and I. McDonald. 1977. *British Journal of Nutrition*. 38: 437-443.
- Merten, D. R. and J. R. Loften. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 63 : 1437 – 1445.
- Mikami, Y., Gregory, K. F., Levadoux, W. L., Balagopalan, C., and S.T. Whitwell. 1982. Factors affecting yield and protein production by *Cephalosporium eichhorniae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 403-411.
- Moat, A. G., and J.W. Foster. 1995. *Microbial Physiology*. Wiley-Liss Publisher. New York. USA. 580 p.
- Nitipot, P., Sommart, K., Kongminila, D., Pattarajinda, V. and Vongpralup, T. 2004. Effects of replaced cassava chip by cassava pulp on eating behavior, ruminal fermentation and growth in heifer ration. In *Proceedings of the Agricultural Seminar. Animal Science/Animal Husbandry*. Sofitel Raja Orchid Hotel. Khon Kaen, Thailand. 156 p.
- Nhi, D. L., M. V. Sanh and L. V. Ly. 2001. Supplement cassava root meal and cassava processed leaves to diet based on natural grasses, maize stover and rice straw for fattening young swamp buffaloes. Paper presented at National workshop on swamp buffalo development. National Institute of Animal Husbandry, Hanoi.
- Oboh, G. and A.A. Akindahunsi. 2003. Chemical changes in cassava peels fermented with mixed culture of *Aspergillus niger* and two species of *Lactobacillus* integrated bio-system. *Applied tropical agriculture* 8(3): 63-68.
- Oboh, G. and C.A. Elusiyan. 2007. Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungifermented cassava flour produced from low- and medium-cyanide variety of cassava tubers. *African Journal of Biotechnology* 6(18): 2150-2157.
- O'Brien, G.M., Taylor, A.J. and Poulter, W.H. 1991. Improved enzymatic assay for cyanogens in fresh and processed cassava. *J. Sci. Food. Agric.* 56(3): 277-296.

- Orpin, C.G. and K.N. Joblin. 1998. The rumen anaerobic fungi. The rumen microbial ecosystem. Marcel Dekker, Inc : 129.
- Ørskov, E. R., F. N. Deb Hovell. and F. Mould. 1980. The use nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5 : 195-213.
- Perdok, H.B., R.A. Leng, S.H. Bird, G. Habib and M. Van houtert. 1988. pp.81-91. In: *Increasing Small Ruminant Productivity in Semi-arid Areas*. Edited by E.F. Thomson and F.S. Thomson. ICARDA, Syria.
- Pond, W. G. and J.H. Maner. 1984. Prenatal development. In: *Swine Production and Nutrition*, Publishing Company, Westport pp. 81–155.
- Promkot et al., 2013 C. Promkot, M. Wanapat, J. Mansathit 2013. Effects of yeast fermented-cassava chip protein (YEFECAP) on dietary intake and milk production of Holstein crossbred heifers and cows during pre- and post-partum period *Livest Sci*, 154 (2013), pp. 112-116
- Puchala, R., Min, B. R., Goetsch, A. L., and Sahlu, T. (2005). The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.* 83: 182-186.
- Reade, A.E. and K.F. Gregory. 1975. High temperature production of protein. Enriched feed from cassava by fungi. *Journal of Applied Microbiology* 30 (6): 897-904.
- Robinson, T. 1980). *Flavonoids and Related Compounds; The Organic Constituents of Higher Plants*, 3rd Edn. USA: Cordus Press.
- Satter, L.D. and L.L. Slyter. 1974. *British Journal of Nutrition*. 32:199-208.  
<http://coursewares.mju.ac.th/DP320/pdf/Lesson10.pdf>
- Raimbault M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Elect. J. Biotechnol.* Vol. 1 Num. 3.
- Seal, C. J. and D. S. Parker. 1994. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric - and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet: i. Volatile fatty acids, glucose, and lactate. *Journal of Animal Science*. 72 :1325 - 1334.
- Soccol, C. R., Marin, B., Raimbault, M. and J.M. Lebeault. 1994. Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41: 330-336.
- Song, M.K., and Kenelly, J.J. 1990. Ruminant fermentation pattern, bacterial population and ruminant degradation of feed ingredients as influenced by ruminant concentration. *J. Anim. Sci.* 68: 1110-1120
- Srisaikhom S., Isobe, N. and W. Suksombat. 2018a. Effects of dietary levels of fresh cassava pulp in dairy cattle diet on productive performance and keeping quality of raw milk. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 40 (2), (278-289).
- Srisaikhom S., Jaijapo, W., Lounglawan, P. and W. Suksombat. 2018b. Effect of feeding fermented fresh cassava pulp on lactoperoxidase activity and performance of holstein

- friesian crossbred lactating dairy cows. The 8<sup>th</sup> PIM National and The 1st International Conference 2018. Challenge and Opportunity of ASEAN: Innovation, Integrative and Inclusion Development. Auditorium, Floor 16th CP ALL Academy Building, Panyapiwat Institute of Management. 21th June 2018. (O1-O10)
- Suksombat, W., Lounglawan, P. and Noosen, P. 2006. Energy and protein evaluation of five feedstuffs used in diet in which cassava pulp as main energy source for lactating dairy cows. *Suranaree Journal of Science and Technology*. 14(1), 99-107.
- Suranindyah, Y., and Astuti, A. 2012. The effects of feeding dried fermented cassava peel on milk production and composition of Etawah crossedbred goat. *Int. J.* 6(10): 902-905.
- Tamminga, S. 1979. Protein degradation in the forestomach of ruminants. *Journal of Animal Science*. 74:2696.
- Tedeschi, L. D., D.G. Fox and J.B. Russell. 2000. Accounting for the effect of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the cornell net carbohydrate and protein system. *Journal of Animal Science*. 78: 1648-1658.
- Thanh, L.P. and Suksombat, W. 2015. Milk production and income over feed costs in dairy cows Statistical Analysis System (SAS). 2004. SAS software User's Guide. Release 9.0. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: a biometric approach. (2<sup>nd</sup> ed.). New York: McGraw-hill. 633 p.
- Tani, Y., V. Vongsuvanleri and J. Kumnuanta. 1986. Raw cassava starch-digestive Glucoamylase of *Aspergillus sp.* N-2 isolated from cassava chips. *Journal of Fermentation Technology* 64(5): 405-410.
- Ukanwoko, A.I., and Ibeawuchi, J.A. 2014. Evaluation of cassava peel-cassava leaf meal based diets for milk production by the West African Dwarf goats in South Eastern Nigeria. *IOSR, Journal of Veterinary Science*. 7(5): 27-30.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implication in dairy cattle: methods for dietary fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal. *Journal of Dairy Science* 74: 3585-3597.
- Wainright, M. 1992. An Introduction to Fungal Biotechnology. Wiley Biotechnology Series. Wiley. UK. 241 p.
- Wanapat, M. 1999. Feeding of ruminants in the tropics based on local feed resources. Khon Kaen, Thailand: Khon Kaen Publ. Comp. Ltd. 2000. Rumen manipulation to increase the efficiency use of local feed resources and productivity of ruminants in topics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 13(Suppl.): 59-67.
- Wanapat, M., S. Polyorach, V. Chanthakhoun and N. Sornsongnern. 2011. Yeast-fermented cassava chip protein (YEFECAP) concentrate for lactating dairy cows fed on urea-lime treated rice straw. *Livestock Science* 139 (3): 258-263.

- Williams, A.G. and G.S. Coleman. 1998. The rumen protozoa. The rumen microbial ecosystem. Elsevier science publishers Ltd: 90.
- Yuthavong, Y. and G.C. Gibbons. 1994. Biotechnology for Development: Principles and practice Relevant to Developing Countries. Thailand: National science and technology development agency, ASEAN-Australian Biotechnology Project, Bangkok. 185 p.

ภาคผนวก



## 1. การศึกษาถึงการย่อยได้ของไบโอฟิล์มโปรตีนในกระเพาะหมัก

เทคนิค *in sacco* ที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ใช้เทคนิค nylon bag สำหรับศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะหมัก ดังรายละเอียดต่อไปนี้

### เทคนิค nylon bag

ถุงที่ใช้ในการทดลองทำจาก polyester cloth โดยมีรูขนาด 45  $\mu$  และมีขนาด 6  $\mu$  ความยาว 12 เซนติเมตร ซึ่งน้ำหนักอาหารตัวอย่างใส่ถุงๆ ละประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง ช่วงเวลาละ 2 ชั่วโมงต่อสัตว์ 1 ตัว มัดปากถุงให้แน่น และผูกถุงใส่เชือกนำลงไปบ่มในกระเพาะรูเมนพร้อมๆ กัน และทำการเก็บออก หลังการบ่มที่เวลา 2, 4, 8, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหรือเวลาที่ 72 ชั่วโมงในกรณีใช้อาหารหยาบ ยกเว้นถุงเวลาที่ 0 ไม่ต้องบ่มในรูเมน แต่ให้ทำการล้างเหมือนกับถุงในล่อนกลุ่มอื่น ถุงที่นำออกจากกระเพาะรูเมนทำการล้างด้วยน้ำที่ไหลจากก๊อกอย่างช้าๆ จนสังเกตเห็นสีใสๆ ต่อจากนั้นอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

### การเตรียมตัวอย่างอาหารใส่ถุง

ทำการบดตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงแล้วให้ได้มาตรฐาน โดยผ่านตะแกรงบดขนาด 2 mm ซึ่งตัวอย่างอาหาร 5 กรัมใส่ถุง

### การล้างและการอบถุง

หลังจากที่นำถุงออกจากกระเพาะรูเมนของโคนมแล้วให้นำไปล้างน้ำจากก๊อกน้ำหรือน้ำไหลจากสายยางเบาๆ โดยค่อยๆ ล้างเอาเศษอาหารจากรูเมนที่ติดมากับถุงออกให้หมด ค่อยๆ บีบล้างถุงให้สะอาดโดยสังเกตจากการล้างจนกระทั่งน้ำใส ปกติการล้างถุงแต่ละถุงประมาณ 3 – 4 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 2 – 3 นาที หลังจากค่อยๆ บีบน้ำออกจากถุงจนหมดแล้ว ให้นำถุงไปอบในตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 60 – 70 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นตัดเชือกที่มัดปากถุงออกแล้วนำถุงไปชั่งน้ำหนัก

## 2. การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก ขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย formaldehyde 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ (total direct count) ได้แก่ แบคทีเรีย และโปรโตซัว โดยใช้ Haemocytometer ทำการนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่าสำหรับแบคทีเรีย และ 100 เท่าสำหรับโปรโตซัว หรือศึกษาเกี่ยวกับ Microscopic direct count (Galylean, 1989) ซึ่งได้แก่ total bacteria count และ protozoa count

### สารเคมี

Normal Saline (0.85 เปอร์เซ็นต์ w/v)

Formaline (10 เปอร์เซ็นต์ v/v)

น้ำกลั่น

### อุปกรณ์

Haemocytometer ขนาด กว้าง 1 มิลลิเมตร (มม.) ยาว 1 มม. และ ลึก 0.1 มม.

pH meter

ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด

สไลด์ พร้อม clover grass

Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร

กระดาษทิชชู

หลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร

ปิเปต

กล้องจุลทรรศน์ (Model Olympus BX50)

#### **วิธีการเตรียมสารละลาย:**

2.1. การเตรียม Formaline 10 เปอร์เซ็นต์ ใน normal saline (fixing solution)

เตรียม normal saline ให้มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์(w/v)

เตรียม Formaline ให้มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) โดยใช้ normal saline (0.85 เปอร์เซ็นต์)

เป็นตัวทำละลาย เช่น ถ้าต้องการเตรียม Fixing solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จะใช้ Normal saline 90 มิลลิลิตร และ Formaline 10 มิลลิลิตร

#### **การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา**

1) ทำการสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักในช่วงเวลาต่างๆ โดยสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักมาประมาณ 1 มิลลิลิตร และเติมด้วยฟอร์มาลีน 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ทันที หลังจากนั้นก็เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิห้อง เพื่อรอกการนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ต่อไป

2) นำตัวอย่างที่ได้มาตรวจนับจำนวนของแบคทีเรียและโปรโตซัว ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

#### **แบคทีเรีย (bacteria count)**

- ทำการเจือจาง (dilute) ความเข้มข้นของตัวอย่างอีกครั้ง จากเดิม 10 เท่า เป็น 100 เท่า โดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (autoclave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) 9 มิลลิลิตร

- ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากหลอด หยดลงบน Haemocytometer แล้วทำการนับ โดยนับจำนวน 20 ช่องเล็ก ใช้กำลังขยาย 400 เท่า ในแนวทแยงมุม โดยนับจำนวน 2 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรแบคทีเรีย โดยใช้สูตร  $Y = X \times F \times D$

Y = จำนวนประชากรแบคทีเรีย

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor มีค่าเท่ากับ  $4 \times 10^6$

#### **โปรโตซัว (protozoa count)**

- ทำการนับจากการเก็บตัวอย่างได้เลย โดยไม่ต้องมาทำการเจือจางอีก โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า โดยนับทั้งหมด 400 ช่องเล็ก (1 ช่องใหญ่) และทำการนับ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการคำนวณประชากรโปรโตซัว โดยใช้สูตร  $Y = X \times F \times D$

Y = จำนวนประชากรโปรโตซัว

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor มีค่าเท่ากับ  $1 \times 10^4$

### **3. การวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN)**

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสัตว์ทดลองตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ใส่ในหลอดเก็บเลือดชนิดมีฝาจุก เก็บไว้ในความเย็นก่อนนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง เพื่อไปวัดหาค่าปริมาณของไนโตรเจนในกระแสเลือด ตามวิธีการของ Mackay and Mackay (1972)

**สารเคมี**

Normal Saline (0.85 เปอร์เซ็นต์ w/v)

Formaline (10 เปอร์เซ็นต์ v/v)

น้ำกลั่น

**อุปกรณ์**

ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างเลือด (พร้อมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Heparin)) ขนาด 5 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด พร้อม Syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร

ถังน้ำแข็ง

Steam bath

Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร - 100 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น (Wash bottle)

หลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร - 10 มิลลิลิตร

ปิเปต

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge machine)

เครื่อง Spectrophotometer

เครื่อง Vortex

**วิธีการเตรียมสารละลาย:**

1. กรดซัลฟูริก 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรเจือจางกรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) เข้มข้นประมาณ 97 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7.5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จนได้สารละลาย ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

2. Stock solution Thiosemicarbazide ละลาย 5.0 กรัม Thiosemicarbazide ในน้ำ แล้วปรับปริมาตร 1 ลิตร ก่อน

3. Stock solution Diacetyl monoxime ละลาย 2.5 กรัม Diacetyl monoxime ในน้ำ แล้วปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. Stock solution Ferric chlorides phosphoric acid ละลาย 15 กรัม  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  ในกรด  $H_3PO_4$  (85 เปอร์เซ็นต์) 300 มิลลิลิตร แล้วเจือจางให้เป็น 450 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ

5. Stock solution Urea-Nitrogen Standard (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ชั่ง 21.433 กรัม ยูเรียใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมน้ำเจือจางมาตรฐาน (Standard diluents) จนละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วย Standard diluents

6. Working acid  $FeCl_3$  เจือจาง 1 มิลลิลิตร ของ Stock Solution Ferric chlorides ให้เป็น 1 ลิตร ด้วยสารละลาย 7.5 เปอร์เซ็นต์  $H_2SO_4$

7. Working diacetyl monoxime ผสม 67 มิลลิลิตร Stock diacetyl monoxime กับ 67 มิลลิลิตร Stock thiosemicarbazide แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำ

8. Working Urea-Nitrogen Standard เจือจาง Stock standard เป็น 1:10 เท่า แล้วเตรียมชุดสารละลายให้มีความเข้มข้นมาตรฐาน ดังนี้: 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม Urea-Nitrogen/ 10 มิลลิลิตรโดยการเจือจางสารละลายมาตรฐานที่เจือจางแล้ว (1:10) จำนวน 1, 2, 3, 5, 7 และ 10 ให้เป็น 200 มิลลิลิตร ด้วย standard diluents

9. Standard diluents ประกอบด้วย 0.01 N ของ  $H_2SO_4$  ซึ่งมี 40 มิลลิกรัม/liter phenyl mercuric acetate โดยการชั่ง 0.2 กรัม phenyl mercuric acetate ลงใน ปีกเกอร์ เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร อุณหภูมิห้อง

บนอ่าง น้ำร้อน (Steam bath) จนกระทั่งละลายหมด ปล่อยให้เย็นลงแล้วถ่ายลงในพลาสติกขนาด 5 ลิตร และเติม 1.4 มิลลิลิตร  $H_2SO_4$  เข้มข้น 97 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 ลิตร ด้วยน้ำ

#### วิธีการวิเคราะห์

- ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่น 0.75 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่แห้งและสะอาด จากนั้นเติมสารตัวอย่าง (ซีรัม หรือพลาสมา) ที่เตรียมไว้แล้ว ควรจะมีลักษณะใสไม่มีสีและไม่มีตะกอนจำนวน 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและเติมสารละลายโรโอเซมิคาร์บาไซด์ ไดอะอะซีทิล โมโนซิม (Thiosemicarbazide diacetyl monoxime) 0.4 มิลลิลิตร

- เติมสารละลายกรดของเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride) 4.0 มิลลิลิตร ลงในส่วนผสมดังกล่าว แล้วปั่นหลอดทดลองนี้ให้มีส่วนผสมเข้าดีโดยใช้เครื่องเขย่า (mixer) โดยเตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร รวมกับ สารละลายในข้อ 1 และ 2 อย่างละ 4.0 มิลลิลิตร

- เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานยูเรียไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 และ 5.0 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร แทนสารตัวอย่างทำเหมือนข้อ 5 และนำหลอดทดลองลงแช่ในอ่างน้ำเดือด (boiling bath) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นสักครู่ 2-3 นาที ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำ จากนั้นวัดค่า BUN ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 550 nm