ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

EFFECTS OF MICROBIAL FERMENTED LIQUID SUPPLEMENTATION ON DIGESTIBILITY AND MILK PRODUCTION EFFICIENCY IN EARLY LACTATING DAIRY COWS

รัศมี นามภักดี

RUTSAMEE NAMPUKDEE

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-031-331

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECTS OF MICROBIAL FERMENTED LIQUID SUPPLEMENTATION ON DIGESTIBILITY AND MILK PRODUCTION EFFICIENCY IN EARLY LACTATING DAIRY COWS

RUTSAMEE NAMPUKDEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL-2020-AG-M-031-331

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม
นักศึกษา	นางสาว รัศมี นามภักดี
รหัสประจำตัว	59604061
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. สินีนาฏ พลโยราช

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม โดยมีการแบ่งงานทดลองออกเป็น 2 งานทดลอง ดังนี้

งานทดลองที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL) ต่อกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมโดยใช้ *In vitro* gas production technique ใช้โคนมเจาะกระเพาะ พันธุ์โฮล์สไตน์ฟรีเซี่ยนเพศผู้ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 450±30 กิโลกรัม จำนวน 2 ตัว งานทดลองครั้งนี้ใช้การจัดกลุ่มการทดลองแบบ 2×4 แฟคตอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย ปัจจัยแรก คือชนิดของจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) และจุลินทรีย์รวม (MFL) [Effective microorganisms; EM] ปัจจัยที่สอง คือระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของอาหารข้น โคทดลองได้รับอาหารทดลองที่มีระดับโปรตีนหยาบ 18 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานการย่อยได้ทั้งหมด 80 เปอร์เซ็นต์ (Total digestible nutrients; TDN) ร่วมกับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ จากผลการทดลองพบว่าการผลิตแก๊สจากส่วนที่ละลายได้ง่าย (a) ในกลุ่มที่ทำการเสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$) เมื่อพิจารณาอิทธิพลชนิดของจุลินทรีย์พบว่า ปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (b) ศักยภาพการย่อยสลายได้ (a+b) และการผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (*In vitro* dry matter degradability; IVDMD) และการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (*In vitro* organic matter degradability; IVOMD) ในกลุ่มที่เสริมด้วย MFL มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมยีสต์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) อย่างไรก็ตามอิทธิพลของระดับการเสริมมีผลต่อค่า b, a+b, การผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง IVDMD และ IVOMD เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสาม (cubicly) ($P<0.01$) เมื่อเพิ่มระดับของการเสริมโดยมีค่าสูงที่สุดที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารข้น ในขณะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าอัตราการเกิดแก๊ส (c) ไม่มีแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในส่วนกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด (total volatile fatty acids; TVFAs) และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างปัจจัยของแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมโดยกลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด (P<0.05) เมื่อพิจารณาอิทธิพลของชนิดจุลินทรีย์พบว่าไม่ส่งผลต่อความแตกต่าง (P>0.05) ของกรดอะซิติก (acetic acid; C_2) กรดโพรพิออนิก (propionic acid; C_3) กรดบิวทิริก (butyric acid; C_4) สัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก (C_2:C_3) และผลผลิตแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) อย่างไรก็ตามปัจจัยของระดับการเสริมส่งผลต่อการลดลงแบบเป็นโค้งกำลังสอง (quadraticly) (P<0.05) ของ C_2 สัดส่วน C_2:C_3 และ CH_4 ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ส่งผลต่อ C_3 ที่เพิ่มสูงขึ้นตามระดับของการเสริม (P<0.01) ในขณะที่ไม่มีผลต่อความแตกต่างของ C_4 (P>0.05) นอกจากนี้ประชากรแบคทีเรีย (bacteria) และเชื้อรา (fungi) กลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด (P<0.01) ในขณะที่ประชากรโปรโตซัว (protozoa) มีสัดส่วนลดต่ำลง (P<0.05)

การทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม ในการศึกษาครั้งนี้ใช้โคนมพันธุ์ลูกผสมโฮล์สไตน์ฟรีเชี่ยน (75 เปอร์เซ็นต์) จำนวน 12 ตัว อยู่ในระยะต้นของการให้นมและมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 500±30 กิโลกรัม โดยสุ่มตัวอย่างโคทดลองเข้าสู่แผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (completely randomized design; CRD) เพื่อศึกษาระดับการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL) 4 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200 และ 300 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน และมีการปรับสภาพสัตว์เป็นระยะเวลา 14 วัน โคทดลองทุกตัวได้รับอาหารผสมครบส่วนในอัตราส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น คือ 40:60 โดยมีโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์ และมีพลังงาน 70 เปอร์เซ็นต์ TDN จากผลการทดลองพบว่าระดับการเสริม MFL ไม่ส่งผลต่อความแตกต่าง (P>0.05) ของปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง (dry matter intake, DMI) เมื่อคิดเป็นหน่วยกิโลกรัมต่อวัน เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้ของโภชนะ (กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน) ในขณะที่ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมทธาบอลิค (g/kg BW $^{0.75}$) การย่อยได้ของโภชนะโปรตีนหยาบ (crude protein; CP) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.05) และมีค่าสูงที่สุดที่เสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.01) มีค่าสูงที่สุดที่ระดับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน นอกจากนี้การเสริม MFL ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.01) ของปริมาณน้ำนม (milk yield) และ 3.5% FCM และมีค่าสูงที่สุดเมื่อเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน อย่างไรก็ตามระดับการเสริม MFL ไม่ส่งผลต่อความแตกต่าง (P>0.05) ของไขมัน (fat) และแลคโตส (lactose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของแข็งปราศจากไขมัน (solid not fat; SNF) และความถ่วงจำเพาะในน้ำนม ในขณะที่โปรตีน (milk protein) และของแข็งทั้งหมด (total solid; TS) ในน้ำนมมีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.05$) สอดคล้องกับค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea-nitrogen; MUN) ที่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.05$) ตามระดับการเสริม MFL มีค่าสูงที่สุดเมื่อเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มผลตอบแทนทางด้านเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเสริม MFL ส่งผลให้ประสิทธิภาพกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมนเพิ่มสูงขึ้นและสามารถปรับปรุงปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง การย่อยได้ของโภชนะโปรตีน NDF และ ADF นอกจากนี้เพิ่มผลผลิตน้ำนม 3.5% FCM องค์ประกอบของน้ำนม ได้แก่ โปรตีนในน้ำนม ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม รวมทั้งความเข้มข้นของ MUN และผลตอบแทนทางด้านเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสริม MFL ที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ดังนั้นการเสริม MFL ในอาหารเป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลผลิตน้ำนม ลดต้นทุนการผลิตทางด้านอาหาร และเสริมสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาการใช้ MFL ในสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่นๆ เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์ได้อย่างสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Effects of microbial fermented liquid supplementation on digestibility and milk production efficiency in early lactating dairy cows
Student	Mrs. Rutsamee Nampukdee
Student ID.	59604061
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2020
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Sineenart Polyorach

ABSTRACT

The objective of this experiment was to study effects of microbial fermented liquid supplementation digestibility and milk production efficiency in early lactating dairy cows. The study was divided into 2 experiments to conducted as follows;

Experiment I: The aim of this investigation was to determine the effect of microbial fermented liquid (MFL) supplementation on rumen fermentation and digestibility in dairy cows using i*n vitro* gas production technique. The experiment were conducted according to a 2×4 factorial arrangement in a completely randomized design (CRD) to study microbial sources [yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and microbial fermented liquid (MFL) (Effective microorganism; EM)] and supplementation levels in concentrate (0, 10, 20 and 30% in concentrate). Two rumen-fistulated dairy steers with liveweight of 450±30 kg were fed with 18% CP and 80% TDN and used rice straw as a roughage source. The result showed that the intercept value (a) of fed group MFL supplementation at 30% was the highest ($P<0.01$) when compared with other treatments. Moreover, the insoluble fraction (b), potential degradability (a+b), cumulative gas production at 72 h, *In vitro* dry matter degradability (IVDMD) and *In vitro* organic matter (IVOMD) in MFL supplementation group were significantly ($P<0.01$) higher than yeast supplementation group. However, b, a+b, cumulative gas production at 72 h, IVDMD and IVOMD were cubicly increased ($P<0.01$) of when increasing supplement levels and 20% MFL supplementation was the highest while supplement levels did not affect on the gas production rate constant for the insoluble faction (c) ($P>0.05$). Furthermore, there were interaction between microbial sources and supplementation levels by total

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

volatile fatty acids (TVFAs) and ammonia nitrogen (NH_3-N) at 20% MFL supplementation group was the highest (P<0.05). When considering of microbial source did not affect (P>0.05) on acetic acid (C_2), propionic acid (C_3), butyric acid (C_4), C_2:C_3 ratio, and methane production (CH_4). However, when increasing supplement levels an affected on quadraticly decrease (p<0.05) of C_2, C_2, C_2:C_3 and CH_4 while C_3 was linearly increase (p<0.01), otherwhile, supplementation levels did not affect (P>0.05) on C_4. In addition, when increasing MFL supplement levels bacteria and fungal zoospore populations were increase and the highest (P<0.01) was 20% MFL supplementation while protozoal population was significantly (P>0.05) decrease when increasing supplement levels.

Experiment II: The objective of study was to determine the effects of microbial fermented liquid (MFL) supplementation on milk production efficiency in early lactating dairy cows. Twelve, Holstein Friesian crossbred (75%) cows in early lactation, 500±30 kg of body weight, were randomly assigned according to completely randomized design (CRD). Treatments were MFL supplement levels, there were 0, 100, 200 and 300 ml/hd/d. Experimental period was lasted for 30 days and the animals were adjusted for 14 days. Experimental animals were fed total mixed ration (TMR) with a roughage to concentrate ratio (R:C ratio) of 40:60 at contains 12% CP and 70% TDN. The result showed that MFL supplementation did not affect on body weight (kg/d), dry matter intake (DMI) (kg/d and %BW) and nutrient intake (kg/hd/d) (P>0.05) while when increasing level of MFL supplementation dry matter intake (DMI) (g/kg $BW^{0.75}$) was linearly increased (P<0.05) and MFL supplementation at 200 ml/hd/d was the highest. Furthermore, apparent digestibility of crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were linearly increase (P<0.05) when increasing MFL supplementation and the highest at 200 ml/hd/d supplementation. Blood urea-nitrogen (BUN) at 4 h after feeding, was linearly increase (P<0.01) when increasing of MFL supplementation and the highest at 200 ml/hd/d supplementation. In addition, milk yield milk urea-nitrogen (MUN) and 3.5% FCM when increasing MFL supplement levels were linearly increase (P<0.05) and the highest at 200 ml/hd/d supplementation. However, MFL supplement levels did not affect on milk composition (P>0.05) as follows fat, lactose, solid not fat (SNF) and specific gravity, while protein and total solid (TS) linearly increase (P<0.05) when increasing supplement levels an affected and the highest was supplemented at 200 ml/hd/d. Consequently, the profit form milk sale was quadraticly increase (P<0.05) when increasing supplement levels.

Based on this study, a conclusion can be made that MFL supplementation can improve rumen ecology dry matter intake, nutrient digestibility of protein NDF and ADF. In addition,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

increased milk production, 3.5% FCM, milk composition as follows milk protein, total solid MUN and economical return in lactating dairy cows. Especially the MFL supplementation at 200 ml/hd/d the highest efficiency. Therefore, MFL supplementation in feed is guidelines for value added of milk production, reduce feed price and create income for dairy farmers. However, further study to use of MFL in other ruminants in order to utilize the higher.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งทางด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัยต่างๆ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการดำเนินการวิจัยและทุนการศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิตศึกษาจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ 5921150 สัญญาเลขที่ MSD60I0059

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สินีนาฏ พลโยราช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้โอกาส คำแนะนำ และแนวความคิดที่เป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการ ด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์ การตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบรูณ์

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อนุสรณ์ เชิดทอง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พจนา สีขาว ประธานและคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำเสนอแนะและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบรูณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ นายอนุวัต ลาภมี ประธานสหกรณ์โคนมภูพานสกลนคร จำกัด นายยงยศ จินดาทะจักร์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สกลนคร และนายอนุสรณ์ ธิโนวงค์ นักวิชาการสัตวบาลปฏิบัติการ ซึ่งให้การสนับสนุนสถานที่ สัตว์ทดลอง และอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รวมทั้งอาจารย์ประจำห้องปฏิบัติการ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ และอำนวยความสะดวกต่างๆ รวมถึงคำปรึกษาให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สาขาสัตวศาสตร์ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรม ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา จนทำให้ประสบความสำเร็จในการศึกษา

รัศมี นามภักดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ IV
กิตติกรรมประกาศ VII
สารบัญ VIII
สารบัญตาราง ..... …XIII
สารบัญภาพ XV
สารบัญภาพผนวก XVI
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2
1.3 สถานที่ดำเนินงานวิจัย 2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา 3
1.5 ระยะเวลาในการศึกษา 3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 การเลี้ยงโคนมในประเทศไทย 4
2.1.1 ผลผลิตโคนมในประเทศไทย 4
2.1.2 การเลี้ยงโคนมในประเทศไทย 6
2.2 อาหารของโคนม 8
2.2.1 อาหารหยาบ (Roughage) 8
2.2.2 อาหารข้น (Concentrate) 9
2.3 ความต้องการโภชนะของโคนม (Nutrient requirement of dairy cattle) 10
2.3.1 ความต้องการโภชนะคาร์โบไฮเดรตของโคนม 10
2.3.2 ความต้องการโภชนะไขมันของโคนม 11
2.3.3 ความต้องการโภชนะโปรตีนของโคนม 12
2.3.4 ความต้องการโภชนะวิตามินของโคนม 14
2.3.5 ความต้องการแร่ธาตุของโคนม 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 นิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมน 16
2.4.1 แบคทีเรีย (Bacteria) 16
2.4.2 โปรโตซัว (Protozoa) 18
2.4.3 เชื้อรา (Fungi) 19
2.5 น้ำหมักจุลินทรีย์รวม (Microbial fermented liquid; MFL) 20
2.5.1 ชนิดของจุลินทรีย์ใน MFL 21
2.5.2 ปฏิสัมพันธ์ร่วมของจุลินทรีย์ใน MFL 22
2.5.3 กระบวนการหมักของ MFL 23
2.5.4 คุณสมบัติทั่วไปของ MFL 25
2.5.5 ลักษณะทั่วไปของ MFL 26
2.6 ยีสต์ (yeast) 27
2.6.1 การสืบพันธุ์ของยีสต์ 27
2.6.2 ระยะการเจริญเติบโตของยีสต์ 28
2.6.3 สารอาหารของยีสต์ 28
2.6.4 คุณสมบัติของยีสต์ 29
2.6.5 ประโยชน์ของยีสต์ 29
2.7 ศักยภาพการใช้จุลินทรีย์รวมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง 30
2.7.1 กลไกของจุลินทรีย์รวมในกระเพาะรูเมนสัตว์เคี้ยวเอื้อง 31
2.7.2 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 36
2.8 ศักยภาพการใช้ยีสต์ต่อการให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม 44
2.9 ศักยภาพการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม 46
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 51
3.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมใช้ *In vitro* gas production technique 51
3.1.1 แผนการทดลอง 51
3.1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.3 การเตรียมอาหารทดลอง 52
3.1.4 การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์ 53
3.1.5 วิธีการดำเนินการทดลอง 55
3.1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 57
3.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม 58
3.2.1 แผนการทดลอง 58
3.2.2 การเตรียมอาหารทดลอง 58
3.2.3 การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์ 58
3.2.4 วิธีการดำเนินการทดลอง 58
3.2.5 วิธีการเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง 59
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 61
บทที่ 4 ผลการทดลอง 62
4.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมโดยใช้ *In vitro* gas production technique 62
4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในงานทดลอง 62
4.1.2 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊ส 62
4.1.3 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้ 63
4.1.4 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อ ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน 66
4.1.5 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนที่ศึกษาโดยวิธีนับโดยตรง 68
4.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม 71
4.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง 71
4.2.2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว 71
4.2.3 ปริมาณการกินได้ 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.4 การย่อยได้ของโภชนะ 73
4.2.5 ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจน ในกระแสเลือด 74
4.2.6 ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม 75
4.2.7 การประเมินผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ 75
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง 77
5.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมใช้ *In vitro* gas production technique 77
5.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในงานทดลอง 77
5.1.2 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊ส 78
5.1.3 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้ 79
5.1.4 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อ ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน 80
5.1.5 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน 83
5.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม 84
5.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง 84
5.2.2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว 85
5.2.3 ปริมาณการกินได้ 85
5.2.4 การย่อยได้ของโภชนะ 86
5.2.5 ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด 88
5.2.6 ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม 89
5.2.7 การประเมินผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ 92
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ 93
6.1 สรุปผลการทดลอง 93
6.2 ข้อเสนอแนะ 94
บรรณานุกรม 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 113
ภาคผนวก ก การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์.....114
ภาคผนวก ข การศึกษาจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สโดยใช้ *In vitro* gas production technique.....117
ภาคผนวก ค เทคนิคทางจุลชีววิทยาในการศึกษาจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน 125
ภาคผนวก ง ประมวลภาพการดำเนินงานทดลอง.....127
ประวัติผู้เขียน 132

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 จำนวนโคนม และผลผลิตน้ำนมดิบของไทยปี 2557-2562 5
2.2 ต้นทุนการผลิตน้ำนมดิบ และราคา ปี 2558-2562 6
2.3 แสดงอัตราส่วนของระยะการให้นมกับอาหารหยาบต่ออาหารข้น 9
2.4 โภชนะที่ต้องการสำหรับโคนมพันธุ์ โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยนที่ได้รับอาหารผสมครบส่วน 13
2.5 ความต้องการโภชนะวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ในโคนนม 15
2.6 การจำแนกแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น 17
2.7 ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (MFL) 20
2.8 แสดงชนิดของธาตุอาหารในน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (MFL) 26
2.9 องค์ประกอบอะมิโนของโปรตีนจากยีสต์ชนิดต่างๆ (เปอร์เซ็นต์) 30
2.10 องค์ประกอบที่แตกต่างกันโดยเฉลี่ยของกลุ่มหลักของจุลินทรีย์ (% น้ำหนักแห้ง) 31
2.11 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง 43
2.12 ผลของการเสริมยีสต์ต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 48
2.13 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 49
3.1 แผนผังทรีทเมนต์ที่ใช้ในการทดลอง 51
3.2 ส่วนประกอบวัตถุดิบของอาหารข้น (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง) 52
3.3 ส่วนประกอบของอาหารผสมครบส่วน (TMR) ที่ใช้ในการทดลอง 59
4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในงานทดลอง และน้ำหมักจุลินทรีย์ 63
4.2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สและการย่อยได้ในหลอดทดลอง 64
4.3 ผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อค่าส่วนที่ละลายได้ง่าย (The gas production from the immediately soluble fraction; a) 65
4.4 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อ ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน 67
4.5 ผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อค่าปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 68
4.6 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.7 ผลผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน 70
4.8 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) และน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL) 72
4.9 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้..... 73
4.10 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ..... 74
4.11 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด..... 74
4.12 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อผลผลิต องค์ประกอบน้ำนม และค่าตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ..... 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์และการกำจัดแลคเตท 23
2.2 โครงสร้างภายในเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* 27
2.3 ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ 28
2.4 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์รวมในระบบทางเดินอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง 34
2.5 กลไกการทำงานของยีสต์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 35
2.6 แผนผังการเกิดภาวะเป็นกรดในกระเพาะรูเมน 38
3.1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักยีสต์ 53
3.2 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม 54
4.1 ผลผลิตแก๊สสะสมของแต่ละชั่วโมงของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ก 1 แสดงการกระตุ้นเชื้อยีสต์ และตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง 115
ก 2 แสดงการชั่งสัดส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ....115
ก 3 ผสมยีสต์ที่กระตุ้นแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อตามสัดส่วน 115
ก 4 แสดงการกระตุ้นเชื้อ EM และตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง 116
ก 5 แสดงการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ....116
ก 6 ผสม EM ที่กระตุ้นแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อตามสัดส่วน 116
ข 1 แสดงการเตรียมส่วนผสมของตัวอย่างอาหารทดลอง 121
ข 2 แสดงการเตรียมส่วนผสมของตัวอย่างอาหารทดลอง 121
ข 3 ตัวอย่างอาหารทดลองอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 122
ข 4 แสดงการชั่งอาหารและบรรจุอาหารทดลองลงในขวด 50 มิลลิลิตร 122
ข 5 แสดงวิธีการทำ *In vitro* gas production technique....123
ง 1 แสดงการเตรียมโคก่อนเข้างานทดลอง....127
ง 2 แสดงการติดเบอร์หูโคก่อนเข้างานทดลอง....127
ง 3 แสดงคอกที่ใช้ในการแยกโคทดลองโดยโคทุกตัวจะได้รับน้ำสะอาดและแร่ธาตุก้อน ให้กินตลอดเวลา 128
ง 4 แสดงการชั่งอาหารก่อนให้โคทดลองทุกครั้ง และชั่งอาหารที่เหลือในช่วงเช้าของวันถัดไป เพื่อจดบันทึกปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน 128
ง 5 แสดงการตรวง MFL ตามสัดส่วนและคลุกเคล้าให้เข้ากันกับอาหาร....129
ง 6 แสดงการรีดนมในช่วงเช้าและเย็น และจดบันทึกปริมาณน้ำนม 129
ง 7 แสดงการเก็บน้ำนมเพื่อส่งตรวจในช่วงเช้าและช่วงเย็นของการรีดนม 130
ง 8 แสดงการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อทำการส่งตรวจ....130
ง 9 แสดงการเก็บตัวอย่างอาหารและมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์....131

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มา

การเลี้ยงโคนมในประเทศไทยมีการพัฒนาเจริญก้าวหน้าอย่างต่อเนื่องเป็นอาชีพที่เกษตรกรให้ความสนใจเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีการบริโภคน้ำนมและผลิตภัณฑ์จากโคนมเพิ่มมากขึ้น จากสถิติช่วงปี พ.ศ. 2557-2562 จำนวนโคนมทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี โดยในปี 2562 มีจำนวนโคนมรวมทั้งประเทศ 670,950 ตัว ได้ผลิตน้ำนมดิบอยู่ที่ 1,332,180 ตันต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562) คาดว่ามีปริมาณการบริโภคเพิ่มขึ้นในทุกปี อย่างไรก็ตามผลผลิตน้ำนมภายในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของบริโภคจึงต้องมีการนำเข้านมผงและผลิตภัณฑ์นมจากต่างประเทศ ทั้งนี้เนื่องจากส่วนใหญ่เกษตรกรที่เลี้ยงโคนมในประเทศเป็นเกษตรกรรายย่อยและเกษตรกร ซึ่งยังขาดความรู้เกี่ยวกับการจัดการโคนม ส่งผลให้ประสบปัญหาในด้านต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์โค คุณภาพอาหาร การจัดการและสภาพแวดล้อม รวมถึงเกษตรกรมักนิยมใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตรต่างๆ มาเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อต้องการลดต้นทุนการผลิต ซึ่งโดยส่วนใหญ่พบว่าวัตถุดิบที่ได้มีคุณค่าทางโภชนะค่อนข้างต่ำจึงส่งผลให้โคนมได้รับสารอาหารที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ อีกทั้งปัญหาขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ในช่วงฤดูแล้งยังคงเป็นปัญหาที่เกษตรกรประสบอยู่ (สุมน โพธิ์จันทร์. 2552) นักวิจัยจึงคิดค้นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะแก่วัตถุดิบที่ได้จากผลพลอยได้ทางการเกษตร เช่น การทำฟางข้าวหมักร่วมกับน้ำหมักยีสต์ รำข้าวหมักนมและปาล์มน้ำมันหมักในอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) เพื่อเพิ่มผลผลิต นอกจากนี้การใช้จุลินทรีย์เสริมในอาหารถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มคุณค่าโภชนะให้แก่อาหารสัตว์ได้ เช่น ยีสต์ (yeast) แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria; LAB) และจุลินทรีย์รวม

ปัจจุบันได้มีการนำจุลินทรีย์มาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์กันอย่างแพร่หลายโดยเบื้องต้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อต้องการเพิ่มคุณภาพของอาหารและเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนที่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณการกินได้และการให้ผลผลิตในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Seo *et al*. 2010) ในการเลี้ยงโคนมได้มีการนำเอาจุลินทรีย์ต่างๆ เข้ามาใช้เพื่อต้องการเพิ่มศักยภาพในการผลิตมากขึ้นให้ทันกับความต้องการของตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น นักวิจัยจึงได้ให้ความสนใจในการศึกษาถึงผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL) ต่อการเพิ่มผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง จากการรายงานของ Alshaikh *et al*. (2002) ได้ทดลองเสริมยีสต์ที่ระดับ 15 กรัมต่อวัน และ 50 กรัมต่อวันในโคนมพบว่าการเสริมยีสต์ที่ระดับ 50 กรัมต่อวัน มีผลทำให้น้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นตัวกระตุ้นให้แบคทีเรียกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Butyrivio spp. ทำงานได้ดีขึ้น ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นตัวช่วยในการผลิตไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพคือ ผลิต conjugated linoleic acid (CLA) อีกด้วย (สินีนาฏ พลโยราช และ เมธา วรรณพัฒน์. 2558) จากการรายงานของ Xu *et al.* (2017) พบว่าการเสริม *Lactobacillus casei* Zhang และ *Lactobacillus plantarum* P-8 ร่วมกับอาหารให้โคนมหลังคลอดพบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่เกิดกระบวนการหมัก (Fermentative bacteria) เช่น *Bacteroides, Roseburia* และ *Ruminococcus* และกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Beneficial bacteria) *เช่น Faecalibacterium prausnitzii* เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้มีการใช้ประโยชน์จากอาหารและปรับปรุงกระบวนการหมักให้ดีขึ้น รวมถึงมีผลต่อการเพิ่มผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมอีกด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Polyorach *et al.* (2011) ศึกษาการเสริมน้ำหมักยีสต์ร่วมกับน้ำมันมะพร้าวกับมันเฮย์เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารโคเนื้อ พบว่ามีผลกระทบต่อประสิทธิภาพกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน รวมถึงประชากรจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรียและเชื้อราที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Bona and Gorgulu. (2009) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของการใช้ *Lactobacillus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ร่วมกับยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) พบว่าไม่มีผลต่อความแตกต่างของปริมาณการกินได้ ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงการใช้น้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารโคนมยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้โดยใช้ *In vitro* gas production technique

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

1.3 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

1.3.1 ห้องปฏิบัติการโภชนะศาสตาร์สัตว์ สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.2 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.3 ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาษสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

1.3.4 ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สกลนคร ต.พังขว้าง อ.เมืองสกลนคร จ.สกลนคร

1.3.5 สหกรณ์โคนมภูพานสกลนคร จำกัด ต.พังขว้าง อ.เมืองสกลนคร จ.สกลนคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้โดยใช้ *In vitro* gas production technique

1.4.2 ศึกษาผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

1.5 ระยะเวลาในการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 30 เดือน เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560 เสร็จสิ้นการศึกษาเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2562

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน ได้แก่ จลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส การย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรีย์วัตถุในหลอดทดลอง กรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย แอมโมเนีย-ไนโตรเจน การผลิตแก๊สเมทเธน และประชากรจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา)

1.6.2 ทราบผลของน้ำหมักจุลินทรีย์รวมร่วมกับอาหาร ต่อปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ องค์ประกอบทางเคมี และผลผลิตน้ำนม ต้นทุนการผลิตทางด้านอาหาร รวมถึงรายได้ในการจำหน่ายน้ำนมดิบของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

1.6.3 เพื่อเป็นแนวทางในการใช้น้ำหมักจุลินทรีย์รวมให้แก่เกษตรกรในการเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลผลิตน้ำนม ลดต้นทุนการผลิตทางด้านอาหาร และเสริมสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเลี้ยงโคนมในประเทศไทย

ประเทศไทยมีการพัฒนาการเลี้ยงโคนมให้เป็นอาชีพอย่างจริงจังเริ่มเกิดขึ้นประมาณ 40 ปีซึ่งได้รับการพัฒนาจากกรมปศุสัตว์โดยมีการจัดตั้งสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์และสถานีผสมเทียมเพื่อพัฒนาโคนมลูกผสมและขยายพันธุ์ให้แก่เกษตรกรนำไปใช้เลี้ยงเป็นจำนวนมาก จึงเกิดเป็นอาชีพใหม่ให้แก่เกษตรกรไทย โดยรูปแบบการเลี้ยงโคนมส่วนใหญ่มีสหกรณ์เป็นศูนย์กลางในการรับน้ำนมดิบ และดูแลสมาชิกสมาชิกครอบคลุมทุกส่วนที่เกี่ยวข้องและเกษตรกรที่มีการเลี้ยงเป็นฟาร์มขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ที่เป็นอิสระไม่ได้ขึ้นตรงกับหน่วยงานใดๆ (วาสนา ศิริแสน และคณะ. 2560) ปัจจุบันได้มีการขยายตัวทางด้านการเลี้ยงโคนม โรงงานแปรรูปน้ำนมดิบเพื่อที่รองรับการผลิตน้ำนมดิบที่ได้จากเกษตรกร เนื่องจากการมีการบริโภคนมเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งโคนมจัดเป็นอุตสาหกรรมทางการเกษตรที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาประเทศทั้งทางด้านเศรษฐกิจและสุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากการผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำนมนั้นครอบคลุมตั้งแต่ เกษตรกร การผลิตอาหารสัตว์ เวชภัณฑ์ และอุปกรณ์การเลี้ยงโคนมต่างๆ (อาณัติ จันทร์ถิระติกุล. 2555)

2.1.1 ผลผลิตโคนมในประเทศไทย

ปัจจุบันการผลิตในประเทศไทยปี 2562 คาดว่าจำนวนโคนมและผลผลิตน้ำนมดิบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากการขยายตัวตามธรรมชาติของฝูงโคนม อีกทั้งการเลี้ยงโคนมในปัจจุบันมีการบริหารจัดการฟาร์มที่เป็นระบบตามมาตรฐานฟาร์มที่ดีและมีประสิทธิภาพในการเลี้ยงมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้น้ำนมดิบมีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีคุณภาพดีขึ้น ประกอบกับมีการใช้มาตรฐานการรับซื้อน้ำนมโค ณ ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ ควบคู่กับการปรับราคากลางในการรับซื้อน้ำนมโค ณ ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ โดยในปี 2557-2561 จำนวนโคนมทั้งหมดมีอัตราเพิ่มร้อยละ 2.85 ต่อปี โดยในปี 2561 มีจำนวน 660,155 ตัว เพิ่มขึ้นจาก 645,261 ตัว ของปี 2560 ร้อยละ 2.31 และจำนวนแม่โครีดนมมีอัตราเพิ่มร้อยละ 1.52 ต่อปี โดยในปี 2561 มีแม่โครีดนม 276,321 ตัว เพิ่มขึ้นจาก 267,932 ตัว ของปี 2560 ร้อยละ 3.13 ส่วนผลผลิตน้ำนมดิบในช่วงปี 2557-2561 มีอัตราเพิ่มร้อยละ 1.62 ต่อปี โดยปี 2561 มีผลผลิต 1,233,483 ตัน เพิ่มขึ้นจาก 1,191,143 ตัน ของปี 2560 ร้อยละ 3.55 ความต้องการบริโภค ผลผลิตน้ำนมดิบของไทยใช้สำหรับบริโภคภายในประเทศทั้งหมดปี 2557-2561 ความต้องการบริโภคนมมีอัตราเพิ่มร้อยละ 1.62 ต่อปี โดยในปี 2561 มีปริมาณการบริโภคนม 1,233,483 ตัน เพิ่มขึ้นจาก 1,191,143 ตัน ของปี 2560 ร้อยละ 1.62 ดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 จำนวนโคนม และผลผลิตน้ำนมดิบของไทยปี 2557-2562

รายการ	2557	2558	2559	2560	25661*	อัตราเพิ่ม (%)	2562**
โคนมทั้งหมด (ตัว)	591,700	608,094	626,171	645,261	660,155	2.85	670,950
แม่โคนม (ตัว)	256,585	267,182	279,456	267,932	276,321	1.52	281,621
ผลผลิตน้ำนมดิบ (ตัน)	1,43,798	1,179,338	1,193,737	1,191,143	1,233,483	1.62	1,332,180
อัตราการให้นมของแม่โค (กก./ตัว/วัน)	12.21	12.09	11.67	12.18	12.23	-0.11	12.96
การบริโภคนม(ตัน)	1,143,798	1,179,338	1,193,737	1,191,143	1,233,483	1.62	1,332,180

หมายเหตุ: *ข้อมูลเบื้องต้น

**ประมาณการ

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรและกรมปศุสัตว์ (2562)

ราคาในปี 2561 ราคาน้ำนมดิบที่เกษตรกรขายได้เฉลี่ยกิโลกรัมละ 18.20 บาท สูงขึ้นเล็กน้อยจาก 18.08 บาท ของปี 2560 ร้อยละ 0.66 โดยเกษตรกรจะได้รับราคาตามคุณภาพน้ำนมดิบ จึงเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรมีการปรับปรุงคุณภาพน้ำนมดิบให้ดีขึ้น ซึ่งราคากลางรับซื้อน้ำนมดิบหน้าโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์นมอยู่ที่ 19 บาทต่อกิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562)

ตารางที่ 2.2 ต้นทุนการผลิตน้ำนมดิบ และราคา ปี 2558-2562

ปี	ต้นทุนน้ำนมดิบ (บาท/กก.)	ราคาเกษตรกรขายได้ (บาท/กก.)	ราคาหน้าโรงงาน (บาท/กก.)	ราคาอาหารข้น (บาท/กก.)
2558	14.17	17.74	19.00	11.42
2559	14.55	18.02	19.00	12.30
2560	14.31	18.08	19.00	11.69
2561	14.21	18.21	19.00	11.88
2562	14.27	18.30	19.00	11.67

หมายเหตุ: *มีการปรับราคากลางรับซื้อน้ำนมหน้าโรงงานระหว่างปี

**ประมาณการ

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2562)

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการผลิตในโคนมคือ ต้นทุนของการผลิตอาหารสัตว์ซึ่งจัดเป็นต้นทุนหลักที่มีผลสำคัญต่อการให้ผลผลิตน้ำนมของเกษตรกร เนื่องจากสภาพภูมิอากาศภายในประเทศ มีสภาวะแห้งแล้งที่ยาวนาน มีผลกระทบทำให้ผลผลิตพืชอาหารสัตว์ได้รับความเสียหายและเกิดการขาดแคลน ซึ่งมีผลต่อราคาอาหารสัตว์ที่ปรับตัวสูงขึ้น รวมทั้งคุณภาพของอาหารหยาบที่ได้ยังไม่เหมาะต่อการเลี้ยงโคนม เกษตรกรผู้เลี้ยงจึงต้องมีการปรับปรุงสูตรอาหารเพื่อรักษาระดับผลผลิตจึงส่งผลให้ต้นทุนการผลิตน้ำนมโคของเกษตรกรเพิ่มสูงขึ้น รวมไปถึงปัญหาด้านโรคต่างๆ เช่น ปัญหาโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) และโรคปากและเท้าเปื่อย (food and mouth disease) ทำให้คุณภาพน้ำนมดิบต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ส่งผลต่อราคาน้ำนมดิบที่เกษตรกรได้รับ เมื่อเกิดโรคเกษตรกรไม่สามารถส่งนมขายได้ ทำให้สูญเสียรายได้อีกด้วย

2.1.2 การเลี้ยงโคนมในประเทศไทย

เกษตรกรของไทยส่วนใหญ่จะนิยมเลี้ยงโคนมสายพันธุ์ผสม (Cross breeding) ระหว่างพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน (Holstein Friesian) กับโคนมสายพันธุ์อื่นๆ เช่น พันธุ์บราวสวิส (Brown swiss) พันธุ์เจอร์ซี่ (Jersey) พันธุ์เรดเดน (Red dane) หรือพันธุ์ซาฮิวาล (Sahiwal) เป็นต้น ในโคนมแต่ละสายพันธุ์จะให้ปริมาณน้ำนมที่แตกต่างกันได้อย่างชัดเจน โดยโคนมพันธุ์โฮลส์ไตน์ฟรีเซี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะให้ผลผลิตน้ำนมมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อม ระดับอุณหภูมิและความชื้นในอากาศก็ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อผลผลิตของโคนมโดยโคนมส่วนใหญ่ชอบสภาพแวดล้อมที่มีอากาศเย็นและความชื่นในอากาศต่ำ เนื่องจากโคนมที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงนั้นเป็นสายพันธุ์ยุโรปซึ่งจะให้น้ำนมลดลงเมื่ออุณหภูมิในอากาศเกินกว่า 21-24 องศาเซลเซียส ซึ่งสภาพพื้นที่การเลี้ยงโคนมในประเทศไทยมีผลต่อปริมาณการผลิตน้ำนมของโคนมโดยมีการสำรวจของ “โครงการศึกษาทิศทางการพัฒนาอุตสาหกรรมโคนมของประเทศไทย” ได้ทำการสำรวจพื้นที่การเลี้ยงโคนมแต่ละภูมิภาคพบว่า สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงโคนมของเขตภาคเหนือมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเลี้ยงโคนมมากที่สุดเนื่องมาจากมีอุณหภูมิและความชื้นในอากาศเฉลี่ยต่ำกว่าพื้นที่อื่นๆ รองลงมาคือเขตตะวันออกเฉียงเหนือ รวมถึงจังหวัดสระบุรีและนครราชศรีมา เนื่องจากเป็นพื้นที่ราบสูงจึงมีอุณหภูมิและความชื้นต่ำ ในส่วนของเขตภาคกลางในพื้นที่จังหวัดสระแก้วจะมีความชื้นในอากาศสูงเนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีฝนตกชุก

การรีดนมโคของเกษตรกรไทยส่วนใหญ่จะทำการรีดนมวันละ 2 ครั้ง คือช่วงเช้าเวลาประมาณ 05.55-0.700 นาฬิกา และในช่วงเย็นเวลาประมาณ 15.00-17.00 นาฬิกา เพื่อให้สามารถรักษาคุณภาพน้ำนมดิบให้สอดคล้องกับช่วงเวลาในการรับซื้อน้ำนมดิบของสหกรณ์โคนมที่รับซื้อน้ำนมวันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้าและช่วงเย็น เกษตรกรที่มีฟาร์มขนาดเล็กจนถึงฟาร์มขนาดกลางจะใช้วิธีการรีดนมโดยใช้เครื่องรีดนมแบบถังเดี่ยว (bucket type) ส่วนฟาร์มขนาดใหญ่หรือฟาร์มที่มีการเลี้ยงโคนมจำนวนมากๆ จะใช้อุปกรณ์การรีดนมแบบอัตโนมัติหรือแบบท่อลำเลียงนม (pipeline milking) ซึ่งจะทำให้มีการปนเปื้อนน้อย สะอาด ใช้เวลาในการรีดน้อย และมีความสะดวก

ในส่วนของช่องทางการจำหน่ายน้ำนมดิบของเกษตรกรโคนมส่วนใหญ่จะจำหน่ายน้ำนมดิบให้กับสหกรณ์โคนมที่เกษตรกรเป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมอยู่แล้ว ซึ่งแต่ละวันจะส่งน้ำนมดิบให้กับสหกรณ์โคนมที่ตนเป็นสมาชิกวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้า เวลาประมาณ 0.60-08.30 นาฬิกา และช่วงเย็นเวลาประมาณ 16.00-18.30 นาฬิกา หรือจำหน่ายกับศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบของเอกชน ซึ่งจะรับซื้อน้ำนมดิบจากเกษตรกรโคนมโดยตรงและซื้อจากสหกรณ์โคนมเพื่อส่งเข้าสู่โรงงานผลิตนมและผลิตภัณฑ์นมของเอกชน

การกำหนดราคาและการรับซื้อน้ำนมดิบของสหกรณ์โคนมเนื่องจากคุณภาพน้ำนมดิบเป็นปัจจัยที่สำคัญ ดังนั้นการกำหนดราคาน้ำนมดิบจึงมักผันแปรตามคุณภาพของน้ำนมดิบของเกษตรกร โดยการรับซื้อน้ำนมดิบของศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบของสหกรณ์โคนมจะมีการกำหนดราคารับซื้อและขั้นตอนในการรับซื้อน้ำนมไว้ที่หน้าศูนย์รับซื้อ ซึ่งราคาส่วนมากจะถูกตั้งให้ต่ำกว่าราคากลางที่ถูกกำหนด (ราคากลางที่กำหนดไว้จะกำหนดโดยภาครัฐและคณะกรรมการโคนมและผลิตภัณฑ์นม หรือ Milk board คือ 18 บาทต่อกิโลกรัม) โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจะสามารถทราบว่าได้ราคาจำหน่ายน้ำนมดิบนั้นจะต้องผ่านการตรวจคุณภาพของน้ำนมดิบแล้วเท่านั้น ในส่วนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบของภาคเอกชนนั้นส่วนใหญ่จะรับซื้อน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมโดยจะให้ราคาที่สูงกว่าราคากลางหรือเท่ากับราคากลางแต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพของน้ำนมดิบเป็นสำคัญ

2.2 อาหารของโคนม

โคนมมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันตามความต้องการในแต่ละช่วงอายุและระยะการให้ผลผลิต เนื่องจากอาหารเป็นต้นทุนการผลิตที่มีสัดส่วนสูงที่สุดในการเลี้ยงโคนม ดังนั้นการให้อาหารในปริมาณที่เหมาะสม นอกจากจะนำไปใช้ประโยชน์ในการดำรงชีพ การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตน้ำนมสูงขึ้นแล้ว ยังสามารถลดต้นทุนการผลิตได้อีกด้วย แม่โคนมจะนำพลังงานที่ได้จากอาหารไปใช้เพื่อการดำรงชีพก่อนเป็นอันดับแรก พลังงานส่วนที่เหลือจึงจะนำไปสร้างผลผลิต (จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา และคณะ. 2556) ดังนั้นการให้อาหารโคนมจึงต้องคำนึงถึงความเหมาะสมของโคนมแต่ละตัวแต่ละช่วงเวลา เนื่องจากโคนมแต่ละตัวนั้นมีน้ำหนักตัวและปริมาณการให้น้ำนมที่แตกต่างกัน จึงส่งผลต่อความต้องการโภชนะจำพวก โปรตีน (protein) พลังงาน (energy) วิตามิน (vitamin) และแร่ธาตุ (mineral) ที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้อาหารหยาบจากพืชอาหารสัตว์และอาหารข้นแต่ละชนิดมีคุณภาพที่แตกต่างซึ่งสามารถแบ่งอาหารโคนมได้ออกเป็น 2 ประเภท

2.2.1 อาหารหยาบ (Roughage)

อาหารที่มีลักษณะเยื่อใยหยาบ (crud fiber; CF) มากกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ มีความฟ่ามและเบา มีความสามารถในการย่อยได้ต่ำ เป็นอาหารแหล่งพลังงานและอาหารหลักสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง อาหารเยื่อใยเป็นอาหารที่มีราคาถูกซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ต้นและใบพืชที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น หญ้าสด ฟางข้าว พืชถั่วอาหารสัตว์ และเศษวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร อาหารหยาบอาจแบ่งได้ตามคุณภาพของอาหารได้ดังนี้

1) อาหารคุณภาพต่ำ (โปรตีนไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ ฟางข้าว หญ้าหลังการเก็บเมล็ด ยอดอ้อยและหญ้าที่มีอายุการตัดเกิน 8 สัปดาห์ขึ้นไป

2) อาหารหยาบคุณภาพปานกลาง (โปรตีน 5-7 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ หญ้าชนิดต่างๆ ที่อายุการตัดไม่เกิน 8 สัปดาห์ ต้นข้าวโพดหวาน เป็นต้น

3) อาหารหยาบคุณภาพดี (โปรตีน 7-10 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ หญ้าชนิดต่างๆ ที่อายุการตัดไม่เกิน 6 สัปดาห์ ต้นข้าวโพดฝักอ่อน เปลือก และไหมข้าวโพด เป็นต้น

4) อาหารหยาบคุณภาพดีมาก (โปรตีน 10 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป) ได้แก่ หญ้าชนิดต่างๆ ที่อายุการตัดไม่เกิน 6 สัปดาห์ เปลือก ไหมข้าวโพด และมีพืชตระกูลถั่วผสมอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 อาหารข้น (Concentrate)

วัตถุดิบอาหารที่มีความเข้มข้นของโภชนะต่อหน่วยน้ำหนักสูง มีเยื่อใยที่ต่ำกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่จะเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดเดียวหรือหลายชนิดที่ประกอบกันเป็นสูตรอาหาร สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

1) อาหารโปรตีน สารมารถแบ่งออกได้ตามแหล่งที่มาได้แก่ แหล่งอาหารโปรตีนที่ได้จากสัตว์ แหล่งอาหารโปรตีนที่ได้จากพืช และพวกสารประกอบไนโตรเจน

2) อาหารพลังงาน ส่วนใหญ่ได้แก่ เมล็ดธัญพืชเป็นพวกที่มีคาร์โบไฮเดรทมากมีโปรตีนน้อยและอาหารพื้นฐานของโคนมเช่น ข้าวโพด มันเส้น รำละเอียด ปลายข้าว เป็นต้น

3) อาหารเสริมแร่ธาตุและวิตามิน เป็นอาหารที่มีปริมาณแร่ธาตุบางชนิดมากกว่าอาหารทั่วไป เช่น เกลือ กระดูกป่น เป็นต้น และอาหารประเภทวิตามินจะผลิตได้จากโรงงานของเภสัชใช้เป็นตัวยาวิตามินบางชนิดอย่างเข้มข้น

การที่โคได้รับอาหารหยาบคุณภาพดีและเสริมด้วยอาหารข้นอย่างได้สัดส่วนที่พอดีควบคู่ไปกับการจัดการอาหารที่เหมาะสมนั้นจะส่งผลให้มีการกระตุ้นการเคี้ยวเอื้อง ช่วยรักษาสุขภาพโคได้ดี รักษาระดับกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนให้มีค่าเฉลี่ย 6.5 ได้ซึ่งจะมีผลต่อสมดุลในกระเพาะรูเมน กระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้การให้โคนมได้รับอาหารหยาบมากเกินไปโคจะให้ปริมาณน้ำนมน้อยกว่าอาหารที่ใช้สัดส่วนอาหารข้นมากกว่า (วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2560) นอกจากนี้การจัดสัดส่วนอาหารได้อย่างเหมาะสมสามารถลดต้นทุนการผลิตหรือการเลี้ยงโคนมลดลง และลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจด้านองค์ประกอบของน้ำนมที่อาจลดต่ำลงเป็นต้น โดยสัดส่วนของอาหารหยาบและอาหารข้นที่เหมาะสมกับระยะการให้นมดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงอัตราส่วนของระยะการให้นมกับอาหารหยาบต่ออาหารข้น

กลุ่มโค	R:C
โคให้นมช่วงแรก (ให้ผลผลิตสูง)	40:60
โคให้น้ำนมปานกลาง (ระยะกลางการให้นม)	50:50
โคให้น้ำนมน้อย (โคทั่วไปของระยะปลายการให้นม)	60:40

ที่มา: ฉลอง วชิราภากร (2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ความต้องการโภชนะของโคนม (Nutrient requirement of dairy cattle)

โคนมต้องการโภชนะต่างๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ไขมัน (fat) โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุต่างๆ เพื่อนำไปใช้สำหรับการดำรงชีพ การเจริญเติบโต การผลิตน้ำนมและการเจริญเติบโตของลูกในท้อง โคจะนำพลังงานที่ได้จากอาหารไปใช้เพื่อการดำรงชีพก่อนและพลังงานที่เหลือจะนำไปใช้เพื่อสร้างผลผลิต (จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา. 2538) ความต้องการโภชนะของโคนมจะผันแปลไปตามปริมาณน้ำนม และส่วนประกอบของน้ำนม

2.3.1 ความต้องการโภชนะคาร์โบไฮเดรตของโคนม

คาร์โบไฮเดรต มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม โดยคาร์โบไฮเดรตจัดเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของโคนม พบอยู่ในอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนมตั้งแต่ 50-80 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตจะได้มากน้อยตามสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้น ซึ่งมีผลต่อการย่อยอาหารภายในกระเพาะรูเมน มีผลต่อค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรด-ด่าง (pH) ปกติควรอยู่ที่ 6.5-7 มีผลต่ออัตรการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โปรโตซัว ซึ่งเป็นประชากรหลักในกระเพาะรูเมนที่จะช่วยย่อยอาหารที่โคกินให้ได้เป็นผลผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย (volatile fatty acids; VFA) และน้ำตาลเชิงเดี่ยว ในส่วนของอาหารหยาบจะมีการย่อยสลายให้เป็น กรดอะซิติค (acetic acid; C_2) เป็นหลัก ซึ่งกรดอะซิติคเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมันนม ในส่วนของอาหารข้นจะมีการย่อยสลายให้เป็นกรดโพพินิค (propionic acid; C_3) ซึ่งกรดโพพินิคในโคนมจะเป็นสารตั้งต้นของการผลิตกลูโคส (glucose) กับน้ำตาลนม (วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546) นอกจากนี้หากโคนมได้รับสัดส่วนของอาหารข้นมากกว่าอาหารหยาบจะมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนเปลี่ยนแปลงเป็นกรด (ต่ำกว่า 6.5) ดังนั้นคาร์โบไฮเดตรในอาหารจึงต้องมีความสมดุลไม่เช่นนั้นปริมาณจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใยไม่เพียงพอทำให้ขาดพลังงานในการสังเคราะห์น้ำนม (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) คาร์โบไฮเดรตสามารถแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ

2.3.1.1 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (Non-structural carbohydrate; NSC)

เป็นส่วนประกอบของพืชที่ไม่ได้อยู่ในโครงสร้างค้ำจุนพืช (non-cell wall) NRC (2001) ได้แยกส่วนของ NSC ออกเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เยื่อใย (non-fibrous carbohydrate) ได้แก่ น้ำตาล แป้ง กรดอินทรีย์ต่างๆ และแพคติน NSC มีสัดส่วนตามปริมาณของเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) หมายความว่าค่าอาหารสัตว์ที่มีค่า NDF สูง ปริมาณของ NSC จะมีปริมาณมากตามไปด้วย (วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546) อัตราส่วนที่เหมาะสมของ NSC คือ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) หรือ NFC เท่ากับ 32-43 เปอร์เซ็นต์ (NRC. 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.2 คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (Structural carbohydrate; SC)

ส่วนใหญ่จะเป็นองค์ประกอบของอาหารเยื่อใยเป็นหลัก ปัจจุบันนิยมใช้ตัววัดเยื่อใยของอาหารสัตว์ 2 ตัว ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) ประกอบไปด้วยส่วนของ เซลลูโลส (cellulose) และลิกนิน (lignin) เป็นหลัก กับเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) ประกอบไปด้วยส่วนของ เซลลูโลส ลิกนิน และเฮไมเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นหลัก ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดที่กล่าวมาเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์พืช (cell wall) (ปิ่น จุฬา และเมธา วรรณพัฒน์. 2546)

ระดับของ ADF และ NDF ในระยะเริ่มต้นของโคให้นมควรมีค่าเป็น 21 และ 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หรือในสูตรอาหารต้องมีเยื่อใยไม่ต่ำกว่า 19.4 และ 17.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (NRC. 1988; อ้างโดยปิ่น จุฬา และเมธา วรรณพัฒน์. 2546) Slater *et al*. (2000) ศึกษาระดับของ NDF ของพืชอาหารสัตว์ในสูตรอาหาร 3 ระดับ คือ 21, 16 และ 11 เปอร์เซ็นวัตถุแห้ง(dry matter; DM) พบว่าปริมาณการกินได้และผลผลิตน้ำนมสูงที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มี NDF อยู่ที่ 11 เปอร์เซ็นต์ แต่มีสัดส่วนของอะซิติคต่อโพรพิโอนิค (C_2:C_3) ที่ต่ำ ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมสูงสุดในแม่โคที่ได้รับ NDF อยู่ที่ 21 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ค่าโดยทั่วไปของ NDF ของโคนมที่ให้ผลผลิตในช่วงที่ไม่เกิน 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน อยู่ในช่วง 32-44 เปอร์เซ็นต์ แต่หากโคน้ำนมเกิน 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน อาหารควรมี NDF อยู่ที่ 32 เปอร์เซ็นต์ หรือสูงกว่าเล็กน้อย (Oba and Allen. 1999; อ้างโดย วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546) หากการลดระดับ NDF ในสูตรอาหารต่ำกว่าที่กำหนดจะมีผลโดยตรงต่อเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนม (NRC. 2001)

2.3.2 ความต้องการโภชนะไขมันของโคนม

เนื่องจากโคนมในปัจจุบันให้ผลผลิตสูงจึงมีความต้องการพลังงานสูงตามไปด้วย และข้อจำกัดของการกินอาหารของโคนมในเขตร้อนทำให้โคกินอาหารได้น้อยลง ดังนั้นไขมันจึงทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานเมื่อสัตว์กินไขมันเข้าไปจะได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสูงกว่าคาร์โบไฮเดรต 2.25 เท่า อย่างไรก็ตามในโคนมจะใช้พลังงานจากไขมันได้จำกัด การใช้ไขมันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบคือ

1) ไขมันเหลวหรือไขมันไม่ผ่านกรรมวิธีไขมันทั่วไปที่ได้จากไขมันพืชหรือไขมันสัตว์

2) ไขมันไหลผ่านหรือไขมันที่ผ่านกรรมวิธี (protected fat/ By-pass fat) โดยการนำไขมันพืชหรือไขมันสัตว์ไปทำให้มีความคงตัวโดยรวมตัวกับเกลือแคลเซียม หรือเกลือโซเดียม ทำให้ไขมันอยู่ในรูปสารประกอบที่ไม่ถูกย่อยสลายหรือย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนได้น้อยมาก (พวน ทัศนพงษ์. 2543; วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546)

การใช้ไขมันในสูตอาหารในระดับที่เหมาะสมจะอยู่ที่ 3-4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารข้น (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) จะช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำนม 2-10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่ใช้ไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามไขมันมีข้อจำกัดในการใช้งาน คือใช้ในปริมาณมากไม่ได้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อวิตามินเสื่อมได้ง่าย ไขมันสามารถรวมตัวกับแคลเซียมและแมกนีเซียมส่งผลให้แร่ธาตุทั้งสองถูกดูดซึมได้น้อยและถูกขับออกทางมูล (พวน ทัศนพงษ์. 2543) ประสิทธิภาพการย่อยอาหารหยาบลดลง เนื่องจากไขมันจะไปจับตัวกับจุลินทรีย์ หรือห่อหุ้มอาหารหยาบทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าไปย่อยได้ตามปกติ (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) การเพิ่มไขมันในสูตรอาหารจะให้ผลการตอบสนองที่ดีในโคที่กำลังให้นมในช่วงต้น และช่วงกลางของการให้น้ำนมจะอยู่ที่ 54 และ 47 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร นอกจากนี้ เมธา วรรณพัฒน์ (2538) กล่าวว่าการใช้ไขมันไหลผ่าน (By-pass fat) ในระดับที่สูงกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลกระทบต่อการเพิ่มขึ้นของโปรตีนของจุลินทรีย์และป้องกันการลดประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยในกระเพาะรูเมนและเพิ่มระดับไขมันดูดซึมส่งผลทำให้เพิ่มผลผลิตน้ำนมได้

2.3.3 ความต้องการโภชนะโปรตีนของโคนม

ความต้องการอาหารโปรตีนจัดได้ว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในลำดับที่ 2 รองจากแหล่งของพลังงาน ซึ่งโปรตีนมีความสำคัญในโคนมที่กำลังเจริญเติบโตและกำลังให้นม ในแม่โคที่กำลังให้นม พบว่าระดับโปรตีนที่โคนมได้รับมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำนมที่โคนมผลิตได้ แหล่งของโปรตีน โดยโคนมจะได้รับโปรตีนจากอาหารที่กินเข้าไปและได้จากการสร้างของจุลินทรีย์ (ฉลอง วชิราภากร. 2541) สามารถแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ

2.3.3.1 โปรตีนแท้ (True protein)

เป็นโปรตีนที่มีอยู่ในอาหารและถูกโคนมนำมาใช้ได้ทั้งในรูปแบบของกรดอะมิโน (amino acid) หรือในรูปแบบของแอมโมเนีย (ammonia; NH_3) ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของการย่อยสลาย โดยแบ่งออกเป็น โปรตีนที่ย่อยสลายได้ภายในกระเพาะรูเมน (rumen degradable protein; RDP) เป็นโปรตีนที่ถูกย่อยสลายด้วยเอมไซม์จากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนได้ผลผลิตเป็นแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) ส่วนโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein; RUP) คือโปรตีนที่คงตัวอยู่ภายในกระเพาะรูเมนโดยไม่ถูกย่อยด้วยเอมไซม์จากจุลินทรีย์ มีการไหลผ่านไปย่อยสลายได้ในลำไส้เล็กตอนต้น (duodenum) ได้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโน โปรตีนชนิดนี้จะพบได้ในโปรตีนจากสัตว์และพืช หรือเรียกว่าโปรตีนไหลผ่าน (By-pass protein)

2.3.3.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช้โปรตีน (Non-protein nitrogen)

เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบแต่ไม่ได้อยู่ในรูปของโปรตีน เช่น กรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ไพริมิดีน (pyrimidines) เกลือแอมโมเนีย (ammonia salts)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนเตรต (nitrate) ไนไตรท (nitrite) และยูเรีย (urea) เป็นต้น (ฐิติมา นรโภค. 2544) เมื่อโคนมได้รับสารประกอบเหล่านี้เข้าไปแล้ว เอนไซม์ที่สร้างจากจุลินทรีย์ตจะเข้าไปย่อย ทำให้เกิดการแตกตัวออกเป็นแอมโมเนียจากนั้นจุลินทรีย์จะเข้ามาจับแอมโมเนียไปสร้างเป็นกรดอะมิโนและดึงแอมโมเนียไปสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน (microbial protein synthesis) ต่อไป (พวน ทัศนพงษ์. 2543; วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546)

การให้โปรตีนในสูตรอาหารโคนมได้รับการประเมินจาก สมคิด พรหมมา และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (2540) ดังแสดงในตารางที่ 2.4 พบว่าโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมในระดับ 10-14 กิโลกรัมต่อวัน ที่ได้รับสูตรอาหาร TMR ควรมีโปรตีนประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่โคนมให้ผลผลิตในระดับปานกลางอยู่ที่ 15-20 กิโลกรัมต่อวัน และโคนมให้น้ำนมระดับสูงอยู่ที่ 21-30 กิโลกรัมต่อวัน ที่ได้รับสูตรอาหาร TMR ต้องการโปรตีนประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับระดับความต้องการของโภชนะที่ควรมีในอาหารของ NRC (1998) คือโคนมที่ให้ผลผลิตน้อยกว่า 8, 8-13, 13-18 และมากกว่า 18 กิโลกรัมต่อวัน ต้องรับโปรตีนในสูตรอาหาร 13, 14, 15 และ 16 เปอร์เซ็นต์ และโคที่ให้น้ำนมสูงในอาหารควรมี RUP อยู่ที่ 33-44 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม จากการรายงานของ Frank *et al.* (2002) รายงานว่าโปรตีนที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารเป็นระดับต่ำสุดที่เพียงพอสำหรับการทำงานภายในกระเพาะรูเมนและการให้ผลผลิต 15 กิโลกรัมต่อวัน

ตารางที่ 2.4 โภชนะที่ต้องการสำหรับโคนมพันธุ์ โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยนที่ได้รับอาหารผสมครบส่วน

น้ำหนัก	ผลผลิตน้ำนม กิโลกรัมต่อวัน			โคสาว		
400	10	15	21	3-6	6-12	>12
500	12	18	25	เดือน	เดือน	เดือน
600	14	20	30			
พลังงาน						
โภชนะที่ย่อยได้รวม (เปอร์เซ็นต์)	64.0	67.0	67.0	67.0	65.0	62.0
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (Mcal/kg)	2.3	2.4	2.4	2.4	2.4	2.2
โปรตีน						
โปรตีนหยาบ (เปอร์เซ็นต์)	14.0	16.0	16.0	14.0	12.0	11.0
โปรตีนที่ย่อยสลายไม่ได้ (เปอร์เซ็นต์)	37.0	37.0	36.0	42.0	38.0	26.0
เยื่อใย						
เยื่อใย ADF (เปอร์เซ็นต์, maximum)	30.0	30.0	27.0	30.0	30.0	31.0
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์, minimum)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

ที่มา: สมคิด พรหมมา และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ความต้องการโภชนะวิตามินของโคนม (พวน ทัศนพงษ์. 2543)

วิตามินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะของตัวทำละลาย (ตารางที่ 2.5)

2.3.4.1 วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน (Fat soluble vitamin)

สามารถละลายได้ในไขมัน และเมื่อโคนมได้รับก็สามารถเก็บสำรองไว้ในรูปแบบของไขมัน ได้แก่

1) วิตามิน เอ เป็นส่วนประกอบในการสร้างเยื่อบุส่วนต่างๆ ของร่างกาย เมื่อขาดจะพบปัญหาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์

2) วิตามิน ดี เกี่ยวข้องกับการดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสเข้าสู่ร่างกาย

3) วิตามิน อี จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับธาตุซีลีเนียมสามารถช่วยให้การผสมติดดีขึ้น

4) วิตามิน เค โคนมใช้วิตามิน เค ในการสร้างโปรตีนหลายชนิดโดยเฉพาะในน้ำเลือด (plasma protein) ที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดเมื่อขาดอาจจะทำให้เกิดปัญหากับการแข็งตัวของเลือดได้

2.3.4.2 วิตามินที่ละลายในน้ำ (Water soluble vitamin)

ปกติโคนมสามารถผลิตวิตามินที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะวิตามินกลุ่มบีคอมเพลกซ์ (B-complex) เช่น ไทอามิน (thiamin) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอาซีน (niacin) โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของโคที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีความสามารถในการสังเคราะห์วิตามินเหล่านี้ได้เพียงพอ

2.3.5 ความต้องการแร่ธาตุของโคนม

แร่ธาตุแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามปริมาณที่โคต้องการ (สมชาย จันทร์ผ่องแสง. 2541; NRC. 1988) ระดับความต้องการแสดงในตารางที่ 2.5

2.3.5.1 แร่ธาตุหลัก (Macromineral)

แร่ธาตุที่ร่างกายต้องการมากและพบในปริมาณมากในเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย แร่ธาตุกลุ่มนี้ ได้แก่ แคลเซียม (calcium) ฟอสฟอรัส (phosphorus) โซเดียม (sodium) โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) แมกนีเซียม (magnesium) และซัลเฟอร์ (sulfur)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.5.2 แร่ธาตุรอง (Micromineral)

แร่ธาตุที่โคจำเป็นใช้ในปริมาณน้อยและพบในปริมาณต่ำในเนื้อเยื่อของร่างกาย แร่ธาตุในกลุ่มนี้ ได้แก่ โคบอลต์ (cobalt) ทองแดง (copper) ไอโอดีน (iodine) เหล็ก (iron) แมงกานีส (manganese) ซีลีเนียม (selenium) และสังกะสี (zinc)

ตารางที่ 2.5 ความต้องการโภชนะวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ในโคนม

หัวข้อ	ปริมาณน้ำนม (กิโลกรัม)		
	25	35	45
น้ำหนักตัว (กก.)	680	680	680
แคลเซียม (%)	0.62	0.61	0.67
ฟอสฟอรัส (%)	0.32	0.35	0.36
แมกนีเซียม (%)	0.18	0.19	0.20
โพแทสเซียม (%)	1.00	1.04	1.06
กำมะถัน (%)	0.20	0.20	0.20
โซเดียม (%)	0.22	0.23	0.22
คลอไรด์ (%)	0.24	0.26	0.28
เหล็ก (มก./กก.)	12.3	15	17
ทองแดง (มก./กก.)	11	11	11
แมงกานีส (มก./กก.)	14	14	13
สังกะสี (มก./กก.)	43	48	52
โคบอลท์ (มก./กก.)	0.11	0.11	0.11
ไอโอดีน (มก./กก.)	0.60	0.50	0.44
ซิลีเนียม (มก./กก.)	0.30	0.30	0.30
วิตามินเอ (IU/กก.)	3,685	3,169	2780
วิตามินดี (IU/กก.)	1,004	864	758
วิตามินอี (IU/กก.)	27	23	20

ที่มา: NRC. (2001) อ้างโดย อาณัติ จันทร์ถิระติกุล (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 นิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมน

สัตว์เคี้ยวเอื้องมีกระเพาะที่สามารถแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ประกอบด้วย รูเมน (rumen) เรติคูลัม (reticulum) โอมาซัม (omasum) และอะโบมาซัม (abomasum) กระเพาะรูเมนมีความสำคัญอย่างยิ่งในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากมีหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารที่มีองค์ประกอบของเยื่อใยสูงและการเกิดกระบวนการหมักอาหารโดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน โดยกระบวนการทำงานของประชากรจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพนั้นต้องอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมภายในกระเพาะรูเมน ซึ่งสภาวะภายในจะมีลักษณะเฉพาะ โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6-7 และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 39-40 องศาเซลเซียส (Kamra. 2005) จุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนส่วนใหญ่เป็น obligate anaerobes คือไม่สามารถอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน และ facultative anaerobes ซึ่งสามารถอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่บ้าง แต่ถ้ามีระดับของออกซิเจนมากเกินไปก็สามารถเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) อาหารส่วนใหญ่ที่สัตว์กินเข้าไปจะถูกเปลี่ยนสภาพโดยการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนไปเป็นโภชนะที่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น กรดไขมันระเหยง่าย (VFA) กรดแลคติค (lactic acid) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และโปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้ในรูปแบบแก๊สบางส่วนถูกขับออกมา เช่น แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide; CO_2) และแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) ดังนั้นจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนจึงมีความสำคัญมากในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (สุริยะ สะวานนท์. 2551)

ประชากรจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย (bacteria) โปรโตซัว (protozoa) และเชื้อรา (fungi) โดยแบคทีเรียจะมีจำนวนมากที่สุดประมาณ 10^9-10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร โปรโตซัวพบอยู่ที่ประมาณ 10^5-10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเชื้อราพบอยู่ที่ประมาณ 10^3-10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งแต่ละชนิดจะมีจำนวนที่แตกต่างกันออกไป

2.4.1 แบคทีเรีย (Bacteria)

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบปริมาณมากที่สุด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวก anaerobes และพวก facultative anaerobes มีทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) และ แกรมลบ (gram negative) ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ (cocci or short rod) แบคทีเรียที่อยู่ในกระเพาะรูเมนนั้นจะมีความจำเพาะในการย่อยโภชนะที่สูงมาก จึงทำให้แบคทีเรียแต่ละชนิดมีบทบาทหน้าที่ที่แตกต่างกันและพบในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยจะผันแปรไปตามอาหารที่สัตว์ได้รับ ทั้งนี้สามารถจำแนกแบคทีเรียตามการใช้ประโยชน์ของอาหารหรือผลผลิตที่สังเคราะห์ได้ดังแสดงในตารางที่ 2.6

จำนวนของแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนจะมีการกระจายตัวอยู่ในหลายรูปแบบภายในกระเพาะรูเมน (เมธา วรรณพัฒน์. 2533; ฉลอง วชิราภากร. 2541) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) แบคทีเรียที่ลอยตัวโดยอิสระภายในของเหลวรูเมน มีประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ มีการแบ่งตัวสูงเพราะในกระเพาะรูเมนมีการไหลออกของของเหลวในระยะ liquid phase ดังนั้นอัตราการแบ่งตัวของจุลินทรีย์เหล่านี้จึงต้องสูงกว่า rumen fluid dilution rat

(2) แบคทีเรียที่เกาะติดอยู่กับอนุภาคของอาหารมีประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ย่อยสลายอาหารหยาบ การเข้าเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวของอนุภาคอาหารนั้นเป็นลักษณะที่พิเศษ

(3) แบคทีเรียที่ยึดเกาะกับผนังของกระเพาะรูเมน เป็นพวก facultative anaerobe แบคทีเรียกลุ่มนี้ทำหน้าที่สำคัญหลายประการในกระเพาะรูเมน คือสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนจากเซลล์ผนังรูเมนที่ตายแล้ว โดยอาศัยกระบวนการดีแอมิเนชัน (deamination) อีกทั้งยังสามารถผลิตเอนไซม์พวกโปรติเอส (protease) ในรูเมนได้มากถึง 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สามารถผลิตเอนไซม์ ยูรีเอส (urease) ซึ่งจะไฮโดรไลซ์ยูเรียให้ได้แอมโมเนียและสามารถช่วยขนถ่ายยูเรียผ่านผนังรูเมนให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

(4) แบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่กับโปรโตซัว ส่วนใหญ่ methanogens

ตารางที่ 2.6 การจำแนกแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น

Item	Species	Substrates
Cellulolytic bacteria	*Bacteriodes succinogenes,*	cellulose
	Ruminococcus flavefaciens	
	Ruminococcus albus	
Hemicellulose digesting bacteria	*Butyrivibrio fibrisolvens,*	hemicellulose
	Lachnosperia multiparens	
	Bacteriodes ruminicola	
Amylolytic bacteria	*Bacteriodes amylophillus,*	starch
	Bacteriodes ruminicola,	
	Succinomonas amylolytica,	
	Succinivibrio dextrinosolvens	
Amylolytic bacteria	*Clostridium lochheadii*	starch
	Bacteriodes succinogenes	
	Butylivibrio fibrisolvens	

ที่มา: ฉลอง วชิราภากร (2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 การจำแนกแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น (ต่อ)

Item	Species	Substrates
Proteolytic bacteria	*Peptostreptococcus ruminicola*	protein
	Clostridium sporogens	
	Eubacterium ruminantium,	
	Ruminococcus amylophillus,	
	Selenomonas ruminantium	
	Streptococcus bovis	
Bacteria utilizing sugar	*Selenomonas lactilytica*	Lactic acid, succinic acid,
	Selenomonas ruminantium	malic acid, fumaric acid,
	Veillonella gazogenes	oxalic acid
	Propionic bacterium sp.	
Ammonia producing bacteria	*Bacteria ruminicola,*	amino acid, NPN
	Selenomonas ruminantium,	
	Reptostreptococus eslsdenii	
	Butyrivibrio sp.	
Methanogenic bacteria	*Methanobacterium formicicum*	CO_2 and H_2
	Methanobacterium ruminantium	
Lipolytic bacteria	*Veillonella alcalescens*	lipid
	Anaerovibrio lipolytica	
Fermenters of sugar	*Lactobacillus vitulinus*	monosaccharide,
	Lactobacillus ruminus	disaccharide
	Treponema bryantii	

ที่มา: ฉลอง วชิราภากร (2541)

2.4.2 โปรโตซัว (Protozoa)

โปรโตซัวเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย โดยโปรโตซัวที่พบในรูเมนส่วนใหญ่เป็นชนิด ciliated protozoa แต่มีบางชนิดที่เป็น flagellated protozoa ซึ่งพบในกระเพาะรูเมนของสัตว์ในระยะแรกเกิดเท่านั้น (ฉลอง วชิราภากร. 2541) ความหนาแน่นของจำนวนประชากรโปรโตซัว มีประมาณ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิเมตร โปรโตซัวบางกลุ่มมีการอาศัยแบคทีเรียเป็นอาหารของตัวเองมีผลทำให้ประสิทธิภาพของรูเมนลดลง นอกจากนี้โปรโตซัวยังมีความสามารถในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บคาร์โบไฮเดรตไว้ในรูปแบบของ อะไมโลเพคติน (amylopectin) เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในยามขาดแคลนอาหารได้ (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) สำหรับ ciliated protozoa สามารถแบ่งออกเป็น 2 sub class คือ

(1) Holotrichs เป็นโปรโตซัวที่มีขนาดใหญ่และมีขนปกคลุมล้อมรอบ มีลักษณะคล้าย paramecium อยู่อย่างอิสระไม่เกาะติดกัน เคลื่อนไหวได้อย่างรวดเร็ว สามารถอยู่ทนในสภาพที่มีออกซิเจนได้ดี มีความสามารถในการใช้น้ำตาล (sugar) เป็นแหล่งของพลังงานในกระเพาะรูเมนมีอยู่ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Isotrichia intestinalis*, *I. protoma* และ *Dasytrich ruminantium* สองพวกแรกมักพบในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่กินอาหารที่มีน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ (soluble sugar)

(2) Spirotrichia ที่พบในสัตว์เคี้ยวเอื้องอยู่ใน order entodiniomorphs มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน อาจเป็นรูปทรงไข่หรือแท่งยาวได้ มีขน (cilia) เป็นแผงบริเวณ anterior เพื่อใช้ในการกินอาหารและการเคลื่อนที่ มีความสามารถในการใช้แป้ง (starch) เป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญโดยเฉพาะ Epidinium และ Ophryoscolex แต่บางตัวสามารถใช้เซลลูโลสและเฮไมเซลลูโลสเป็นแหล่งของพลังงานได้โดยขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ายึดเกาะกับสารตั้งต้นนั้นๆ

2.4.3 เชื้อรา (Fungi)

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์จัดอยู่ในจำพวก ยูคาริโอต (eukaryotic cell) โดยเชื้อราที่อาศัยอยู่ในกระเพาะรูเมนเป็นกลุ่มที่อยู่ได้ในสภาพที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic fungi) ทำหน้าที่เกี่ยวกับการหมักย่อยอาหารในรูเมน โดยพบว่าเชื้อราเหล่านี้ฝังตัวอยู่ในเยื่อใยของอนุภาคอาหาร และมีส่วนช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส สามารถช่วยลดการสูญเสียพลังงานจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปโดยเปลี่ยนเอา ไคทิน (chitin) ซึ่งปกติย่อยไม่ได้ให้มาเป็นผนังเซลล์ของเชื้อราและสามารถเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (ฉลอง วชิราภากร. 2541) โดยวงจรชีวิตของเชื้อราออกเป็น 2 ระยะ ประกอบไปด้วย

(1) ระยะ motile flagellated zoospore เป็นระยะที่เชื้อราเคลื่อนไหวได้โดยใช้ flagella

(2) ระยะ vegetative (sporangium) เป็นระยะที่ไรซอย (rhizoid) ยึดเกาะกับเศษชิ้นส่วนของพืช ซึ่งจะแทงผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อของพืชเข้าไปเพื่อทำให้เกิดการหมักของคาร์โบไฮเดรตและทำให้ sporangia เกิดการพัฒนาจนกระทั่งเข้าสู่ระยะ maturity และจะปลดปล่อยซูโอสปอร์ (zoospore) ออกมามีวงจรชีวิต (ฐิติมา นรโภค. 2554)

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์กลุ่มแรกที่เข้าไปย่อยโครงสร้างของเยื่อใยช่วยให้แบคทีเรียเข้าย่อยได้ง่ายขึ้น ภายในกระเพาะรูเมนหากมีเชื้อรามากสามารถช่วยลดระยะเวลาการเข้าย่อยอาหารเยื่อใยจากส่วนด้านในก่อน ซึ่งเชื้อราจะทำหน้าที่ลดการยึดเกาะกันแน่นของอนุภาคอาหาร โดยใช้ส่วนที่เรียกว่า rhizoid ซึ่งสามารถแทงผ่านผนังของเซลล์พืชเพื่อลดความตึงของเส้นใยทำให้เกิดการแตกของเส้นใยได้ง่าย นอกจากนี้เชื้อราสามารถทำลายการยึดเกาะกันระหว่างเฮไมเซลลูโลส และลิกนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูป hemicellulose-lignin-complex เพื่อละลายส่วนของเพคติน (pectin) และลิกนิน ออกมา เอนไซม์ที่ปลดปล่อยจากเชื้อรามีบทบาทในการย่อยสลายเยื่อใยของพืชที่สำคัญ เช่น โพลิแซคคาริเดส (polysaccharides) และไกลโคซิเดส (glycosides) ดังนั้นเชื้อราจึงเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญอย่างยิ่งในการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย และเมื่อพบว่าในกระเพาะรูเมนมีเชื้อรามากจะช่วยลดระยะ lag-phase ของการเข้าย่อยอาหารเยื่อใยได้

2.5 น้ำหมักจุลินทรีย์รวม (Microbial fermented liquid; MFL)

น้ำหมักจุลินทรีย์รวมหรือ MFL เป็นสารละลายเข้มข้นที่ได้จากการหมักเศษพืชหรือสัตว์กับสารให้ความหวานจนถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดสารละลายที่เข้มข้นสีน้ำตาลที่ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์และสารอินทรีย์หลายชนิด (ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2550) จุลินทรีย์จะใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งสารอาหารในการเพิ่มจำนวนและปริมาณทำให้เกิดจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จำนวนมาก เช่น ยีสต์ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรดแลกติกและเชื้อราชนิดต่างๆ ในส่วนของสารอินทรีย์จะประกอบไปด้วย สารจำพวก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน (ตารางที่ 2.7) เอมไซม์ และแร่ธาตุต่างๆ ที่ได้จากองค์ประกอบของพืชหรือสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก (เสริมสวัสดิ์ ตุลยอนุกิจ. 2547) การหมักของ MFL มี 2 แบบคือ แบบที่ต้องการออกซิเจน (แบบเปิดฝา) เพื่อต้องการให้จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและผลิตสารอินทรีย์ต่างๆ โดยใช้กากน้ำตาลและสารอินทรีย์จากเศษสิ่งมีชีวิตเป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งพลังงาน ในส่วนของแบบที่ไม่ต้องการออกซิเจน (แบบไม่เปิดฝา) การหมักแบบนี้นอกจากจะได้สารอินทรีย์แล้วอาจได้แก๊สต่างๆ เช่น เมทเธนจาก methanogen bacteria (สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2555)

ตารางที่ 2.7 ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (MFL)

กรดอะมิโน	มิลลิกรัม/100 กรัม	กรดอะมิโน	มิลลิกรัม/100 กรัม
กรดแอสปาร์ติค	346.06	เมไทโอนีน	9.37
ทรีโอนีน	26.34	ไอโซลิวซีน	26.26
ซีรีน	39.30	ลิวซีน	34.30
กรดลูตามิค	127.45	ไทโรซีน	22.14
โปรลีน	1.26	ฟีนิลอะลานีน	4.44
ไกลซีน	13.24	ฮีลติดีน	16.28
อะลานีน	91.69	ไลซีน	30.20
ซีสตีน	17.88	อาร์จินีน	18.76
วาลีน	55.26	ทริปโตเฟน	6.22

ที่มา: เสริมสวัสดิ์ ตุลยอนุกิจ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ MFL เป็นที่รู้จักกันในชื่อ Effective Microorganisms (EM) ถูกค้นพบโดยท่าน ศ.ดร.ทารูโอะ ฮิหงะ แห่งมหาวิทยาลัยริวกิวโอกินาวา ประเทศญี่ปุ่น ได้เริ่มมีการค้นคว้า เมื่อ พ.ศ. 2510 และเมื่อ พ.ศ.2525 เป็นการค้นพบเทคนิคในการใช้ EM เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพที่มีความสำคัญทำให้เกิดผลดีต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เช่น ลดหรือยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มทำลาย ช่วยขจัดกลิ่นเน่าเหม็น

ทางด้านการผลิตสัตว์มีการศึกษาในเอเชียที่มีการใช้ EM เป็นครั้งแรกและเริ่มมีการใช้อย่างกว้างขวางโดยนำไปใช้ในสัตว์ปีกและสุกรซึ่งพบว่าประสบความสำเร็จ (Konoplya and Higa. 2000) EM มักถูกใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อควบคุมการทำงานของลำไส้ด้วยการรักษาเสถียรภาพและรักษาความสมดุลของจุลชีววิทยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Ohland and Macnaughtom. 2010) นอกจากนี้ยังถูกจัดอยู่ในส่วนของโปรไบโอติก (probiotic) ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการย่อยอาหารในลำไส้ และมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์สารประกอบที่ใช้งานทางชีวภาพต่างๆ เช่น เอมไซน์ และวิตามิน (Ewa *et al*. 2017) รวมถึงเป็นสารเสริมช่วยปรับปรุงกิจกรรมทางสรีรวิทยาในสัตว์และเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารสัตว์ (Konoplya and Higa. 2000; Safalaoh and Smith. 2001) นอกจากนี้ EM ช่วยปรับสภาพจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ทำให้การเปลี่ยนแปลงอาหารและน้ำหนักเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการดูดซึมสารอาหารที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพและส่งผลต่อการลดการผลิตแก๊สเมธเทนได้อีกด้วย

2.5.1 ชนิดของจุลินทรีย์ใน MFL

ชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบใน MFL เกษตรกรโดยส่วนใหญ่จะนิยมใช้ EM ที่มีการจำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไปในการทำ MFL ซึ่งใน EM ประกอบไปด้วยกลุ่มจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria) กลุ่มจุลินทรีย์แอคทิโนมัยซีทส์ (actenomycetes) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่สำคัญที่มีผลต่อกระบวนการหมักประกอบด้วย แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria; LAB*)* และเชื้อราหรือยีสต์ (yeast) (Ewa *et al*. 2017) ทั้งนี้คุณภาพของน้ำหมักจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ในการทำน้ำหมัก จุลินทรีย์ที่มีในกระบวนการหมัก และสภาวะแวดล้อมขณะทำการหมัก

2.5.1.1 กลุ่มแบคทีเรียกรดแลกติก (Lactic acid bacteria; LAB)

ในการผลิต MFL จะมีกลุ่ม LAB ที่ใช้น้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆได้ผลผลิตเป็น กรดแลคติก กรดอซิติก กรดฟอร์มิค เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ อย่างไรก็ตามกรดแลกติกเป็นตัวที่ฆ่าเชื้อที่แข็งแรง ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและเพิ่มการสลายตัวของสารอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว เช่น ลิกนินและเซลลูโลส โดยหมักวัตถุดิบเหล่านี้โดยไม่ก่อให้เกิดอิทธิพลที่เป็นอันตรายที่เกิดจากสารอินทรีย์ที่ไม่สามารถยับยั้งได้ LAB มีจุลินทรีย์ที่สำคัญเช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterococcus spp., *Streptococcus spp*., *Lactobacillus spp*. และ *Pediococcus spp.* (McAllister *et al*. 2011)

2.5.1.2 กลุ่มรา หรือยีสต์ (yeast)

ยีสต์จะใช้น้ำตาลในกระบวนการหมักเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยีสต์ยังผลิตสารที่เป็นประโยชน์ เช่น ฮอร์โมน เอมไซม์ และวิตามินบี สารคัดหลั่งของยีสต์เป็นสารอาหารที่เป็นประโยชน์สำหรับจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียกรดแลกติก และยีสต์ยังสังเคราะห์สารต้านจุลชีพหรือแบคเทอริโอซิน (bacteriocins) และสารอาหารที่มีประโยชน์จากกรดอะมิโน และน้ำตาล กลุ่มยีสต์ที่สำคัญ เช่น *S.cerevisiae* และ *Canida sp*.

2.5.2 ปฏิสัมพันธ์ร่วมของจุลินทรีย์ใน MFL

โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์ตามธรรมชาติจะอาศัยอยู่ร่วมกันและเกิดปฏิสัมพันธ์ (interaction) ต่อกัน การรวมกันของจุลินทรีย์ (co-cultures) มีความหลากหลายและเพิ่มทางเลือกได้มากกว่าจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (pure cultures) ซึ่งการอาศัยอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์มีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สารอาหาร ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ เป็นต้น ในการรวมกันของจุลินทรีย์สามารถจำแนกความสัมพันธุ์ได้ดังนี้ (สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2556)

(1) ภาวะเป็นกลาง (neutralism) เป็นสภาวะที่จุลินทรีย์ทั้งหลายไม่มีผลกระทบต่อกันในการอาศัยอยู่ร่วมกัน และผลผลิตของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นแต่ละชนิด จะไม่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อยู่ร่วมกัน

(2) ภาวะอิงอาศัย (commensalism) เป็นสภาวะการอยู่ร่วมกันที่การเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งได้รับผลประโยชน์ ในขณะที่จุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งไม่ได้รับประโยชน์

(3) ภาวะพึ่งพาอาศัย (mutualism) เป็นสภาวะที่ภาวะการเจริญและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ต่างขึ้นอยู่ต่อกันและกัน และต่างฝ่ายต่างได้รับผลประโยชน์

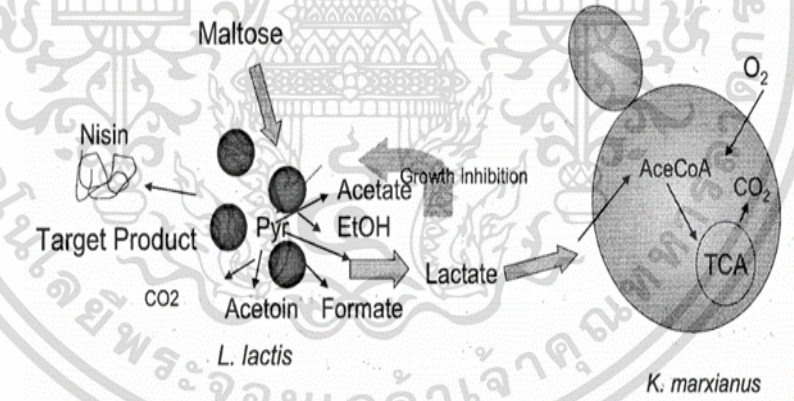
(4) ภาวะปรับปรุง (amensalism) เป็นสภาวะของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมให้กับจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง

(5) ภาวะปรสิต (parasitism) เป็นสภาวะของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเบียดเบียนกันโดยไม่ทำร้ายหรือฆ่าจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา MFL พบว่าปฏิสัมพันธ์ร่วมของจุลินทรีย์ในน้ำหมัก ซึ่งใน MFL มีจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อตัวสัตว์เคี้ยวเอื้อง ได้แก่ LAB และ ยีสต์ ทั้งนี้ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง LAB และยีสต์ ในภาคปศุสัตว์ยังมีข้อมูลและการศึกษาที่ค่อนข้างจำกัด แต่อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานของ Gadaga *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตและปฏิสัมพันธ์ของยีสต์และ LAB ในน้ำนมหมักธรรมชาติ พบว่า LAB (*Lactobacillus hilgardii*) และยีสต์ (*S. florentinus*) ที่มีปฏิสัมพันธ์กัน โดยยีสต์สามารถกระตุ้น LAB ผ่านการผลิต คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพรรูเวต (pyruvate) โพรพิโอเนต (propionate) และ ซัคซิเนต (succinate) มากไปกว่านี้ยีสต์ยังเป็นแหล่งของกรดอะมิโนอิสระ เช่น ลิวซีน (leucine) ฟีนิลอะลานิน (phenylalanine) ไลซีน (lysine) อาร์จีนิน (arginine) กรดกลูตามิก (glutamic acid) และ วาลีน (valine) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการทำกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และการปลดปล่อยกรดอะมิโนอิสระของยีสต์จะช่วยส่งเสริมการเติบโตของ LAB ได้ นอกจากนี้ ยีสต์ยังมีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อยแลคเตทจาก LAB ส่งผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการศึกษาของ Shimizu *et al.* (2005) กล่าวถึงกลไกการทำงานระหว่าง LAB (*Lactococcus lactis*) และ ยีสต์ (*Kluyveromyces marxianus*) โดย LAB สามารถดูดซึมมอลโตส (maltose) ทำให้มีการผลิตและปลดปล่อยไนซิน (nisin) และแลคเตทออกมาภายนอกเซลล์ โดยไนซินเป็นแบคเทอริโอซินที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ อย่างไรก็ตามยีสต์ไม่สามารถดูดซึมมอลโตสแต่สามารถดูดซึมแลคเตทเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง โดยปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์และการกำจัดแลคเตท ดังแสดงในภาพที่ 2.1 ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen; DO) มีผลต่อความสามารถในการใช้ประโยชน์ของแลคเตท ทำให้ความเข้มข้นของแลคเตทและค่าความเป็นกรด-ด่าง ถูกควบคุมโดยระดับของค่า DO ในสารละลายนั้นๆ



ภาพที่ 2.1 ปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์และการกำจัดแลคเตท
ที่มา: Shimizu *et al.* (2005)

2.5.3 กระบวนการหมักของ MFL

การเกิดกระบวนการหมักของน้ำหมักจุลินทรีย์นั้นเกิดจากการหมักของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่ออกจากเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ ซึ่งอาจเกิดได้ 2 กระบวนการ คือเกิดจากกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์และเกิดกระบวนการที่ของเหลวภายในเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ถูกดึงดูดให้ไหลออกมานอกเซลล์ด้วยสารละลายที่มีความเข้มข้นมากกว่ากระบวนการที่เกิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรียกว่า กระบวนการออสโมติก (osmotic pressure) ซึ่งการใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงเป็นวิธีการหนึ่งในการดึงของเหลวออกจากเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ในการหมัก แต่ไม่ควรใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นที่สูงเกินไป เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ช่วยในการย่อยอาจเป็นอันตรายได้เช่นกัน ซึ่งในกระบวนการหมักน้ำหมักจุลินทรีย์ควรพิจารณาองค์ประกอบของการหมักเป็นปัจจัยที่สำคัญ

2.5.3.1 อาหารจุลินทรีย์ใน MFL

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เช่น ยีสต์ จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาลได้ดี ในส่วนของแบคทีเรียบางชนิดสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดี ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จำเป็นที่จะต้องการธาตุอาหารที่สำคัญ 2 ชนิด คือ คาร์บอน (carbon) โดยเป็นองค์ประกอบพวกน้ำตาล แป้ง เซลลูโลสในพืช และไนโตรเจน (nitrogen) ที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนซึ่งพบมากในสัตว์ ในสูตรการหมักน้ำหมักจุลินทรีย์จะมีการเติมกากน้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งอาหารสำคัญให้จุลินทรีย์ผลิตกรดเติบโตและช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางธาตุอาหาร และกลิ่นของน้ำหมัก โดยคุณค่าทางโภชนะของกากน้ำตาลคือ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (nitrogen free extract; NFE) 65 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 3-5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 8-10 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงน้ำตาล (50-60 เปอร์เซ็นต์) ประกอบด้วย ซูโครส (25-40 เปอร์เซ็นต์) กลูโคส (8.6 เปอร์เซ็นต์) และฟรุคโตส (15.5 เปอร์เซ็นต์) (สุรีพร จันทร์แสนตอ. 2538) กากน้ำตาลสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารประเภทคาร์บอนและเป็นแหล่งที่ให้พลังงานให้กับกิจกรรมของเซลล์จุลินทรีย์ในกระบวนการหมักได้อย่างดี

นอกจากนี้อาหารของจุลินทรีย์ที่มีใน MFL ยังประกอบด้วย ยูเรีย ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen; NPN) มีปริมาณไนโตรเจนสูงสามารถแตกตัวเป็นแอมโมเนียได้อย่างรวดเร็วซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้อย่างทันที โดยเซลล์จะนำไปสร้างกรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก และโปรตีน (เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ และคณะ. 2555) นอกจากนี้ยูเรียจัดเป็นธาตุอาหารที่สำคัญในกระบวนการทำ MFL รองจากคาร์บอน โดยยูเรียช่วยเพิ่มการใช้น้ำตาลได้สูงในระยะเวลานานซึ่งส่งผลทำให้กระบวนการหมักมีประสิทธิภาพมากขึ้นและช่วยลดระยะเวลาในการหมักได้อีกด้วย โดยทั่วไปมีสารหลายชนิดที่สามารถนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ เช่น แอมโมเนียมไนเตรท (ammonium nitrate) แอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) และแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate) เป็นต้น แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบถึงคุณภาพแล้วยูเรียสามารถให้ผลได้เทียบเท่า แต่มีราคาที่ถูกกว่า ดังนั้นการใช้ยูเรียในการหมักจึงสามารถลดต้นทุนลงได้ (นพวรรณ ด่านบำรุงตระกูล และคณะ. 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3.2 อากาศที่มีในกระบวนการหมัก

กระบวนการหมักจะเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยจุลินทรีย์ที่มีใน MFL ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ประเภทที่ต้องการออกซิเจนเป็นการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดที่ต้องการออกซิเจนสำหรับกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ เพื่อสร้างเป็นพลังงาน และอาหารให้แก่เซลล์ แต่เมื่อออกซิเจนในน้ำ และอากาศหมด จุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจนจะลดน้อยลงและหมดไปจนเหลือเฉพาะการหมักจากจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยการหมักแบบไม่ต้องการออกซิเจน เป็นการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจนสำหรับกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ เพื่อสร้างเป็นพลังงานและอาหารให้แก่เซลล์ การหมักชนิดนี้จะเกิดเป็นส่วนใหญ่ในกระบวนการหมัก ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน อีกทั้งยังแก๊สซัลไฟด์ปล่อยออกมาเล็กน้อยในการดำรงชีวิต

2.5.3.3 อุณหภูมิในกระบวนการหมัก

จุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีการเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยในระหว่างกระบวนการหมักจะมีพลังงานคาร์บอนเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลจากจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลในการหมัก ความร้อนที่เกิดขึ้นจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ช้าลง หากมีความร้อนสูงมากเท่าไรโอกาสที่จุลินทรีย์จะมีชีวิตอยู่ได้ก็จะน้อยลง (จุลินทรีย์ตาย) หากอุณหภูมิต่ำ (มีความเย็น) จุลินทรีย์จะทำงานได้ช้าลงเช่นเดียวกัน (อัญชุลี ชินสุข. 2557) ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อยู่ที่ 33-40 องศาเซลเซียส (ศูนย์เทคโนโลยีที่เหมาะสม. 2557)

2.5.4 คุณสมบัติทั่วไปของ MFL

(1) ค่าความเป็นกรดด่าง เนื่องจากกระบวนการหมักแต่ละชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายจะสร้างกรดอินทรีย์ในปริมาณที่มากได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทิริค และ เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมด้วย ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ยอยู่ที่ 3.6-4.4

(2) คุณสมบัติทางเคมี มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; E.C) ที่แตกต่างกัน โดยพบว่าความเข้มข้นของปริมาณแร่ธาตุและสารประกอบจุลินทรีย์ต่างๆ อยู่ระหว่าง 2-12 desimen/meter (ds/m) และมีความสมบรูณ์ของกระบวนการหมักซึ่งปริมาณคาร์บอน (organic carbon; OC) จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจน ส่วนใหญ่จุลินทรีย์จะใช้คาร์บอนเพื่อสังเคราะห์สารประกอบที่มีลักษณะเป็นโครงสร้างหลักของเซลล์และใช้ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีน โดยพิจารณาจากอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ration) มีค่าระหว่าง 1/2 - 20/1 (ออมทรัพย์ นพอมรบดี และคณะ. 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) ธาตุอาหาร ธาตุอาหารที่สำคัญมีทั้งธาตุอาหารหลักที่มีปริมาณสูงและธาตุอาหารรอง รวมถึงยังมีธาตุอาหารเสริม ดังแสดงในตารางที่ 2.8

(4) เอนไซม์ จุลินทรีย์ที่มีอยู่จะผลิตน้ำย่อยหรือเอนไซม์เพื่อแปรสภาพสารอินทรีย์ โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่เปลี่ยนกลูโคสให้เป็นไพรูเวท สุดท้ายจะทำให้ได้กรดอะซิติกที่สามารถรวมตัวกับธาตุอาหารรองที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

ตารางที่ 2.8 แสดงชนิดของธาตุอาหารในน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (MFL)

ธาตุอาหาร	ชนิด
ธาตุอาหารหลัก	ไนโตรเจน (nitrogen)
	ฟอสฟอรัส (phosphorus)
	โพแทสเซียม (potassium)
ธาตุอาหารรอง	แคลเซียม (calcium)
	แมกนีเซียม (magnesium)
	ซัลเฟอร์ (sulfur)
ธาตุอาหารเสริม	เหล็ก (iron)
	คลอไรด์ (chloride)

ที่มา: ดัดแปลงจาก ออมทรัพย์ นพอมรบดี และคณะ (2547)

2.5.5 ลักษณะทั่วไปของ MFL

(1) เป็นของเหลวมีสีน้ำตาลแก่ กลิ่นอมเปรี้ยว อมหวาน

(2) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและไม่สามารถใช้ร่วมกับสารเคมียาปฏิชีวนะได้

(3) ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งที่มีชีวิต

(4) ช่วยปรับสภาพความสมดุลของสิ่งที่มีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

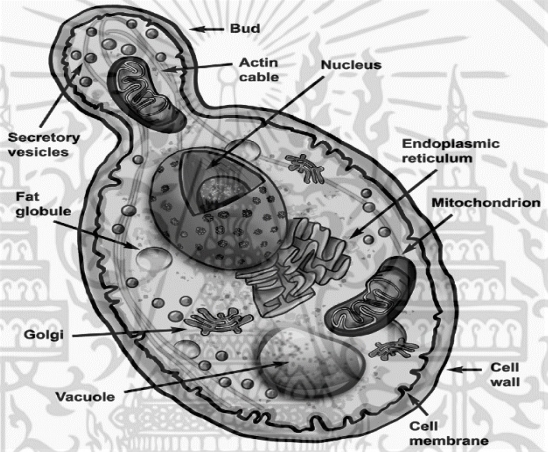
(5) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถนำไปเพาะขยาย เพื่อช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ได้

(6) สามารถเก็บรักษาไว้ได้ประมาณ 6 เดือนที่อุณหภูมิปกติที่ 25-45 องศาเซลเซียส โดยปิดฝาให้สนิท อย่าให้อากาศเข้าและอย่าเก็บไว้ในตูเย็นทุกครั้งที่นำออกมาใช้จะต้องรีบปิดฝาให้สนิทการขยาย MFL ควรใช้ภาชนะและน้ำที่สะอาดและใช้ให้หมดในเวลาที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นราที่มีการดำรงชีวิตในรูปแบบเซลล์เดียว (unicellular form) มีรูปร่างหลายแบบแตกต่างกันออกไป ได้แก่ กลม (round) รี (ellipsoidal) หรือ รูปไข่ (oval) ยีสต์บางชนิดมีการสร้างเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม (true mycelium และ pseudo mycelium) ขนาดของเซลล์บางชนิดมีความยาวของเซลล์ 2-3 ไมโครเมตร ในขณะที่บางชนิดมีความยาวอยู่ที่ 20-50 ไมโครเมตร ส่วนความกว้างของเซลล์อยู่ที่ 1-10 ไมโครเมตร ภายในยีสต์ประกอบไปด้วยโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ ผนังเซลล์ (cell wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เพอรพลาสซึม (periplasm) โซโทพลาสซึม (cytoplasm) นิวเคลียส (nucleus) ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) แวคิวโอล (vacuole) และเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัม (endoplasmic reticulum) (สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างภายในเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae*
ที่มา: Walker and Stewart (2016)

2.6.1 การสืบพันธุ์ของยีสต์

ยีสต์มีการสืบพันธุ์ที่สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ

(1) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การแบ่งเซลล์แบบ fission เกิดจากการสร้างผนังเซลล์มาขวางกั้น (cross wall) แยกเซลล์ทั้งสองข้างออกจากกันโดยก่อนที่เกิดการแบ่งเซลล์จะต้องเกิดการเจริญของเซลล์อย่างสมบูรณ์ก่อน

(2) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดจากที่เซลล์ของยีสต์มีเซลล์หรือสปอร์ที่มีนิวเคลียสเป็นแบบ haploid และมี mating type ตรงข้ามกันมารวมกันในไซโตพลาสซึมเป็น diploid มีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis จนได้เซลล์ haploid 4 นิวเคลียส มี 2 ชนิดคือ กลุ่มที่สร้าง ascospore และกลุ่มที่สร้าง basiospore

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ระยะการเจริญเติบโตของยีสต์ (โชคชัย วนภู และคณะ. 2546)

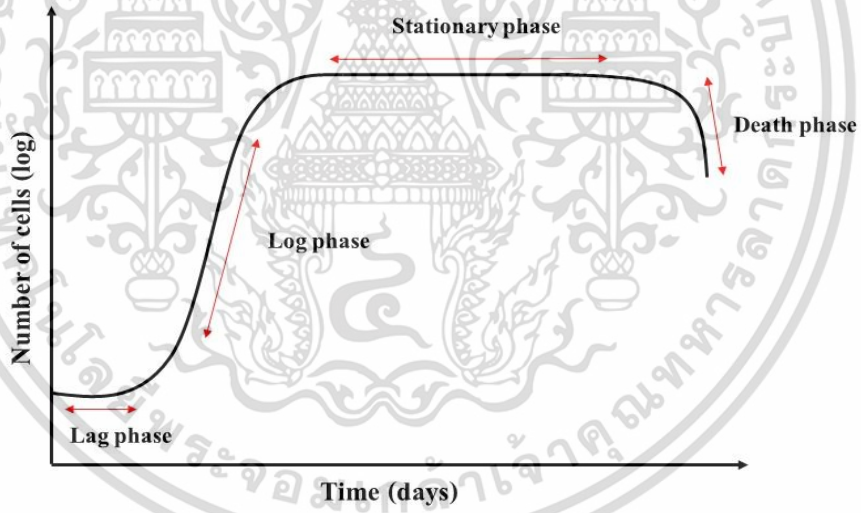
การเจริญของเซลล์ยีสต์แบ่งออกเป็น 4 ระยะ

(1) ระยะเริ่มต้น (lag phase) เป็นระยะที่ทีเซลล์เริ่มทำการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมเพื่อเริ่มต้นการเจริญเติบโต ระยะนี้จะใช้เวลาที่สั้นประมาณ 1-6 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับการเตรียมหัวเชื้อ ความแข็งแรงของเซลล์ และความสดใหม่ของเซลล์

(2) ระยะการเจริญ (log phase หรือ exponential phase) ระยะนี้จะเริ่มหลังการเกิดระยะเริ่มต้นเสร็จสิ้นประมาณ 30 นาที เซลล์ยีสต์จะเริ่มทำการแตกหน่อเพื่อเพิ่มจำนวน ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นทวีคูณ ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มมากจนมองเห็นเป็นฟองอากาศผุดขึ้นมา ขณะเดียวกันเซลล์ยีสต์ก็เริ่มจับกลุ่มกันเองมากขึ้น

(3) ระยะคงที่ (stationary phase) เมื่อสารอาหารหมดลงการเจริญหรือการแบ่งเซลล์ก็จะเริ่มน้อยลงด้วย จำนวนเซลล์จึงค่อนข้างคงที่ ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง เซลล์ยีสต์เริ่มตกตะกอนมากขึ้น

(4) ระยะตาย (death phase) เป็นระยะที่เซลล์ตาย ตะกอนเซลล์จะเริ่มใส่ขึ้น



ภาพที่ 2.3 ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์

ที่มา: ดัดแปลงจาก Straube *et al.* (2016)

2.6.3 สารอาหารของยีสต์

สำหรับการเจริญเติบโตและพัฒนาของยีสต์นั้นยีสต์จำเป็นต้องการสารอาหารซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน รวมทั้งเป็นธาตุอาหารหลัก (major element) เช่น ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส นอกจากนี้ยังต้องการธาตุอาหารบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดในปริมาณมาก ซึ่งธาตุอาหารเหล่านั้นจัดเป็น ธาตุปริมาณมาก (macro element) ได้แก่ แมกนีเซียม และโพแทสเซียม ในขณะที่ธาตุอาหารบางชนิดยีสต์ต้องการใช้ในปริมาณต่ำ ธาตุปริมาณน้อย (microelement) ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก ทองแดง แมงกานีส นิเกิล โคบอลต์ และโมลิบดีนัม อีกทั้งยีสต์ยังต้องการสารประกอบบางชนิดเพื่อทำหน้าที่เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโต (growth factor) เช่น วิตามิน(vitamin) พิวรีน (purine) ไพริมิดีน (pyrimidine) และนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) (สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549)

2.6.4 คุณสมบัติของยีสต์

ยีสต์มีคุณสมบัติที่สามารถใช้สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งคาร์บอนได้อย่างหลากหลาย เช่น น้ำตาล แป้ง กรดอินทรีย์ กรดไขมัน ไฮโดรคาร์บอน และพอลิเมอร์หลายชนิด ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัย (generally recognized as safe; GRAS) สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนส่วนใหญ่ยีสต์ชอบอุณหภูมิปานกลาง และเจริญได้ดีที่อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20-28 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงสุดไม่เกิน 46 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับแต่ละสปีชีส์ ยีสต์สามารถอยู่อาศัยโดยทั่วไปในธรรมชาติซึ่งสามารถอยู่อาศัยได้ทั้งบนบก (terrestrial habitant) และอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ (aquatic habitat) รวมทั้งอาศัยอยู่ในสภาวะที่มีความรุนแรง (extreme habitant) เช่น มีสภาวะที่มีความเค็มสูงและเย็นจัด ในการเจริญเติบโตยีสต์ไม่จำเป็นต้องมีแสงสว่างโดยยีสต์จะใช้คาร์บอนจากน้ำตาลในขบวนการเจริญเติบโตแล้วทำการเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยีสต์ยังดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดได้โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3-11 แต่โดยส่วนใหญ่ยีสต์จะเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.5-6.5 นอกจากนี้ในเซลล์ยีสต์ยังมีส่วนประกอบของกรดอะมิโน วิตามิน และ growth factor ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต และการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (วาสนา ศิริแสน และคณะ. 2556)

2.6.5 ประโยชน์ของยีสต์

เป็นแหล่งธาตุอาหารเสริม (nutritional supplement) เซลล์ของยีสต์มีองค์ประกอบทางเคมีที่มีประโยชน์หลายอย่าง คือมีโปรตีนประกอบประมาณ 47-50 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์ โดยโปรตีนในยีสต์มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด ซึ่งมีปริมาณของไลซีนสูง (lysine) (ตารางที่ 2.9) นอกจากนี้ยังมีอาร์จินีน (arginine) และฮีสทิดีน (histidine) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต มีคาร์โบไฮเดรต 30-35 เปอร์เซ็นต์ โดยประกอบด้วยไกลโคเจน (glycogen) กลูแคน (glucan) และแมนแนน (mannan) ที่สำคัญยีสต์ยังประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบีรวม และธาตุอาหารอื่นๆ ที่สิ่งมีชีวิตต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ แต่ข้อบกพร่องของโปรตีนจากยีสต์ คือปริมาณเมไธโอนีน (methionine) และซีสเตอีน (cysteine) ต่ำ (สาวิตรี ลิ่มทอง. 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.9 องค์ประกอบอะมิโนของโปรตีนจากยีสต์ชนิดต่างๆ (เปอร์เซ็นต์)

	A	B	C	D	E	F	Q
Lysine	9.4	8.1	7.7	7.2	6.9	11.1	7.4
Methionine	-	1.3	1.1	1.0	1.4	1.6	1.8
Tryptophan	1.2	-	-	0.04	1.8	-	1.4
Valine	7.4	5.5	3.5	5.3	4.8	5.8	5.9
Threonine	5.8	4.1	7.6	4.7	5.2	5.6	5.9
Leonine	9.0	6.6	4.4	7.8	7.5	9.6	7.4
Histidine	3.5	2.8	2.0	2.1	2.0	4.0	2.1
Cysteine	1.8	-	-	0.6	-	-	1.1
Alanine	9.1	5.1	7.4	-	-	7.2	-
Arginine	-	8.3	4.7	7.2	3.2	7.4	5.1

A= *S. cerevisiae* Univ. Foods assary.

B= *S. cerevisiae* (Kockova-Kratochvilova 1982).

C= *C. utilis* (Kockova-Kratochvilova 1982).

D= *C. utilis* (Ridgeway *et al.* 1975).

E= *K. marxianus* Univ. Foods assay.

F= *K. marxianus* (Wasserman *et al.* 1961).

G= *C. lipolytica* (Gow *et al.* 1975)

ที่มา: สาวิตรี ลิ่มทอง (2540)

2.7 ศักยภาพการใช้จุลินทรีย์รวมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์มีการใช้สารเติมแต่งอาหารสัตว์จำนวนมาก ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ และสารที่เป็นบัฟเฟอร์ (sodium bicarbonate) เป็นต้น การใช้สารเติมแต่งต่างๆ อย่างไม่ถูกต้องย่อมส่งผลกระทบอย่างเป็นวงกว้าง ทั้งต่อตัวสัตว์ ผู้เลี้ยง และผู้บริโภคไม่ว่าจะเป็นการบริโภคผลิตภัณฑ์ทางด้านเนื้อและนม ซึ่งเกิดจากการมีสารตกค้างของยาปฏิชีวนะภายในตัวสัตว์ เนื่องจากปัญหาเหล่านี้ กลุ่มนักวิจัยทางด้านโภชนศาสตร์สัตว์จึงให้ความสนใจการใช้สารเติมแต่งที่ปลอดภัยในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Barton. 2000) จึงเป็นผลให้จุลินทรีย์เป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องและสามารถทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะได้ การเสริมจุลินทรีย์ในอาหาร (Direct-fed Microbials; DFM) ถูกจัดเป็นโปรไบโอติก (probiotic) อีกชนิดหนึ่งซึ่งมีความปลอดภัยต่อตัวสัตว์รวมไปถึงผู้บริโภคโดยจุลินทรีย์รวมมีศักยภาพในการเป็นแหล่งสารเสริมที่มีประโยชน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อต้องการปรับปรุงประสิทธิภาพของสัตว์ในการใช้อาหารและการป้องกันโรค (Seo *et al*. 2010)

นอกจากนี้ยังช่วยจัดสัดส่วนของจุลินทรีย์ที่ต้องการให้เพิ่มขึ้นในกระเพาะรูเมน (วาสนา ศิริแสน. 2560) และยังมีผลต่อการรักษาความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยอาหารได้อีกด้วย จุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในจุลินทรีย์รวมควรเป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ (วันดี ศิริโชคชัชวาล และคณะ. 2554) เนื่องจากสปอร์นั้นมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมในกระเพาะรูเมน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้จะต้อง มีคุณสมบัติในการทนความร้อนและทนต่อกระบวนการย่อยอาหารภายในกระเพาะรูเมน โดยส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Streptococcus, Bacillus* และ *Propionibacterium* ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก (Lactic acid bacteria; LAB) โดยสายพันธุ์ดังกล่าวมีการใช้กันทั่วไปในโปรไบติก และยังมีสายพันธุ์อื่นๆ ที่สำคัญ เช่น *Megasphaera elsdenii* และ *Prevotella bryantii* จุลินทรีย์เหล่านี้จัดเป็นแบคทีเรียที่ใช้กรดแลกติก (lactic acid utilizing bacteria; LUB) รวมถึงเชื้อรา ยีสต์ หรือจุลินทรีย์อื่นๆ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 องค์ประกอบที่แตกต่างกันโดยเฉลี่ยของกลุ่มหลักของจุลินทรีย์ (% น้ำหนักแห้ง)

Compositions	Fungi	Algae	Yeast	Bacteria
Protein	30.45	40-60	45-55	50-65
Fat	2-8	7-20	2-6	1-3
Ash	9-14	8-10	5-10	3-7
Nucleic acid	7-10	3-8	6-12	8-12

ที่มา: Nasseri *et al*. (2011)

2.7.1 กลไกของจุลินทรีย์รวมในกระเพาะรูเมนสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โดยทั่วไปประชากรของจุลินทรีย์ที่สำคัญภายในกระเพาะรูเมนประกอบด้วย แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดต่อกระบวนการหมักย่อยอาหารภายในกระเพาะรูเมน จึงได้มีการเสริมจุลินทรีย์รวมที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงการทำงานของกระบวนการหมักย่อยอาหารภายในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถช่วยทำให้สภาวะภายในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีสภาวะที่เหมาะสม ส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นแต่ยังมีหลายปัจจัยที่เข้ามาเกี่ยวข้องในการทำงานของจุลินทรีย์รวม เช่น ปริมาณ เวลาในการให้อาหาร ความถี่ และสายพันธุ์ของจุลินทรีย์รวม (Puniya *et al*. 2015) บางชนิดมีอิทธิพลโดยตรงต่อกระเพาะรูเมนในขณะที่บางชนิดมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิทธิพลต่อระบบทางเดินอาหารส่วนอื่นโดยจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นจุลินทรีย์รวมนั้นส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ LAB และยีตส์ หรือเชื้อราบางสายพันธุ์ (McAllister *et al*. 2011) ซึ่งมีกลไกการทำงานเมื่อจุลินทรีย์รวมเข้าสู่กระเพาะรูเมนดังนี้

2.7.1.1 แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก (Lactic acid bacteria; LAB)

จะทำหน้าที่ในการย่อยสลาย คาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (NSC) ได้แก่ น้ำตาล แป้ง และกรดอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งได้ผลผลิตส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติค (lactic acid) และกรดอะซิติกทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง อีกทั้ง LAB ส่งผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ LUB เช่น Megasphaera และ Propionibacterium ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนการผลิตกรดแลคติคมาเป็นกรดโพพิโอนิคเพิ่มขึ้น (เช่น *Propionibacterium spp*.) และสามารถรักษาเสถียรภาพค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนได้ ทั้งนี้เนื่องจาก *Megasphaera elsdenii* สามารถใช้กรดแลคติกและป้องกันไม่ให้ค่าความเป็นความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างเฉียบพลันซึ่งเกิดจากการสะสมของกรดแลคติคในกระเพาะรูเมนเมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณของแป้งสูง

LAB สามารถส่งเสริม Propionibacterium ซึ่งพบมากในกระเพาะรูเมนที่ได้รับอาหารที่มีความเข้มข้นปานกลางโดยเปลี่ยนแปลงแลคเตทเป็นกรดโพพิโอนิค เนื่องจากกรดโพพิโอนิคเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับกระบวนการ gluconeogenesis ในโคนมที่อยู่ในระยะให้นม (Reynoldsa *et al*. 2003) การเพิ่มขึ้นของการผลิตกรดโพพิโอนิค ในกระเพาะรูเมนส่งผลให้เพิ่มการผลิตกลูโคสในตับ (Stein *et al*. 2006) โดยกลูโคสเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์แลคโทส (lactose) เกิดจากการรวมกันของกลูโคสและกาแลคโทส ซึ่งเกิดขึ้นที่ส่วน golgi apparatus ของเซลล์สร้างน้ำนม (secretory cell) และส่งผลต่อเนื่องไปถึงการเพิ่มผลผลิตน้ำนมภายในต่อมผลิตน้ำนม (mammary gland) ทั้งนี้กรดโพพิโอนิคที่เพิ่มขึ้นยังส่งผลต่อการลดไฮโดรเจนที่มีอยู่ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตแก๊สเมทเธนในกระเพาะรูเมน ส่งผลให้การผลิตแก๊สเมทเธนลดลง (ภาพที่ 2.4)

การผลิตสารต้านจุลชีพ หรือแบคเทอริโอซิน (bacteriocins) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยแบคเทอริโอซินมีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่รุนแรงต่อเชื้อโรคภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (Kanmani *et al*. 2013) เนื่องจาก H^+ จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าสู่ภายในทำให้ไซโทพลาสซึม (cytoplasm) มีสภาวะภายในเซลล์ของแบคทีเรียเป็นกรดสูงซึ่งส่งผลให้ความแตกต่างของโปรตอน (electrochemical proton gradient) ภายในเซลล์ของแบคทีเรียเสียไปเซลล์จึงถูกทำลายและไปยับยั้งการนำเข้ากรดอะมิโน (amino acid uptake) ของเซลล์แบคทีเรียจึงส่งผลให้เซลล์ก่อโรคตาย (Nielsen *et al*. 2010)

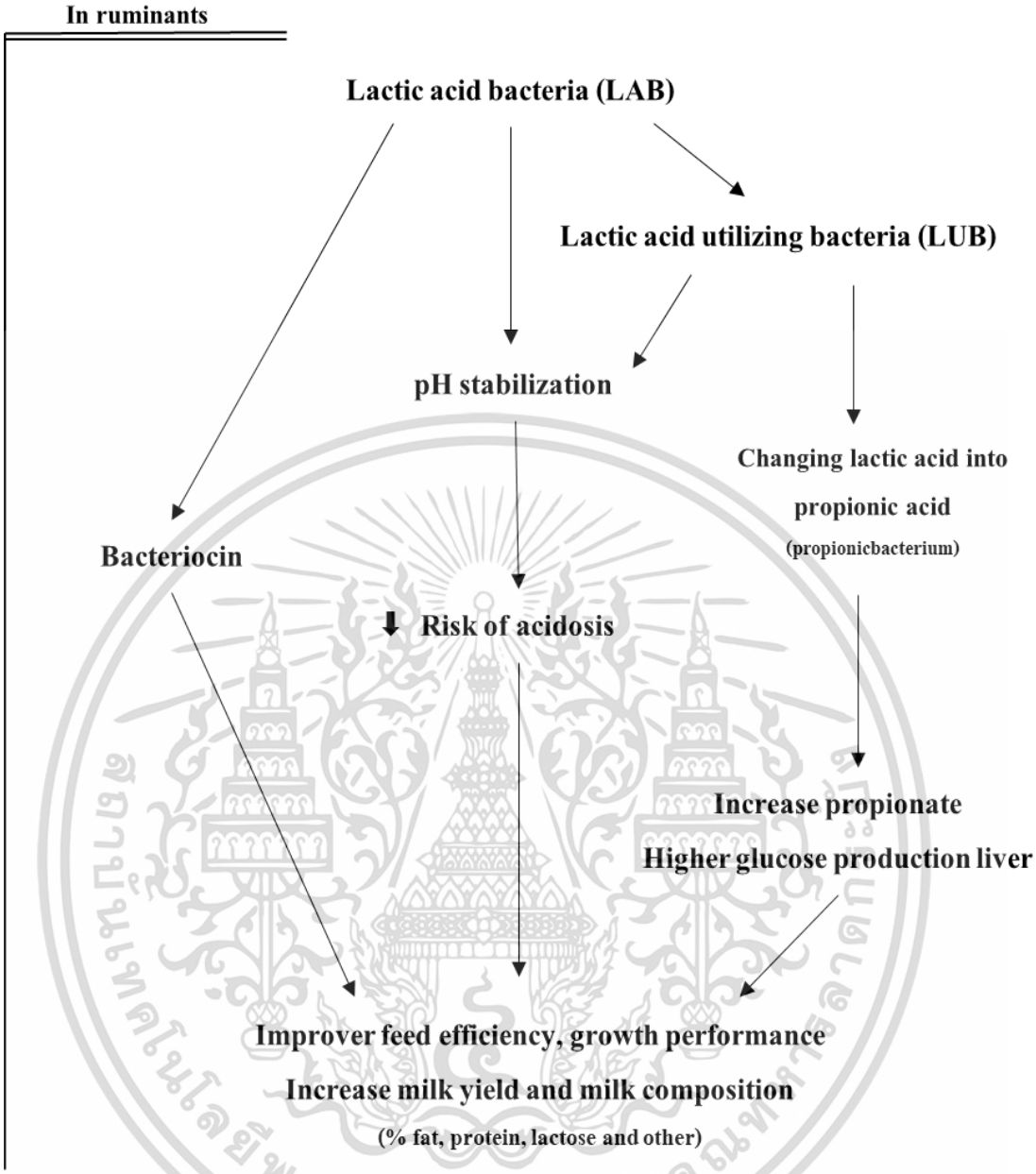
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1.2 เชื้อรา หรือยีสต์ (Yeast)

เมื่อเข้าสู่กระเพาะรูเมนยีสต์ (*S. cerevisiae*) สามารถเข้าแย่งใช้ glucose และ oligosaccharide สายเล็กๆ ที่ได้จากการย่อยของแบคทีเรียที่ย่อยแอมไมโลส (amylolytic bacteria) ที่เกาะติดอยู่กับเม็ดแป้งทำให้มีกลูโคส ที่ใช้ประโยชน์โดยแบคทีเรีย (*Streptococcus bovis*) น้อยลง ยีสต์ช่วยป้องกันการความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมน โดยกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนประชากรของโปรโตซัวที่มีความสามารถในการกินเม็ดแป้ง (engulf) ได้อย่างรวดเร็ว จึงแข่งขันกับแบคทีเรียกลุ่มย่อยแอมไมโลสในการนำใช้สารอาหาร รวมทั้งอัตราการหมักย่อยแป้งของโปรโตซัวจะช้ากว่ากลุ่มย่อยแอมไมโลส และผลผลิตสุดท้ายของการหมักย่อยจะได้เป็น VFA มากกว่ากรดแลคติค (Jouany. 2006) นอกจากนี้ยีสต์ช่วยใช้ออกซิเจนที่เข้าไปในกระเพาะรูเมนพร้อมกับการกินอาหารของสัตว์ในการผลิตพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง (Jouany. 2006) ส่งผลทำให้กระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนได้อย่างแท้จริง ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนเพราะแบคทีเรียบางกลุ่มไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (สุริยะ สะวานนท์. 2551)

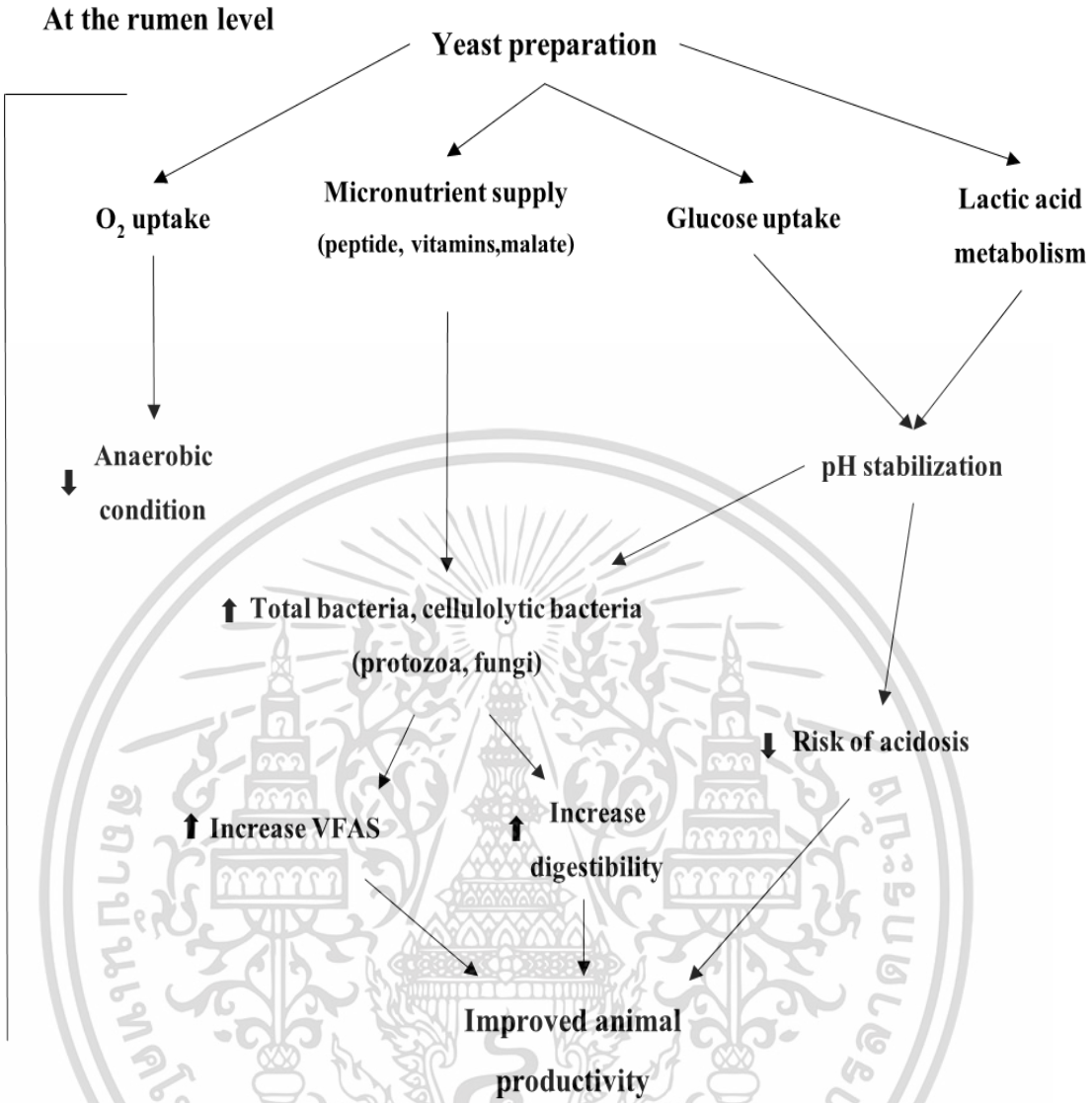
ยีสต์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและปริมาณของแบคทีเรียย่อยเยื่อใย (fibrolytic bacteria) และแบคทีเรียโดยรวมในกระเพาะรูเมนซึ่งอาจจะส่งผลให้การย่อยได้ของเยื่อใยดีขึ้น และอัตราการไหลผ่านของโภชนะ โดยเฉพาะโปรตีนไปยังระบบทางเดินอาหารส่วนหลังได้เร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้การเสริมยีสต์กลุ่ม *S. cerevisiae* ในรูปของยีสต์ที่ยังมีชีวิตหรือที่ตายแล้วสามารถเพิ่มจำนวนแบคทีเรียโดยรวมได้ ส่วนหนึ่งมาจากการเสริมยีสต์ในกลุ่มนี้ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่มแลคติก เช่น *S. ruminantium* ในขณะเดียวกันทำให้การสะสมของแลคติกในกระเพาะรูเมนลดลง ส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนสูงขึ้น และทำให้กระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ย่อยเยื่อใยในขณะเดียวกันยีสต์สามารถเป็นโภชนะที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกระเพาะรูเมน โดยเฉพาะวิตามินบี1 (thiamine) และวิตามินบี3 (niacin) เป็นต้น (ภาพที่ 2.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์รวมในระบบทางเดินอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง
ที่มา: ดัดแปลงจาก Seo *et al.* (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.5 กลไกการทำงานของยีสต์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jouany. (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

2.7.2.1 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการเพิ่มปริมาณการกินได้และการย่อยได้โภชนะ

ความต้องการสารอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กินในแต่ละวันและปริมาณอาหารที่กินยังมีอิทธิพลต่อความต้องการสารอาหารของสัตว์ด้วย เพราะประสิทธิภาพของการย่อย การดูดซึมผันแปรไปตามปริมาณอาหารที่สัตว์กิน อีกทั้งอาหารที่สัตว์ได้รับส่วนใหญ่เป็นพืชอาหารสัตว์หรืออาหารที่มีเยื่อใยสูงจำพวก เซลลูโลส เฮไมเซลลูโลส และลิกนิน โดยมีสัดส่วนประมาณ 15-70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้อาหารสัตว์ยังมีองค์ประกอบของผนังเซลล์และมีโครงสร้างที่รวมตัวกันอย่างแน่นหนาไม่สามารถเข้าถึงได้ง่าย จึงทำให้จุลินทรีย์ที่มีหน้าที่ย่อยเยื่อใยเข้าไปย่อยได้ยาก ซึ่งปัจจุบันมีการเสริมจุลินทรีย์รวมเพื่อช่วยเหนี่ยวนำให้การเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยของจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในกระเพาะรูเมน จากการรายงานของ Piamphon *et al.* (2014) ศึกษาหญ้าเนเปียร์หมักผสมหัวมันสำปะหลังโดยหญ้าเนเปียร์ทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันคือ *Aspergillus niger* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าหญ้าเนเปียร์ที่ทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดส่งผลต่อ ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง (dry matter intake; DMI) (7.7 เป็น 8.5 กิโลกรัมต่อวัน) การกินได้ของโภชนะและการย่อยได้ของโภชนะโดยเฉพาะแหล่งของโปรตีนหยาบ (crude protein; CP) เพิ่มขึ้นจากกลุ่มที่ไม่ได้หมักจุลินทรีย์ (0.8 เป็น 1.0 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ และ 55.1 เป็น 63.3 และ 64.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) สอดคล้องกับการรายงานของ Wanapat *et al.* (2011) รายงานว่าเมื่อทำการเสริมมันเส้นหมักยีสต์สามารถเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีน ไขมันหยาบ (ether extract; EE) และ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF)

นอกจากนี้ Jiang *et al.* (2017) พบว่าผลของการเสริมยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* มีความสามารถในการเพิ่มการย่อยได้ของผนังเซลล์และปริมาณการกินได้สูงขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของอัตราการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม เนื่องจากยีสต์เป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแตกหน่อของเชื้อรา ยีสต์บางสายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรียย่อยสลายเยื่อใย เช่น *Fibrobacter succinogenes* S85 และส่งผลในการลดระยะพักของ *Ruminococcus albus*7, *R. flaefacins* FD1 และ *Butyivibrio fibrisolvens* D1 ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญในการย่อยเซลลูโลส นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ออกซิเจนที่อยู่ในกระเพาะรูเมน ซึ่งอาจเข้ามากับอาหารหรือน้ำที่สัตว์กินเข้าไป ยีสต์จะใช้ออกซิเจนเหล่านี้ในการเมทาบอลิซึมในการผลิตพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตในตัวยีสต์เอง ทำให้ภายในกระเพาะรูเมนมีออกซิเจนต่ำลง ส่งผลให้กระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจนซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่ย่อยเยื่อใยและเชื้อรา (สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการรายงานของ Francia *et al*. (2008) พบว่าการรวมตัวกันของจุลินทรีย์ของ *A. niger* และ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 6.0 และ 26 กรัมต่อกิโลกรัม สามารถปรับปรุงการย่อยได้ของ NDF ทั้งนี้ปริมาณการกินได้ที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากการย่อยได้ที่สูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของการย่อยได้ของเยื่อใยเกิดจากการเพิ่มจำนวนประชากรของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส (cellulolytic bacteria) โดยเชื้อราและยีสต์จัดได้ว่าเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญได้แก่ วิตามิน และแร่ธาตุ ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียย่อยเยื่อใย นอกจากนี้การย่อยได้ของโภชนะโปรตีนเป็นผลมาจาก *A. niger* และ *S. cerevisiae* เป็นตัวกระตุ้นแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) (Piamphon *et al*. 2014) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สำคัญต่อการย่อยโปรตีน แตกต่างจากการรายงานของ Raeth-Knight *et al.* (2007) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของการย่อยได้ของ วัตถุแห้ง NDF และโปรตีนหยาบ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

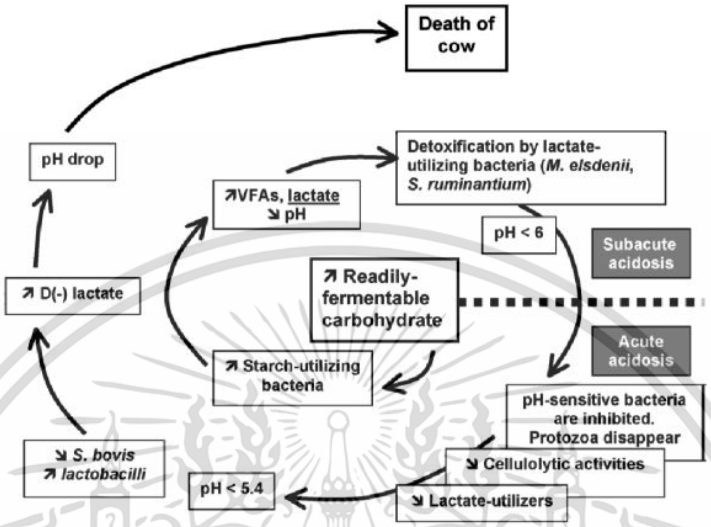
อย่างไรก็ตามมีการรายงานของ Qiao *et al.* (2009) เมื่อทำการเสริม *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 100 กรัมต่อวัน พบว่า *B. subtilis* ไม่มีผลต่อกระบวนการหมักและการไหลผ่านของจุลินทรีย์ รวมไปถึงการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน แต่ *B. licheniformis* สามารถเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใย NDF, เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber ;ADF) และสารอนินทรีย์ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากประชากรจุลินทรีย์ได้รับผลกระทบจากการได้รับ LAB ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของ *F. succinogenes*, *R. flavefaciens* และ *R. albus* ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส ที่สำคัญของสัตว์เคี้ยวเอื้อง กล่าวคือการเสริมด้วยจุลินทรีย์รวมที่ให้ผลแตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ถ้าใช้ในปริมาณที่ต่ำเกินไปอาจไม่มีผล แต่ถ้าใช้ในปริมาณที่สูงเกิดไปอาจส่งผลกระทบตามมาได้ นอกจากนี้อาจมีผลกระทบจากอาหารที่ใช้และสายพันธุ์หรือส่วนผสมของสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้รวมถึงระยะที่เหมาะสมของการใช้จุลินทรีย์รวม (Thompson. 2006)

2.7.2.2 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการเกิดสภาวะกรดในกระเพาะรูเมน

สัตว์เคี้ยวเอื้องโดยปกติจะมีสภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงระหว่าง 6-7 โดยความผิดปกติของค่าความเป็นกรด-ด่างนั้น เกิดขึ้นเมื่อมีการสะสมกรดแลคติกในปริมาณมาก เนื่องจากได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายสูง (readily fermentable carbohydrates; RFC) หรือมีเยื่อใยที่มีประสิทธิภาพต่ำทำให้กลุ่ม LAB มีจำนวนมากกว่ากลุ่ม LUB โดยเฉพาะเมื่อความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนลดลงอย่างต่อเนื่องแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacillus ซึ่งมีความทนทานต่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำสามารถจะเจริญเติบโตแทน *S. bovis* ทำให้เกิดการสะสมกรดแลคติก และความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยง่ายมากขึ้น จนในที่สุดส่งผลให้เกิดสภาวะกรดในกระเพาะรูเมน (Nagaraja and Lechtenberg. 2007) เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6 มีผลทำให้ความหลากหลายของจุลินทรีย์ลดต่ำลง นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเยื่อใยที่สำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ *F. succinogenes, R. albus* และ *R.flavfaciens* ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่า 5.4 (ภาพที่ 2.6) โดยมีการศึกษาการใช้จุลินทรีย์รวมต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อการรักษาความเป็นกรด-ด่างให้อยู่สภาวะปกติภายในกระเพาะรูเมน



ภาพที่ 2.6 แผนผังการเกิดสภาวะเป็นกรดภายในกระเพาะรูเมน
ที่มา: Jouany (2006)

จากการศึกษาของ Dias *et al.* (2018) ทำการเสริม yeast culture ในอาหารที่มีระดับของแป้งที่ต่างกันแบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลอง คือกลุ่มที่ 1 อาหารที่มีปริมาณแป้งต่ำ (23 เปอร์เซ็นต์) ที่ไม่มีการเสริม yeast culture กลุ่มที่ 2 อาหารที่มีปริมาณแป้งต่ำ (23 เปอร์เซ็นต์) ที่มีการเสริม yeast culture กลุ่มที่ 3 อาหารที่มีปริมาณแป้งสูง (29 เปอร์เซ็นต์) ที่ไม่มีการเสริม yeast culture และ กลุ่มที่ 4 อาหารที่มีปริมาณแป้งสูง (29 เปอร์เซ็นต์) ที่มีการเสริม yeast culture ทำการทดลอง 14 สัปดาห์ พบว่าส่งผลต่อค่าของกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มขึ้นและค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมน วัดจากหลังกินอาหาร 24 ชั่วโมง ในกลุ่มที่เสริมด้วย yeast culture สอดคล้องกับการรายงานของ Desnoyers *et al.* (2009) โดยการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างและความเข้มข้นของ VFA ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้นและความเข้มข้นของกรดแลคติกมีแนวโน้มลดลง แสดงให้เห็นว่าการเสริมด้วยยีสต์ช่วยลดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมน โดยยีสต์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถเผาผลาญแลคเตทและเพิ่มประชากร LUB เปลี่ยนเป็นกรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acids; SCFA) (Callaway and Martin. 1997; Dias *et al.* 2018) นอกจากนี้ Brossard *et al.* (2004) พบว่าผลของ *S. cerevisiae* สามารถรักษาความเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมได้โดยการกระตุ้นโปรโตซัวพวก Entodiniomorphid protozoa ซึ่งโปรโตซัวเหล่านี้สามารถกลืนอนุภาคของแป้งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างรวดเร็วและสามาถแย่งจับ substrate กับแบคทีเรียกลุ่มย่อยแป้ง (amylolytic bacteria) ซึ่งกระบวนการหมักแป้งโดยโปรโตซัวนั้นช้ากว่าแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายแป้งและผลผลิตสุดท้ายจะได้ VFA มากกว่าแลกเตท ดังนั้นการเพิ่มจำนวนประชากรของโปรโตซัวจึงอาจมีส่วนช่วยในการป้องกันการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนได้ (วาสนา ศิริแสน. 2560)

Chiquette. (2009) ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนของโคนมที่ได้รับอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) แบ่งออกเป็น 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่เสริม *A. oryzae* ปริมาณ 0.6 กรัมต่อตัวต่อวัน 3) กลุ่มที่เสริม *A. oryzae* ปริมาณ 3 กรัม ต่อตัวต่อวัน และ 4) กลุ่มที่เสริม *Enterococcus faecium* และ *S. cerevisiae* ปริมาณ 2 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่ากลุ่มที่ 4 ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่าง (5.84) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ 1 หรือกลุ่มควบคุม (5.41) นอกจากนี้ Goto *et al*. (2016) รายงานว่าการรวมกันของจุลินทรีย์รวม *Lactobacillus plantarum* 220, *E. faecium* 26 และ *Clostridium butyricum* Miyari ที่ระดับการเสริม 20 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR ส่งผลต่อการรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ (6.4-6.6) สอดคล้องกับการายงานของ Qadis *et al.* (2014) พบว่าการรวมกันของจุลินทรีย์ที่ประกอบไปด้วย *L. plantarum, E. faecium* และ C. *butyricum* ที่ระดับการเสริม 1.5 หรือ 3.0 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR ส่งผลต่อการรักษาความเป็นกรด-ด่างอยู่ในระดับคงที่ (6.6–6.8) ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกระเพาะรูเมนที่เพิ่มกิจกรรมของ LUB โดยมีผลต่อการเพิ่มจุลินทรีย์ชนิด *S. ruminantium* และ *M. elsdenii* ที่สามารถใช้กรดแลคติกเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิกและกรดซัคซินิก (Krehbiel *et al.* 2014)

2.7.2.3 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการเมตาบอลิซึมของไนโตรเจน

กระเพาะรูเมนมีการย่อยโปรตีนโดยแบคทีเรียและโปรโตซัวภายในกระเพาะรูเมนผลผลิตที่ได้คือ เปปไทด์ กรดอะมิโน และแอมโมเนีย โดยแอมโมเนียบางส่วนถูกนำมาสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญในสัตว์เคี้ยวเอื้อง และบางส่วนสัตว์สามารถนำกลับมาใช้ได้อีกในรูปแบบของยูเรีย ซึ่งในระหว่างนี้ปริมาณการผลิตแอมโมเนียในกระเพาะรูเมน มีการสูญเสียไนโตรเจนไปประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนที่ได้รับและเมื่อขับออกจากร่างกายยังเป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม มากไปกว่านั้นอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนะสูงไม่สามารถดูดซึมในลำไส้เล็กเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ได้โดยตรง พารามิเตอร์ที่ใช้วัดผลต่อการปลดปล่อยไนโตรเจนในตัวสัตว์เคี้ยวเอื้อง คือค่าความเข้มข้นของแอมโมดนีย-ไนโตรเจน (ammonia-nitrogen; NH_3-N) ซึ่งมีความแปรปรวนตามอาหารที่กินและความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์

Polyorach *et al.* (2014a) ศึกษาการใช้มันเส้นหมักยีสต์ (yeast fermented cassava chip; YEFECAP) ในหลอดทดลอง (*In vitro* gas production) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

NH_3-N ที่เพิ่มสูงขึ้นจาก 19.8 เป็น 28.6 mg/dl อีกทั้งมีการศึกษาถึงผลการใช้น้ำหมักยีสต์ (yeast fermented liquid; YFL) ร่วมกับน้ำมันมะพร้าวเสริมในมันสำปะหลังแห้ง สามาถเปลี่ยนแปลงค่า NH_3-N อยู่ระหว่าง 12.8-15.2 มิลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (Polyorach *et al.* 2011) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ NH_3-N นี้อาจเนื่องมาจากยีสต์ที่เป็นองค์ประกอบภายใน YEFECAP ส่งผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสโดยยีสต์เป็นแหล่งของ growth factor ของจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใย (Hritove *et al.* 2010) นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ออกซิเจนที่หลงเหลืออยู่ภายในกระเพาะรูเมนทำให้สภาวะภายในกระเพาะรูเมนมีออกซิเจนต่ำลงทำให้กระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่ย่อยเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์ย่อยโภชนะได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงมีผลต่อการเพิ่มประชากรแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน ส่งผลต่อปริมาณการย่อยได้ของโภชนะโปรตีน ทำให้การย่อยสลายโปรตีนเป็น เปปไทด์ กรดอะมิโนได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น NH_3-N ที่สูงขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (Liu *et al*. 2007) โดยการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนนั้นสามารถสังเคราะห์ได้จากคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ และแหล่งของไนโตรเจนจาก NH_3-N ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงได้รับโดยตรงจากกรดอะมิโนและโพลีแปปไทด์ (polypeptide) (Russell *et al*. 2009)

อย่างไรก็ตาม Qadis *et al.* (2014) พบว่าการรวมกันของจุลินทรีย์ที่ประกอบไปด้วย *L. plantarum, E. faecium* และ *C. butyricum* ที่ระดับการเสริม 1.5 หรือ 3.0 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR ไม่มีผลต่อค่า NH_3-N (6.2-8.0 mg/dl) สอดคล้องกับการรายงายงานของ Goto *et al*. (2016) รายงานว่าการรวมกันของจุลินทรีย์รวม *Lactobacillus plantarum* 220, *E. faecium* 26 และ *Clostridium butyricum* Miyari ที่ระดับการเสริม 20 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า NH_3-N ทั้งนี้อาจเกิดจากการเสริมจุลินทรีย์รวมส่งผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส โดยมีการใช้ไนโตรเจน เป็นสารอาหารจึงสงผลต่อการผลิต NH_3-N ที่ลดต่ำลง (Russell *et al*. 1992; Qadis *et al*. 2014)

2.7.2.4 ผลของการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการผลิตแก๊สเมทเธน

สัตว์เคี้ยวเอื้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนในการย่อยสลายอาหารที่สัตว์กินและใช้ประโยชน์จากผลผลิตที่ได้จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนอินทรียวัตถุจากอาหารเพื่อให้ได้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์เอง รวมทั้งจะได้มาซึ่งผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการหมัก ได้แก่ VFA แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สไฮโดรเจน (H_2) เป็นต้น โดยจุลินทรีย์ กลุ่ม methanogens สามารถใช้ผลผลิตสุดท้ายที่เกิดจากกระบวนการหมัก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ร่วมกับการใช้ แก๊สไฮโดรเจน เพื่อนำไปใช้ในการผลิตแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) และมีการปลดปล่อยออกสู่ชั้นบรรยากาศ โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านกระบวนการเรอออกทางปาก (อนุสรณ์ เชิดทอง. 2555) ซึ่งโคมีการขับ CH_4 ออกมาประมาณ 400-500 ลิตรต่อวัน ทำให้สูญเสียคาร์บอนและพลังงานประมาณ 8-12 เปอร์เซ็นต์ ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารแก๊สเมทเธนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องปลดปล่อยออกมาถือว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก จึงมีวิธีที่ในการลด CH_4 ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งการใช้จุลินทรีย์รวมนั้นยังมีการศึกษากันค่อนข้างน้อย

จากงานวิจัยของ Polyorach *et al.* (2014a) เปรียบเทียบการใช้มันเส้นหมักยีสต์ (YEFECAP) กับกากถั่วเหลือง พบว่า YEFECAP มีผลต่อการลดของ CH_4 สอดคล้องกับการรายงานของ Lynch and Martin (2002) รายงานว่าการผลิต CH_4 ลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ หลังจากกระบวนการหมักผ่านไป 48 ชั่วโมง ในการศึกษาแบบ *In vitro* gas production ที่ใช้ถั่วอัลฟัลฟ่าร่วมกับยีสต์มีชีวิต ทั้งนี้อาจจะเป็นผลมาจากเชื้อยีสต์สามารถกระตุ้นให้เกิด acetogens อย่างสมบูรณ์ (หรือลดการสังเคราะห์กรดอะซิติก) หรือมีการดึงไฮโดรเจนมาใช้ ดังนั้นการผลิต CH_4 จึงลดลง นอกจากนี้ Astuti *et al.* (2018) ทำการศึกษา *L. plantarum* 14 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกจากกระเพาะรูเมน ทำการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์คือ *L. plantarum* U32 และ U40 ส่งผลต่อการลดการผลิต CH_4 การลดลงของ CH_4 ผู้ศึกษาได้กล่าวว่าการเสริม LAB อาจกระตุ้นการเจริญเติบโตของ LUB ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มการสังเคราะห์ C_3 เนื่องจากในกระบวนการผลิต C_3 จำเป็นต้องใช้ไฮโดรเจน จึงไม่มีไฮโดรเจนเหลือพอที่ให้จุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตแก๊สเมทเธน (methanogenic bacteria) ใช้ผลิตเป็น CH_4 ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Gang *et al.* (2020) พบว่าเมื่อทำการหมักอาหาร TMR ร่วมกับจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันได้แก่ *L. plantarum* (LP), *Enterococcus faecalis* (EF) และ *Enterococcus mundtii* (EM) เป็นเวลา 45 วัน ทำการศึกษาในหลอดทดลองหลังผ่านไป 72 ชั่วโมง พบว่า *L. plantarum* มีแนวโน้มที่จะลด CH_4 ในขณะที่ *E. faecalis* และ *E. mundtii* เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสัดส่วนอาหารข้นและอาหารหยาบ มีผลต่อการผลิต CH_4 กล่าวคืออาหารข้นที่มีปริมาณเกินกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของ VFA จาก C_2 เป็น C_3 (Pedreira *et al.* 2013) ส่งผลให้มีสัดส่วนของ C_2:C_3 ต่ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนและจำนวนโพรโตซัวลดลง ยับยั้งการเจริญเติบโตและลดกิจกรรมของ methanogens ได้ (Aguerre *et al.* 2011)

2.7.2.5 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมัก

ได้มีการศึกษาถึงผลของจุลินทรีย์ต่อระบบนิเวศวิทยาและกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการหมัก จากรายงานของ Krehbiel *et al.* (2014) เมื่อทำการเสริมอาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ในแม่โคให้นมที่ได้รับผ่าน cannula เพื่อกระตุ้นให้เกิด acidosis พบว่าการให้อาหารที่เสริมด้วย *L. acidophilus* (5×10 cfu/d)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถลดระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำกว่า 6 ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม โดยมีผลต่อการเพิ่มจุลินทรีย์ใช้กรดเลคติกชนิด *S. ruminantium* ที่สามารถใช้กรดแลกติกเพื่อผลิต C_3 และกรดซัคซินิกโดยมีการผลิตไฮโดรเจนได้ต่ำกว่า *M. elsdenii* (Asanuma and Hino. 2004) นอกจากนี้ Brossard *et al*. (2011) พบว่าผลของ *S. cerevisiae* สามารถรักษาความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมได้ จากการศึกษาของ Chung *et al.* (2011) ในหลอดทดลองพบว่าการเสริม *S. cerevisiae* (1×10^{10} cfu ต่อตัวต่อวัน) มีผลต่อการเพิ่ม VFA หลักๆ ที่สำคัญได้แก่ C_2, C_3, C_4 และสัดส่วนของ C_2:C_3 สอดคล้องกับการรายงานของ Polyorach *et al*. (2014a) พบว่ามันเส้นหมักยีสต์ (YEFECAP) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ VFA และ C_3 ในขณะที่สัดส่วนของ C_2:C_3 ลดต่ำลง จากการศึกษาของ Doto *et al.* (2017) เปรียบเทียบการเสริมยีสต์ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นคือ yeast culture (YEC), YEC กับ *B. licheniformis* (YBL) หรือ YEC กับ *C. butyricum* (YCB) พบว่า YBL และ YEC มีผลต่อ C_4 เพิ่มขึ้น (3.08 และ 4.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างของ VFA, C_2, C_3 และแอมโมเนีย เนื่องจากยีสต์มีชีวิตจะสามารถใช้ออกซิเจนในการเผาผลาญน้ำตาลและ oligosaccharide สายสั้นๆ จากอาหารและได้มีการผลิต เอทานอล กลีเซอรอล เปปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งผลผลิตเหล่านี้สามารถใช้ประโยชน์ได้โดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ภายในกระเพาะรูเมน และการใช้ออกซิเจนของยีสต์ยังช่วยให้เกิดสภาวะที่เหมาะสม คือสภาวะที่ไร้ออกซิเจนซึ่งสภาวะนี้จะทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สำคัญโดยเฉพาะแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส แบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน และแบคทีเรียที่ย่อยสลายแป้ง เป็นต้น

Jeyanathan *et al.* (2016) ศึกษาการเสริม *Propionibacterium freudenreichii* 53-W, *L. pentosus* D31 และ *L. bulgaricus* D1 ในแกะพบว่า *L. bulgaricus* D1 และ *P. freudenreichii* 53-W ส่งผลต่อการลดการผลิต CH_4 (0.34 เป็น 0.26 และ 0.33 เป็น 0.28) แต่ *L. pentosus* D31 เพิ่ม VFA ที่สำคัญได้แก่ C_2, C_3 และ C_4 (67.1 เป็น 60.4, 17.3 เป็น 19.5 และ 16.3 เป็น 13.2 mol/100mol ตามลำดับ) อีกทั้งยังลดสัดส่วนของ C_2:C_3 (3.9 เป็น 3.1) ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีการทำงานภายในกระเพาะรูเมนที่แตกต่างกันซึ่ง *L. bulgaricus* D1 และ*P. freudenreichii* 53-W จัดเป็น LAB มีผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่เจริญเติบโตในสภาวะนี้ตายได้ รวมถึงส่งผลต่อการลดลองของแบคทีเรียที่ผลิต CH_4 ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Polyorach *et al*. (2018) ศึกษามันสำปะหลังที่เสริมด้วยจุลินทรีย์แบ่งออกเป็น 1) กลุ่มที่ไม่ได้เสริม 2) เสริมด้วยยีสต์ 3) จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (EM) และ 4) จุลินทรีย์รวมคือ ยีสต์ และ EM (EMY) พบว่ากลุ่มที่เสริมด้วยยีสต์ และ EMY สามารถเพิ่ม VFA, แอมโมเนีย และลดการผลิต CH_4 ซึ่ง EM มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญคือ LAB ที่มีผลทำให้กรดแลคติคคงที่ในกระเพาะรูเมนช่วยให้จุลินทรีย์โดยรวมในการปรับการสะสมกรดแลคติคกระตุ้นให้ LUB ทำให้กระเพาะรูเมนมีการหมักได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของผลผลิตที่ได้จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับปรุงกระบวนการหมักของจุลินทรีย์รวมนั้นอาจเกิดจากความหลากหลายของการทำงานของจุลินทรีย์รวม (ตารางที่ 2.11)

ตารางที่ 2.11 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Species	Total VFA	C_2 (%)	C_3 (%)	C_4 (%)	C_2:C_3 (%)	CH_4	NH_3-N	Source
Control	32.4	82.2	15.0	2.71[ab]	5.24	-	9.86	
yeast cultur (YEC),	34.4	79.6	18.3	2.15[b]	4.26	-	8.78	Doto and
YEC + B.	34.7	80.8	16.2	3.08[ab]	4.85	-	12.57	Wang
licheniformis (YBL)	34.7	77.3	17.3	4.76[a]	4.55	-	9.03	(2017)
YEC + C.								
butyricum (YCB)								
Control	47.1	72.2	17.8	9.32	4.12	-	12.8	
Enterobacter sp. +								Kwak *et*
Bacillus sp. +	47.2	73.1	16.7	9.50	4.63	-	12.5	*al.* (2016)
Lactobacillus sp.+								
S. cerevisiae								
control	68.3	52.8	17.3	16.4	3.1	0.34	-	
P. freudenreichii	87.6	54.6	18.2	16.3	3.0	0.26[1,2]	-	Jeyanathan
53-W	73.5	67.1	17.3	13.2	3.9	0.36	-	*et al.*
control	98.1	60.4	19.5	14.0	3.1	0.29	-	(2016)
L. pentosus D31	58.7	60.4	17.5	13.4	3.4	0.33	-	
control	65.7	58.2	18.6	14.1	3.1	0.28[1,2]	-	
L. bulgaricus D1								
control	88.3[abc]	62.2[a]	27.5[d]	10.4	2.3[b]	24.5[b]	20.4[d]	Polyorach
Yeast + EM	96.9[a]	52.4[d]	35.9[a]	11.7	1.5[c]	18.4[c]	26.6[a]	*et al.*
								(2018)

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ศักยภาพการใช้ยีสต์ต่อการให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม

การผลิตน้ำนมของโคนมมีผลกระทบหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำนมและคุณภาพน้ำนมที่ได้ เช่น สภาพแวดล้อม ขั้นตอนการรีดนม และอาหารสัตว์ เพื่อต้องการลดปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลกระทบเชิงลบแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมได้มีการนำใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารให้มีคุณภาพสูงเพื่อเพิ่มศักยภาพการให้แก่ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม จากการศึกษาของ Polyorach *et al.* (2015) โดยนำผงเปลือกมังคุดผสมร่วมกับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (YEFECAP) โดยมีระดับการเสริมอยู่ที่ 0, 100, 200 และ 300 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าที่ระดับการเสริม 300 กรัมต่อตัวต่อวัน ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้สูงกว่าระดับการเสริมอื่นๆ อยู่ที่ 14.3 กิโลกรัมต่อวัน อีกทั้งส่งผลต่อการเพิ่มองค์ประกอบน้ำนมโดยเฉพาะโปรตีนสูงอยู่ที่ 3.6 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

นอกจากนี้ Dias *et al.* (2018) ได้ทำการเสริม yeast culture ในอาหารที่มีระดับของแป้งที่ต่างกัน โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลอง คือ 1) อาหารที่มีปริมาณแป้งต่ำ (23 เปอร์เซ็นต์) ที่ไม่มีการเสริม yeast culture 2) อาหารที่มีปริมาณแป้งต่ำ (23 เปอร์เซ็นต์) ที่มีการเสริม yeast culture 3) อาหารที่มีปริมาณแป้งสูง (29 เปอร์เซ็นต์) ที่ไม่มีการเสริม yeast culture และ 4) อาหารที่มีปริมาณแป้งสูง (29 เปอร์เซ็นต์) ที่มีการเสริม yeast culture โดยทำการทดลองในแม่โคนมจำนวน 56 ตัว ทำการทดลอง 14 สัปดาห์ พบว่าแม่โคนมที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณแป้งสูงจะผลิตน้ำนมได้มากกว่าโคนมที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณแป้งต่ำ (1.5 กิโลกรัม) และกลุ่มที่มีการเสริม yeast culture มีแนวโน้มผลิตน้ำนมได้มากกว่ากลุ่มควบคุม (23 เปอร์เซ็นต์ = 39.6 และ 29 เปอร์เซ็นต์ = 40.8 กิโลกรัมต่อวัน) อีกทั้งยังส่งผลต่อค่า 3.5% FCM (fat corrected milk) และ ECM (energy corrected milk) เพิ่มขึ้น 2.0 กิโลกรัมต่อวัน และในทางเดียวกันสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ไขมันนม (1.55 กิโลกรัมต่อวัน) เพิ่มปริมาณโปรตีนแท้ในน้ำนม (milk true protein) (1.18 กิโลกรัมต่อวัน) และเพิ่มปริมาณน้ำตาลแลคโทสสูงขึ้นเช่นกัน (1.98 กิโลกรัมต่อวัน) สอดคล้องกับการรายงานของ Yuan *et al.* (2015) พบว่าเมื่อเสริมยีสต์ ที่ระดับ 0, 30, 60 และ 90 กรัมต่อวัน สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนม 45.3, 42.6, 47.8 และ 46.7 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ รวมไปถึงสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ไขมันได้อีกด้วย นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลแลคโตส ใกล้เคียงกับการรายงานของ Zhao *et al.* (2012) ได้ทดลองเสริมยีสต์ที่ระดับ 25 และ 50 กรัมต่อวัน ในโคนมพบว่าการเสริมยีสต์ที่ระดับ 50 กรัมต่อวัน มีผลทำให้ปริมาณน้ำนมและน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม

การเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลแลคโตสเกิดจากการเพิ่มขึ้นของ C_3 หรือการลดลงของอัตราส่วนของ C_2:C_3 เนื่องจาก C_3 เป็นสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการ gluconeogenesis และการเพิ่ม gluconeogenesis ในตับจะช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสโดยต่อมน้ำนมเพื่อหลั่งแลคโตสใน lumen มากขึ้น โดยแลคโตสเป็นสารควบคุมการเกิดกระบวนการออสโมซิส (osmosis system)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของการผลิตน้ำนม โดยการเพิ่มแลคโทสนั้นส่งผลต่อการเพิ่มของเหลวของส่วนประกอบน้ำนมซึ่งอาจเพิ่มแลคโทสทั้งหมดได้ (Stein *et al.* 2006)

จากการรายงานของ Zhu *et al.* (2016) ที่มีการเสริม *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (SCFP) ในข้าวโพดบนละเอียด โดยทดลองในโคนม แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง 1) เสริม SCFP ที่ 0 กรัม และข้าวโพดบดละเอียด 240 กรัม 2) เสริม SCFP ที่ 120 กรัม และข้าวโพดบดละเอียด 120 กรัม และ 3) เสริม SCFP ที่ 240 กรัม และข้าวโพดบดละเอียด 0 กรัม แต่ละกลุ่มการทดลองมีแม่โคจำนวน 27 ตัว โดยทำการเสริมให้โคนมเป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าการเสริม SCFP ของกลุ่มที่ 3 ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำนมเป็น 21.5 กิโลกรัมต่อวัน เพิ่มขึ้นจากกลุ่มที่ไม่ได้เสริม (20.8 กิโลกรัมต่อวัน) เนื่องจากการใช้ SCFP มีผลต่อสมดุลของกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ซึ่งถ้าอยู่ในสภาวะที่ทำให้กระเพาะมีความสมดุลจะช่วยให้การย่อยแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยเยื่อใยทำงานได้ดีขึ้นและยังเพิ่มประสิทธิภาพการกินได้ของวัตถุแห้ง (DMI) มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน นอกจากนี้องค์ประกอบของน้ำนม (milk composition) เพิ่มสูงขึ้น เช่น ไขมันนมและโปรตีนนม ซึ่งการเพิ่มระดับโปรตีนในน้ำนมอาจเกิดจากกระบวนการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนที่ดีขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมน (Stein et al. 2006) ที่สามารถผลิตกรดอะมิโนและแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้น โดยโคนมสามารถดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนผ่านลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดและถูกนำไปใช้ประโยชน์ใน mammary gland เพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมได้ (วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546)

อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Muruz and Gul (2020) ศึกษาการเสริมยีสต์มีชีวิต (Live yeast, LY) สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ร่วมกับอาหาร TMR แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่ไม่ได้เสริม และ 2) กลุ่มที่เสริม *S. cerevisiae* ปริมาณ 5 กรัม ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 70 วัน พบว่ากลุ่มที่เสริม *S. cerevisiae* สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยอยู่ที่ 0.42 กิโลกรัมต่อวัน และเพิ่มค่า 4% FCM เฉลี่ยอยู่ที่ 2.44 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำนมพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Moallem *et al.* (2009) กล่าวว่าเสริมยีสต์มีชีวิตสายพันธุ์ *S. cerevisiae* ปริมาณ 1 กรัม พบว่าผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 1.5 กิโลกรัม (4.1 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ร่วมถึงไม่มีความแตกต่างในเปอร์เซ็นต์ไขมันนมและโปรตีนนม แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตค่า 4% FCM ในกลุ่มที่ทำการเสริม *S. cerevisiae* มีค่ามากกว่าในกลุ่มควบคุม อยู่ที่ 34.8 และ 32.8 กิโลกรัม ตามลำดับ กล่าวคือการไม่เปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบน้ำนมอาจเกิดจากยีสต์ไม่ส่งผลต่อการย่อยได้ของเยื่อใยได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Dias *et al.* 2018) อย่างไรก็ตามความแตกต่างของผลผลิตในตัวสัตว์ได้รับมีอิทธิพลจากการให้สัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น และปริมาณการกินได้ของสัตว์ เนื่องจากการสังเคราะห์องค์ประกอบน้ำนมส่วนใหญ่ได้มาจากโภชนะที่โคนมได้รับ รวมถึงระยะการให้น้ำนม ปริมาณที่แตกต่างกันของปริมาณการเสริมและประเภทของยีสต์ (Jiang *et al*. 2017) (ตารางที่ 2.12)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ศักยภาพการใช้จุลินทรีย์รวมต่อการให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม

การเพิ่มผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมนอกจากนิยมใช้ยีสต์แล้วปัจจุบันได้มีการศึกษาการใช้จุลินทรีย์รวมเพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งได้มีการรายงานของ Gao *et al*. (2020) ใช้อาหารผสมครบส่วน (TMR) ร่วมกับการเสริมยีสต์และ LAB โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่เสริมด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) 3) กลุ่มที่เสริมด้วย LAB (*Lactococcal*) และ 4) กลุ่มที่เสริมร่วมระหว่างยีสต์และ LAB โดยมีระยะเวลาในการทดลอง 3 ระยะคือ 0, 20 และ 40 วัน พบว่ากลุ่ม (4) ที่ระยะ 40 วันส่งผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ไขมันนม (4.23 เปอร์เซ็นต์) โปรตีนนม (4.02 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่ากลุ่มที่ (1), (2) และ (3) รวมถึงเปอร์เซ็นต์แลคโตสเพิ่มขึ้นทั้งกลุ่มที่ (2), (3) และ (4) อยู่ที่ 5.12, 5.28 และ 5.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใกล้เคียงกับการรายงานของ Xu *et al*. (2017) รายงานว่า เมื่อทำการเสริม *Lactobacillus casei* Zhang และ *Lactobacillus plantarum* P-8 ที่ระดับการเสริม 50 กรัมต่อวัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ระยะเวลาคือ 0, 15 และ 30 วัน พบว่ามีผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นของระยะเวล 30 วัน (33.43 กิโลกรัมต่อวัน) รวมถึงการทำให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีความเสถียรภาพและลดความเสี่ยงของเชื้อก่อโรค การเสริมจุลินทรีย์รวมมีผลทำให้กรดแลคติคคงที่ในกระเพาะรูเมนช่วยให้จุลินทรีย์โดยรวมในการปรับการสะสมของกรดแลคติค กระตุ้น LUB ทำให้กระเพาะรูเมนมีกระบวนการหมักได้ดียิ่งขึ้น (Polyorach *et al*. 2018) อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์โปรตีนนม การเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนที่ได้จากแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน สามารถผลิตกรดอะมิโนถึงสองในสามของกรดอะมิโน บางชนิดมีลักษณะเป็นโปรตีนที่มีศักยภาพและแอมโมเนียที่สัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของผลผลิตที่ได้จากการปรับปรุงกระบวนการหมักของจุลินทรีย์รวมนั้นอาจเกิดจากความหลากหลายของการทำงานของจุลินทรีย์รวม

Sallam *et al*. (2019) ศึกษาผลของการทำงานร่วมกันของ *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* ในอาหาร TMR ที่มีส่วนผสมของข้าวโพดหมัก แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่เสริมด้วย *S. cerevisiae* 3.5 กรัม 3) กลุ่มที่เสริมด้วย *A. oryzae* 3.5 กรัม และ 4) กลุ่มที่เสริมด้วย *S. cerevisiae* 3.5 กรัม ร่วมกับ *A. oryzae* 3.5 กรัม โคนมแต่ละกลุ่มจะได้รับเป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ (3) และ (4) สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมอยู่ที่ 24.6 และ 24.2 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของน้ำนมไม่มีความแตกต่างกัน ในทางกลับกันกลุ่มที่ (3) ส่งผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ไขมันนม สอดคล้องกับการรายงานของ Zicarelli *et al*. (2016) ทำการศึกษาการเสริม *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ในแกะตัวเมีย โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่เสริมด้วย *S. cerevisiae* และ 3) กลุ่มที่เสริมด้วย *A. oryzae* ร่วมกับ *S. cerevisiae* 20 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าเมื่อทำการเสริมในกลุ่มที่ 3 ที่เสริมด้วย *A. oryzae* ร่วมกับ *S. cerevisiae* ส่งผลต่อการลดลงของเปอร์เซ็นต์ไขมันนมอยู่ที่ 4.78, 4.38 และ 4.31 กรัม ตามลำดับ อีกทั้งเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมและแลคโตสไม่มีความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งนี้ *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ส่งผลต่อการบริโภคที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสารอาหารที่จำเป็นเพิ่มขึ้น เช่น คาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีโครงสร้าง (NSC) สำหรับจุลินทรีย์รูเมน โดยกระบวนการทำงานของ *S. cerevisiae* มีผลต่อการเผาผลาญในกระเพาะรูเมน จึงปรับเปลี่ยนการหมักในกระเพาะรูเมนและกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ย่อยเยื่อใยที่สำคัญ (Erasmus *et al*. 2005)

นอกจากนี้ *A. oryzae* มีผลต่อการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ และส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์ได้แก่ อะไมเลส เซลลูโลส และเบต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidase) (Schmidt *et al*. 2004) ซึ่งการปรับปรุงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนก่อให้เกิดการย่อยได้ของเยื่อใยดีขึ้น นำไปสู่การเพิ่มปริมาณการกินได้และประสิทธิภาพของสัตว์ อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ไขมันนมที่ลดลงสามารถอธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากการเจือจางจากการเพิ่มของน้ำเข้าไปใน lumen ของเต้านมและอาจเกิดจากจุลินทรีย์รวมส่งผลให้ C_2 ลดลงซึ่งอาจทำให้ไขมันนมลดลงตามไปด้วย (Stein *et al.* 2006) สอดคล้องกับการรายงานของ Boyd *et al.* (2011) เมื่อทำการเสริม *Lactobacillus acidophilus* NP51 และ *Propionibacterium freudenreichii* NP24 ผสมร่วมกับข้าวโพดหมัก ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของผลผลิตน้ำนมแต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นไขมันนม รวมถึงการรายงานของ Ferraretto and Shaver (2015) ได้ทำการเสริม *L.acidophilus* NP51 และ *P.freudenreichii* NP24 ในอาหาร TMR พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นไขมันนม รวมถึงผลผลิตน้ำนม (ตารางที่ 2.13) กล่าวคือความแตกต่างของผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมอาจเกิดจากการรวมกันของจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบ นอกจากนี้อาจมีผลกระทบจากอาหารที่ใช้ ระยะที่เหมาะสมของการใช้ และสายพันธุ์ของจุลินทรีย์รวม (Thompson. 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.12 ผลของการเสริมยีสต์ต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Supplement Levels (g/d)	Milk yield (kg/d)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total solids (%)	Solid non-fat (%)	Source
0	36.3	3.49	3.20	4.86	-	-	Masek *et al*. (2008)
1	37.8	3.63	3.24	4.91			
0	45.3	4.11	2.99	4.77	-	-	Yuan *et al*. (2015)
30	42.6	4.38	2.89	4.74			
60	47.8	4.33	3.04	4.84			
90	46.7	4.17	3.12	4.85			
0	20.8[b]	4.55	3.44	4.77	13.8	-	Zhu *et al*. (2016)
120	21.3[ab]	4.65	3.44	4.74	13.8		
240	21.5[a]	4.54	3.41	4.80	13.7		
0	45.3	4.11	2.99	4.77	-	-	Dias *et al*. (2018)
30	42.6	4.38	2.89	4.74			
60	47.8	4.33	3.04	4.84			
90	46.7	4.17	3.12	4.85			
0	23.14	3.94	3.27	4.40	-	-	Muruz and Gul *et al.* (2020)
5	23.56	3.98	3.29	4.41			

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.13 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Species	Supplement levels	Milk yield (kg/d)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total solids (%)	Solid non-fat (%)	Source
Control		31.7	3.56	2.79	-	-	-	Boyd *et al*. (2011)
L. acidophilus NP51 + *P. freudenreichii NP24*	4×10^9cfu/h/d	34.7	3.50	2.78	-	-	-	
Control		44.6	3.75	3.10	4.95	-	-	Ferraretto and Shaver (2015)
L. acidophilus NP51+ *P. freudenreichii NP24*	1×10^9cfu/g 2×10^9cfu/g	45.2	3.75	3.11	4.91			
Control		-	2.65[b]	3.56[b]	4.80[b]	-	9.54	Gao *et al*. (2015)
Yeast	8 g	-	3.30[b]	3.46[b]	5.12[a]	-	9.40	
LAB	8 g	-	3.40[b]	3.61[b]	5.28[a]	-	9.41	
Yeast+LAB	8 g	-	4.23[a]	4.02[a]	5.35[a]	-	9.61	
Control		1.48	4.78	3.41	4.09	-	-	Zicarelli *et al.* (2016)
S.cerevisiae	20g	1.63	4.38	3.26	4.07			
S.cerevisiae+*A. oryzae*	20g	1.63	4.31	3.19	4.02			

ตารางที่ 2.13 ผลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ต่อ)

Species	Supplement levels	Milk yield (kg/d)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total solids (%)	Solid non-fat (%)	Source
Control		23.75	4.01	3.26	5.18	-	-	Xu *et al.* (2017)
L. casei Zhang และ *L. plantarum P-8*	1.3×10^{9} cfu/h/d	33.43	3.48	3.40	5.20	-	-	
Control		23.5^{b}	3.80^{a}	3.77	4.35	1.32	9.41	Sallam *et al.* (2019)
A. oryzae	3.5 g	24.6^{a}	3.47^{b}	3.72	4.31	1.28	9.31	
S.cerevisiae	3.5 g	23.7^{b}	3.68^{ab}	3.79	4.40	1.32	9.49	
S.cerevisiae+A. oryzae	3.5 g + 3.5 g	24.2^{a}	3.64^{ab}	3.74	4.43	1.31	9.46	

^{a,b,c} Means in the same row with different superscripts

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ได้แบ่งงานทดลองออกเป็น 2 งานทดลองย่อย ดังนี้

3.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมโดยใช้ *In vitro* gas production technique

3.1.1 แผนการทดลอง

จัดกลุ่มการทดลองแบบ 2×4 แฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (completely randomized design; CRD) ทำการศึกษา 2 ปัจจัย โดยกำหนดให้ปัจจัยแรกคือ แหล่งของจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์ (yeast) และจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) ปัจจัยที่สองคือ ระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของอาหารข้น ในสัดส่วนของอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งมีทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น (treatment combination) ที่ต้องใช้ในการทดลอง 8 ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แผนผังทรีทเมนต์ที่ใช้ในการทดลอง

แหล่งของจุลินทรีย์	ระดับการเสริม (%)	ทรีทเมนต์
ยีสต์	0	T1
	10	T2
	20	T3
	30	T4
จุลินทรีย์รวม	0	T5
	10	T6
	20	T7
	30	T8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

3.1.2.1 ใช้โคนมเจาะกระเพาะพันธุ์โฮล์สไตน์ฟรีเชียน เพศผู้ ระดับสายเลือด 75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 ตัว โดยมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 450±30 กิโลกรัม

3.1.2.2 โคทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอกก่อนเข้าการทดลอง

3.1.2.3 โคทุกตัวได้รับการฉีดวิตามิน เอ ดี 3 อี (AD_3E) ก่อนเข้าการทดลอง และให้อาหารทดลองตามช่วงระยะเวลา 8.00 น. และ 16.00 น. ทำการปรับสัตว์เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อปรับสภาพสัตว์และจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนให้คุ้นเคยกับอาหาร

3.1.3 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารในรูปแบบสูตรอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) มีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นเป็น 40:60 อาหารข้นที่ใช้มีระดับโปรตีนหยาบ 18 เปอร์เซ็นต์ มีสูตรอาหารข้นที่ใช้ดังแสดงในตารางที่ 3.2 และค่าพลังงานการย่อยได้ทั้งหมด 80 เปอร์เซ็นต์ (Total digestible nutrients; TDN) ร่วมกับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการบดอาหารทดลอง ผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบวัตถุดิบของอาหารข้น (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง)

รายการ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
วัตถุดิบอาหาร	
มันเส้น	49.4
รำละเอียด	30.0
กากถั่วเหลือง	15.0
กากน้ำตาล	2.0
ยูเรีย	2.1
ซัลเฟอร์	0.5
แร่ธาตุรวม[1]	0.5
เกลือ	0.5
รวม	100

[1] แร่ธาตุ และวิตามิน (บรรจุเป็นกิโลกรัม): IU: vit. A 10 000 000, vit. E 70 000, vit. D1 600 000; g: Fe 50, Zn 40, Mn 40, Co 0.1, Cu 10, Se 0.1, I0.5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์

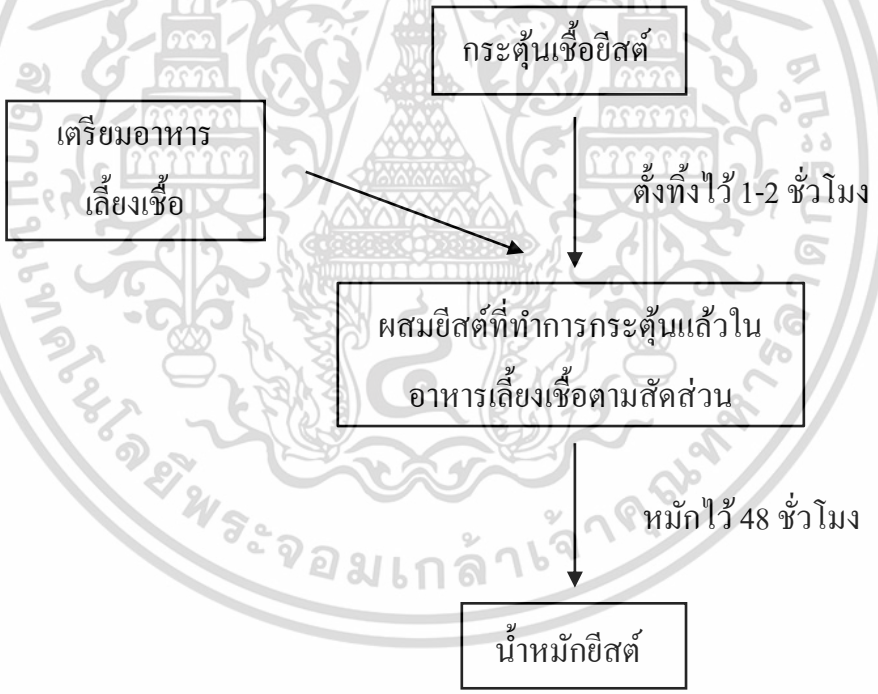
3.1.4.1 การเตรียมน้ำหมักยีสต์ (ดัดแปลงจาก Polyorach *et al.* 2013) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ก

1) กระตุ้นเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนของ ยีสต์: น้ำตาล: น้ำ เป็น 20 กรัม: 20 กรัม: 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

2) เตรียมอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ โดยใช้สัดส่วนของ ยูเรีย: กากน้ำตาล: น้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนดไว้ คือ 24 กรัม: 48 กรัม: 100 มิลลิลิตร และทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3) ทำการผสมเชื้อยีสต์ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อในสัดส่วน 1:1 และทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

4) เก็บน้ำหมักยีสต์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในครั้งต่อไปในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.2 การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (Microbial fermented liquid; MFL) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ก

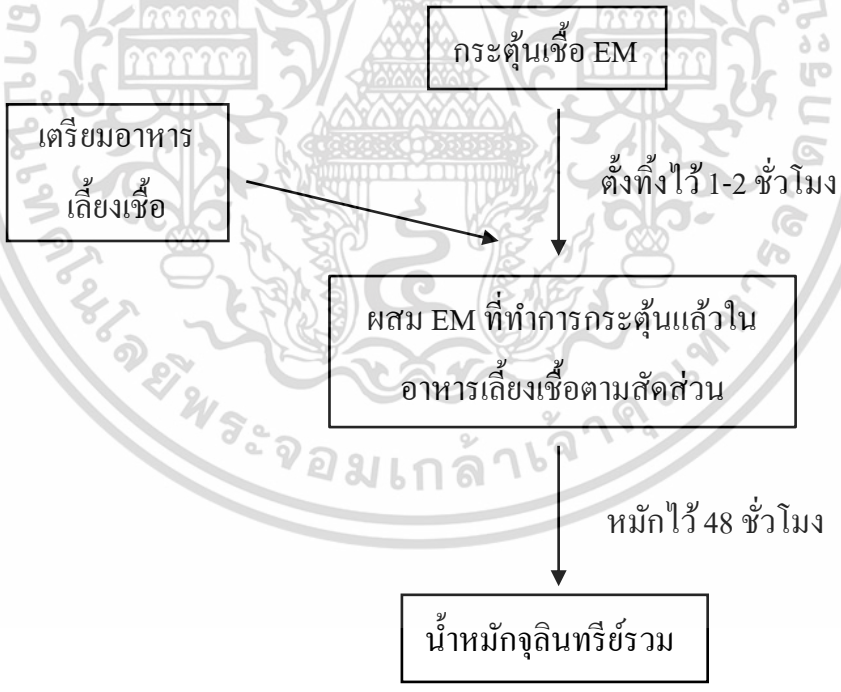
ในการทดลองครั้งนี้ทำการเตรียม MFL โดยใช้น้ำหมักจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (effective microorganisms; EM) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สินค้าทางการเกษตร

1) กระตุ้นเชื้อ EM โดยใช้สัดส่วนของ EM: น้ำตาล: น้ำ เป็น 20 กรัม: 20 กรัม: 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

2) เตรียมอาหารที่ใช้ในการเตียมเชื้อ EM โดยใช้สัดส่วนของยูเรีย :กากน้ำตาล :น้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนดไว้ได้แก่ 24 กรัม: 48 กรัม: 100 มิลลิลิตร และทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3) ทำการผสมเชื้อ EM ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อในสัดส่วน 1:1 และทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

4) เก็บน้ำหมักจุลินทรีย์รวมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1.5.1 ก่อนเข้าการทดลองโคนมเจาะกระเพาะจะได้รับการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอกก่อนเข้าการทดลอง และได้รับการฉีดวิตามิน เอ ดี 3 อี (AD_3E) ซึ่งโคทุกตัวจะได้รับอาหาร TMR มีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นเป็น 40:60 โดยทำการปรับสภาพสัตว์ทดลอง (preliminary period) เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อปรับสภาพสัตว์และจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนให้คุ้นเคยกับอาหาร

3.1.5.2 ทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) โดยทำการเก็บบริเวณที่โคเจาะกระเพาะ นำของเหลวจากกระเพาะรูเมนกรองโดยผ่านผ้าขาวบาง ทำการรักษาสภาวะให้ใกล้เคียงกับสภาวะภายในกระเพาะรูเมน โดยเก็บจนเต็มภาชนะไม่ให้เหลือที่ว่างเพื่อให้อยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน ทำการแช่ภาชนะเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนในภาชนะบรรจุน้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส เพื่อควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง

3.1.5.3 การศึกษาจุลพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส (Kinetics of gas production) ดัดแปลงตามวิธีการของ Menke and Steingass (1988) นำอาหารทดลองที่ใช้ คืออาหาร TMR ซึ่งมีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นอยู่ที่ 40:60 โดยใช้อาหารข้นที่ผสมเตรียมไว้ (ตารางที่ 3.2) และใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ บดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ทำการบรรจุอาหารทดลองประมาณ 0.5 กรัม โดยชั่งสัดส่วนของอาหารหยาบ 0.2 กรัม และอาหารข้น 0.3 กรัม จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน บรรจุลงในขวดแก้วที่มีขนาด 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการเติมน้ำหมักยีสต์และน้ำหมักจุลินทรีย์รวม ตามระดับการเสริม 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของอาหารข้น ทำการบรรจุของเหลวจากกระเพาะรูเมนที่ได้จากโคนมเจาะกระเพาะที่ผสมร่วมกับสารละลายน้ำลายเทียม โดยผสมภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนในขวดที่บรรจุอาหารทดลองขวดละ 40 มิลลิลิตร ปิดจุกยาง และฝาอลูมิเนียมให้สนิท หลังจากนั้นนำตัวอย่างเข้าบ่มที่ตู้บ่มเพื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ทำการวัดผลผลิตแก๊สที่เกิดจากการหมักย่อยอาหารทดลอง ณ ชั่วโมง 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48 และ 72 และจดบันทึกปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นตามระยะเวลาที่กำหนด (ภาคผนวก ข) นำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาหาค่าคงที่ a, b และ c โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป fit curve เพื่ออธิบายจุลพลศาสตร์ของการผลิตแก๊สตามแบบจำลองของ Ørskov and McDonald (1979) ดังนี้

$$Y = a + b\,[1-e^{(-ct)}]$$

เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t

a = ส่วนที่ละลายได้ง่าย (มิลลิลิตร)

b = ค่าปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (มิลลิลิตร) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงศักยภาพในการย่อยสลายของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

c = อัตราการเกิดแก๊สมีหน่วยเป็น % / ชม.

e = exponential

t = เวลาการเกิดแก๊ส

3.1.5.4 วัดค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้ง (*In vitro* dry matter degradability; IVDMD) และการย่อยสลายของสารอินทรียวัตถุ (*In vitro* organic matter degradability; IVOMD) ตามวิธีการของ Tilley and Terry (1963) โดยทำการวัดที่ระยะการบ่ม ณ ชั่วโมงที่ 24 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ และรอการวิเคราะห์ เมื่อทำการวิเคราะห์นำขวดทดลองที่แช่แข็งปล่อยให้ละลาย (thaw) และทำการกรองเอาส่วนที่เหลือจากการย่อยได้ของอาหารทดลองโดยใช้ถ้วยกรอง (crucible) นำตัวอย่างที่กรองได้อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อคำนวณค่าความสามารถในการย่อยได้ของ IVDMD หลังจากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อคำนวณค่าความสามารถในการย่อยได้ของ IVOMD ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{IVDMD (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักวัตถุแห้งเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักวัตถุแห้งที่เหลือหลังบ่ม}) \times 100}{\text{น้ำหนักวัตถุแห้งเริ่มต้น}}$$

$$\text{IVOMD (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักอินทรีย์วัตถุเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักอินทรีย์วัตถุหลังการเผา}) \times 100}{\text{น้ำหนักอินทรีย์วัตถุแห้งเริ่มต้น}}$$

3.1.5.5 ทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะการบ่ม ณ ชั่วโมงที่ 12 โดยทำการแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 ทำการนับประชากรจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา นำส่วนของเหลวในขวดแก้ว (rumen fluid) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดที่บรรจุ formaldehyde 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการนับประชากรจุลินทรีย์ โดยวิธี Direct count ตามวิธีการของ Galyean (1989) (ภาคผนวก ค)

ส่วนที่ 2 นำส่วนของเหลว (rumen fluid) ในขวดแก้ว เติม 1M H_2SO_4 ในสัดส่วน 1M H_2SO_4 ต่อของเหลวจากกระเพาะรูเมนในสัดส่วน 1:10 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ โดยนำตัวอย่างส่งวิเคราะห์ที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) กรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย (volatile fatty acid; VFA) โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) (model Water 600; UV Detector (Milipore Corp.)) และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณการผลิตแก๊สเมธเทน (CH_4) ตามวิธีการของ Moss *et al*. (2000) ดังสมการ

$$CH_4 \text{ production} = 0.45 \text{ (acetate)} - 0.275 \text{ (propionate)} + 0.4 \text{ (butyrate)}$$

3.1.5.6 นำตัวอย่างอาหารทดลองมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter; DM) อินทรียวัตถุ (organic matter; OM) โปรตีนหยาบ (crude protein; CP) และไขมัน (ether extract; EE) ตามวิธีการทดลอง AOAC (2000) และวิเคราะห์องค์ประกอบของเยื่อใยที่สำคัญ ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) ตามวิธีการของ Van Soest *et al.* (1991)

3.1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ Analysis of variance ตามการจัดกลุ่มการทดลองแบบ 2×4 แฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยการใช้ Proc ANOVA (SAS, 1985) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie. 1980) และเปรียบเทียบความสัมพันธ์แบบแนวโน้มของแต่ละระดับการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ด้วยวิธี Orthogonal polynomial ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีโมเดลในการวิเคราะห์ดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ Y_{ijk} = ค่าสังเกตที่ได้จากปัจจัยที่ ij ซ้ำที่ k

μ = ค่าเฉลี่ยรวม (overall mean)

α_i = อิทธิพลเนื่องจากชนิดของจุลินทรีย์ ที่ i เมื่อ i = 1, 2

β_j = อิทธิพลเนื่องจาก ระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ที่ j เมื่อ j = 1, 2,…4

$\alpha\beta_{ij}$ = อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ ที่ ij เมื่อ ij =1, 2, …8

ε_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

3.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (Completely randomized design; CRD) ใช้สัตว์ทดลองเป็นโครีดนมระยะต้นของการให้นม (0-3 เดือน หลังคลอด) จำนวน 12 ตัว ทำการแบ่งสัตว์ทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 โดยทรีทเมนต์ที่ใช้ในการทดลองคือระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม 4 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200 และ 300 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน

3.2.2 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารในรูปแบบสูตรอาหารผสมครบส่วน มีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นเป็น 40:60 อาหารข้นที่ใช้มีระดับโปรตีนหยาบ 12 เปอร์เซ็นต์ และค่าพลังงานการย่อยได้ทั้งหมด 70 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ โดยมีส่วนประกอบที่ใช้ดังแสดงในตารางที่ 3.3

3.2.3 การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์

การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (Microbial fermented liquid; MFL) ทำการเตียมตามขั้นตอนตามวิธีการทดลองที่ 1 (ภาคผนวก ก)

3.2.4 วิธีการดำเนินการทดลอง

สถานที่ที่ใช้ในการทำการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สกลนคร ต.พังขว้าง อ.เมืองสกลนคร จ.สกลนคร

3.2.4.1 ใช้โครีดนมระยะต้นของการให้นม (0-3 เดือน หลังคลอด) พันธุ์ลูกผสมโฮล์สไตน์ฟรีเชียน เพศเมีย (ระดับสายเลือด 75 เปอร์เซ็นต์) อายุ 4 ปี ช่วงการให้น้ำนม (lactation) ที่ 3 โดยมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 500±30 กิโลกรัมจำนวน 12 ตัว

3.2.4.2 ก่อนเข้าการทดลองทำการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอก และฉีดวิตามิน เอ ดี 3 อี (AD_3E) ให้โคนมทุกตัวและทำการชั่งน้ำหนักก่อนเข้างานทดลอง

3.2.4.3 ปรับสภาพสัตว์ก่อนเข้างานทดลอง ให้สัตว์ทุกตัวได้รับอาหาร TMR โดยมีสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นอยู่ที่ 40:60 แบบเต็มที่ (*ad libitum*) ทำการปรับสภาพสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อเป็นการปรับให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารและคอกทดลอง ตลอดระยะการทดลอง โคจะถูกแยกคอกขังเดี่ยวที่มีน้ำสะอาดและก้อนแร่ธาตุให้กินตลอดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบของอาหารผสมครบส่วน (TMR) ที่ใช้ในการทดลอง

รายการ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
วัตถุดิบ	
ฟางข้าว	40.0
มันเส้น	39.6
รำละเอียด	5.0
กากถั่วเหลือง	8.5
ยูเรีย	2.0
กากน้ำตาล	2.0
ไขมันสัตว์	2.0
เกลือ	0.3
ซัลเฟอร์	0.3
แร่ธาตุรวม[1]	0.3
รวม	100

[1] แร่ธาตุ และวิตามิน (บรรจุเป็นกิโลกรัม): IU: vit. A 10 000 000, vit. E 70 000, vit. D1 600 000; g: Fe 50, Zn 40, Mn 40, Co 0.1, Cu 10, Se 0.1, I0.5.

3.2.4.4 การให้อาหาร และน้ำหมักจุลินทรีย์รวม แบ่งการให้อาหารเป็น 2 ช่วง คือช่วงเช้าเวลา 7.30 น. และช่วงบ่ายเวลา 14.30 น. ในระหว่างการให้อาหารแต่ระช่วงเวลาทำการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์รวมตามทรีทเมนต์ที่กำหนด ได้แก่ 0, 100, 200 และ 300 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน โดยแบ่งการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์รวมตามช่วงเวลาการให้อาหารคือ ช่วงเช้า 1 ส่วน และช่วงบ่าย 1 ส่วน ตามทรีทเมนต์ที่กำหนด และคลุกเคล้าให้เข้ากับอาหาร

3.2.4.5 ระยะเวลาในดำเนินการทดลอง 30 วัน โดย 14 วัน แรกเป็นช่วงเวลาปรับสภาพสัตว์โดยเก็บข้อมูลของปริมาณการกินได้เป็นระยะเวลา 11 วัน ในช่วง 5 วันสุดท้าย เก็บตัวอย่างอาหาร และมูล และในช่วง 2 วันสุดท้าย เก็บน้ำนม และเก็บเลือดในวันสุดท้ายของการทดลอง

3.2.5 วิธีการเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

3.2.5.1 บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโค โดยการชั่งน้ำหนักก่อนเข้าการทดลองและในวันสุดท้ายของการทดลอง เพื่อใช้ในการคำนวณอัตราการเจริญเติบโต (average daily gain) ของสัตว์ทดลอง

3.2.5.2 บันทึกปริมาณการให้อาหารเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน ทำการจดบันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือทั้งเช้าและเย็นทุกวันตลอดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.3 บันทึกผลผลิตน้ำนมที่ได้จากโคแต่ละตัวในตอนเช้าและเย็นทุกวันตลอดการทดลอง

3.2.5.4 สุ่มตัวอย่างอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือ โดยเก็บในปริมาณ 500 กรัม ในช่วง 5 วันสุดท้าย ของการทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนโดย ส่วนที่ 1 นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง ส่วนที่ 2 อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ DM, OM, CP และ EE ตามวิธีการทดลอง AOAC (2000) วิเคราะห์องค์ประกอบของเยื่อใยที่สำคัญได้แก่ NDF และ ADF ตามวิธีการของ Van Soest *et al*. (1991)

3.2.5.5 สุ่มตัวอย่างมูลในช่วง 5 วันสุดท้าย สุ่มเก็บในช่วงเช้าและช่วงบ่าย ของโคทดลองทุกตัว โดยล้วงเก็บทางทวารหนัก (rectal sampling) และคลุกเคล้ามูลให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง ส่วนที่ 2 อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ DM, OM, CP และ EE ตามวิธีการทดลอง AOAC (2000) วิเคราะห์องค์ประกอบของเยื่อใยที่สำคัญได้แก่ NDF และ ADF ตามวิธีการของ Van Soest *et al.* (1991) และวิเคราะห์การย่อยได้โดยใช้ตัวบ่งชี้ภายใน (Internal indicator) คือ เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash; AIA) ตามวิธีของ Van Keulen and Young (1977) และหาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ตามวิธีการของ Schneider and Flat (1975) โดยสมการที่ใช้ในการคำนวณคือ

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (\%)} = 100 - 100 \frac{(\text{AIA ในอาหาร})}{(\text{\% AIA ในมูล})}$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (\%)} = 100 - 100 \frac{(\text{AIA ในอาหาร} \times \text{\% โภชนะในมูล})}{(\text{\% AIA ในมูล} \times \text{\% โภชนะในอาหาร})}$$

3.2.5.6 เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein)โดยเก็บชั่วโมงที่ 0 ก่อนให้อาหาร และชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหารในช่วงเช้า ในวันสุดท้ายของการทดลอง ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (EDTA) ทำการปั่นเหวี่ยง โดยเครื่อง Centrifuge (Beckman Coulter model A vanti J-E, USA) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเก็บพลาสมาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำวิเคราะห์ ยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.7 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมโดยสุ่มเก็บ 2 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยเก็บน้ำนมช่วงเช้า และเย็นมารวมกันตามสัดส่วนน้ำนมที่ได้แล้วเก็บในขวดที่มี Potassium dichromate 250 มิลลิกรัมต่อน้ำนม 100 มิลลิลิตร เพื่อรักษาสภาพโดยทำการเก็บน้ำนมในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ โปรตีน (protein) ไขมัน (fat) แลคโตส (lactose) ของแข็งทั้งหมด (total solid; TS) ของแข็งไม่รวมไขมัน (solid not fat; SNF) และความถ่วงจำเพาะของน้ำนม (Specific gravity) ด้วยเครื่อง Milkoscan (Model 133 V3 7 GB) และหายูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea nitrogen; MUN) (Roseler *et al*. 1993)

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ Analysis of variance ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (CRD) โดยการใช้ Proc ANOVA (SAS, 1985) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie. 1980) และเปรียบเทียบความสัมพันธ์แบบแนวโน้มของแต่ละทรีทเมนต์ด้วยวิธี Orthogonal polynomial ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีโมเดลในการวิเคราะห์ดังนี้

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

เมื่อ Y_{ijk} = ค่าสังเกตที่ได้จากทรีทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j เมื่อ i = 1, 2,..,4 และ j = 1, 2, 3

μ = ค่าเฉลี่ยรวม (overall mean)

t_i = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ ที่ i เมื่อ i = 1, 2,..,4

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมโดยใช้ *In vitro* gas production technique

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในงานทดลอง

จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและน้ำหมักจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าอาหารข้นที่ใช้ในการทดลองมีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ มันสำปะหลัง รำละเอียด กากถั่วเหลือง กากน้ำตาล ยูเรีย กำมะถัน พรีมิกซ์ และเกลือ มีค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง (dry matter; DM) อินทรียวัตถุ (organic matter; OM) โปรตีนหยาบ (crude protein; CP) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) อยู่ที่ 95.3, 93.6, 18.2, 20.4, และ 14.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และฟางข้าวที่ใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบมีองค์ประกอบทางเคมีอยู่ที่ 90.2, 81.3, 2.9, 82.7 และ 55.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักยีสต์ (yeast) และน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) พบว่ามีค่า DM, OM และ CP อยู่ที่ 17.2, 98.7 และ 21.2 เปอร์เซ็นต์ และ 22.2, 98.9 และ 20.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.1.2 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊ส

จากตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3 แสดงผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊ส พบว่าผลของปฏิสัมพันธ์ร่วม (interaction) ระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์ (microbial sources) และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ (supplement levels) มีผลต่อค่าการผลิตแก๊สจากส่วนที่ละลายได้ง่าย (a) โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$) และรองลงมาคือกลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3)

ดังนั้นลักษณะที่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับการเสริม คือ ค่าปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (b), ศักยภาพการย่อยสลายได้ (a+b), การผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง และค่าอัตราการเกิดแก๊ส (c) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์ พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่เสริมด้วย MFL มีค่า b, a+b และการผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.1) สูงกว่ากลุ่มที่เสริมด้วยยีสต์ (P<0.01) ในขณะที่ปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อค่า c (P>0.05)

นอกจากนี้พบว่าเมื่อพิจารณาปัจจัยของระดับการเสริม ส่งผลต่อค่า b, a+b และการผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสาม (cubicly) (P<0.01) ตามระดับของการเสริมที่เพิ่มสูงขึ้นโดยที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ในขณะที่ค่า c ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง และน้ำหมักจุลินทรีย์

Item	Concentrate	Rice straw	Yest	MFL[1]
Ingredient, % of DM				
Cassava chip	49.4			
Rice bran	30.0			
Soybean meal	15.0			
Molasses	2.0			
Urea	2.1			
Sulfur	0.5			
Mineral mixture[2]	0.5			
Salt	0.5			
Chemical composition				
Dry matter (DM)	95.3	90.2	17.2	22.2
	----------% of dry matter ----------			
Organic Matter (OM)	93.6	81.3	98.7	98.9
Crude Protein (CP)	18.2	2.9	21.2	20.6
Neutral detergent fiber (NDF)	20.4	82.7	-	-
Acid detergent fiber (ADF)	14.5	55.2	-	-

[1]Microbial fermented liquid, [2]Minerals and vitamins (each kg contained): IU: vit. A 10 000 000, vit. E 70 000, vit. D 1 600 000; g: Fe 50, Zn 40, Mn 40, Co 0.1, Cu 10, Se 0.1, I 0.5.

4.1.3 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้

ผลของการย่อยได้ในหลอดทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งในหลอดทดลอง (*In vitro* dry matter degradability; IVDMD) และการย่อยได้ของอินทรียวัตถุในหลอดทดลอง (*In vitro* organic matter degradability; IVOMD) ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์ และปัจจัยของระดับการเสริม เมื่อพิจารณาอิทธิพลจากปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์พบว่ากลุ่มที่เสริมด้วย MFL มีค่า IVDMD และ IVOMD สูงกว่ากลุ่มที่เสริมด้วยน้ำหมักยีสต์ (P<0.01) อีกทั้งระดับการเสริมมีผลต่อค่า IVDMD และ IVOMD มีค่าเพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง (quadraticly) โดยพบว่าระดับการเสริมที่ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด (P<0.01)

ตารางที่ 4.2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สและการย่อยได้ในหลอดทดลอง

Variable	Gas kenetics[1] (%)				Gas (72 h) ml/0.5 g DM	*In vitro* Degradability[2] (%)	
	a	b	c	a+b	substrate	IVDMD	IVOMD
Microbial Sources							
Yeast	-0.33	65.47^{b}	0.087	65.33^{b}	65.45^{b}	66.35^{b}	68.68^{b}
MFL	-0.45	70.67^{a}	0.086	70.34^{a}	70.33^{a}	68.15^{a}	70.16^{a}
SEM	0.073	0.520	0.001	0.536	0.591	0.192	0.142
Supplement levels (%)							
0	-0.70^{b}	68.17^{b}	0.087	67.47^{b}	67.66^{b}	62.25^{b}	67.51^{c}
10	0.28^{a}	66.77^{b}	0.085	67.05^{b}	66.78^{b}	68.15^{a}	69.51^{b}
20	-1.21^{c}	73.02^{a}	0.091	71.80^{a}	72.02^{a}	69.32^{a}	70.63^{a}
30	0.08^{a}	64.94^{b}	0.084	55.02^{b}	65.09^{b}	69.26^{b}	70.02^{ab}
SEM	0.073	0.520	0.001	0.536	0.591	0.192	0.142
Comparison							
Microbial sources	ns	**	ns	**	**	**	**
Supplement levels	**	**	ns	**	**	**	**
Interaction	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Orthogonal polynomial							
SL (linear)	ns	ns	ns	ns	ns	**	**
SL (quadratic)	ns	**	ns	**	*	**	**
SL (cubic)	**	**	ns	**	**	ns	ns

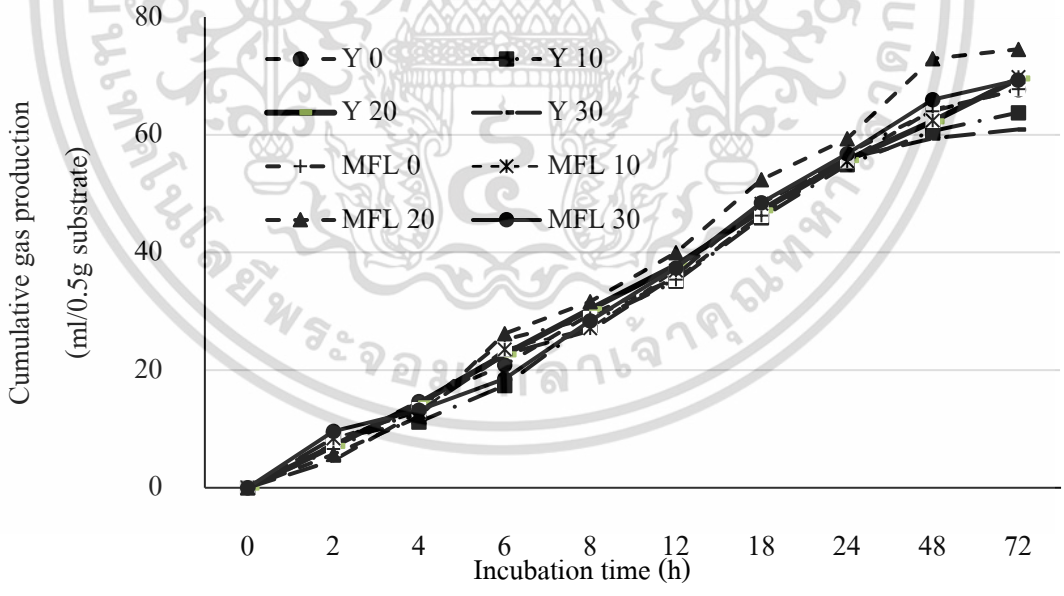
[a,b,c] Means in the same row with different superscripts differ, *P<0.05, **P<0.01, ns= non-significant different, SEM=standard error of the mean. MFL= microbial fermented liquid, [1]a= the gas production from the immediately soluble fraction, b= the gas production from the insoluble fraction, c= the gas production rate constant for constant for the insoluble fraction, a+b = potential degradability. [2]IVDMD = *In vitro* dry matter digestibility, IVOMD= *In vitro* organic matter digestibility. SL= supplement levels.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์ และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อค่าส่วนที่ละลายได้ง่าย (The gas production from the immediately soluble fraction; a)

		Gas kenetics[1] (%)
Microbial sources	Supplement levels (%)	a
Yeast	0	-0.24[b]
	10	-0.04[b]
	20	-0.98[cd]
	30	-0.53[bc]
MFL	0	-1.16[cd]
	10	0.61[a]
	20	-1.45[d]
	30	0.70[a]
SEM		0.073

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts differ, SEM= standard error of the mean, MFL= microbial fermented liquid, [1]a= the gas production from the immediately soluble fraction.



ภาพที่ 4.1 ผลผลิตแก๊สสะสมของแต่ละชั่วโมงของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อ ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน

ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด (total volatile fatty acids; TVFAs) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) และผลผลิตของแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) จากตารางที่ 4.4 และตารางที่ 4.5 แสดงผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์ และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ พบว่าปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริม มีผลต่อค่า TVFAs และ NH_3-N โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่า TVFAs สูงที่สุด ($P<0.01$) อยู่ที่ 72.20 mM/L รองลงมาคือในกลุ่มที่ทำการเสริมด้วยน้ำหมักยีสต์ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ 71.75 mM/L ในส่วนของค่า NH_3-N พบว่ากลุ่มที่เสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$) อยู่ที่ 28.05 mg/100 ml รองลงมาคือกลุ่มที่เสริมด้วยน้ำหมักยีสต์ที่ระดับการเสริม 10 เปอร์เซ็นต์ อยู่ที่ 26.08 mg/100 ml

ดังนั้นลักษณะที่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับการเสริม คือกรดอะซิติก (acetic acid; C_2) กรดโพรพิออนิก (propionic acid; C_3) กรดบิวทิริก (butyric acid; C_4) สัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก (C_2:C_3) และผลผลิตแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์ พบว่า C_2, C_3, C_4, C_2:C_3 และ CH_4, ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาปัจจัยจากระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ พบว่า C_2 มีค่าลดลงแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง (quadraticly) ($P<0.05$) อีกทั้งสัดส่วนของ C_2:C_3 และ CH_4 มีค่าลดลงแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.01$) ในขณะที่การเพิ่มระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ C_3 โดยมีค่าเพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.01$) อย่างไรก็ตามพบว่า C_4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อ ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน

Variable	TVFAs (mM/L)	C_2	C_3	C_4	C_2:C_3 ratio	NH_3-N mg/100 ml	CH_4 production[1] (mM/L)
Microbial Sources							
Yeast	58.45^{b}	67.06	25.96	6.97	2.58	21.88^{b}	25.83
MFL	63.04^{a}	66.86	25.79	7.34	2.59	23.34^{a}	25.93
SEM	0.342	0.072	0.081	0.082	0.009	0.163	0.056
Supplement levels (%)							
0	48.77^{c}	67.43^{a}	25.41^{c}	7.14	2.65^{a}	20.35^{c}	26.21^{a}
10	61.9^{b}	67.01^{a}	25.71^{bc}	7.27	2.60^{ab}	22.21^{b}	25.99^{ab}
20	71.97^{a}	66.46^{b}	26.28^{a}	7.25	2.53^{c}	24.10^{a}	25.58^{c}
30	60.34^{b}	66.95^{a}	26.08^{ab}	6.96	2.56^{bc}	23.78^{a}	25.74^{bc}
SEM	0.342	0.072	0.081	0.082	0.009	0.163	0.056
Comparison							
Microbial sources	**	ns	ns	ns	ns	**	ns
Supplement levels	**	*	*	ns	**	**	*
Interaction	**	ns	ns	ns	ns	**	ns
Orthogonal polynomial							
SL (linear)	**	*	**	ns	**	**	**
SL (quadratic)	**	*	ns	ns	ns	*	ns
SL (cubic)	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts differ, *P<0.05, **P<0.01, ns = non-significant different, SEM= standard error of the mean, MFL= microbial fermented liquid, TVFAs= total volatile fatty acids, C_2:C_3= acetate to propionate ratio, C_2= acetic acid, C_3= propionic acid, C_4= butyric acid, [1]Calculated according to Moss *et al.* (2000) CH_4 production = 0.45 (acetate) -0.275 (propionate) +0.4 (butyrate), SL= supplement levels.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อค่าปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

Microbial sources	Supplement levels (%)	TVFAs (mM/L)	NH_3-N mg/100ml
Yeast	0	48.54[d]	19.03[e]
	10	54.24[c]	22.28[c]
	20	71.75[a]	20.15[de]
	30	59.28[b]	26.08[b]
MFL	0	49.02[d]	21.68[dc]
	10	69.56[a]	22.15[c]
	20	72.20[a]	28.05[a]
	30	61.41[b]	21.50[dc]
SEM		0.342	0.163

[a,b,c]Means in the same row with different superscripts differ, SEM= standard error of the mean, MFL=microbial fermented liquid, TVFAs= total volatile fatty acids, NH_3-N= ammonia nitrogen.

4.1.5 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนที่ศึกษาโดยวิธีนับโดยตรง

ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนดังแสดงในตารางที่ 4.6 และตารางที่ 4.7 ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างปัจจัยจากแหล่งของจุลินทรีย์และปัจจัยจากระดับของการเสริมจำนวนประชากรมีผลต่อ แบคทีเรีย (bacteria) โปรโตซัว (protozoa) และเชื้อรา (fungi) โดยพบว่าประชากรของแบคทีเรีย และเชื้อรา กลุ่มที่ทำการเสริม MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$) อยู่ที่ 24.05 $x10^8$ cell/ml และ 10.25 $x10^5$ cell/ml ตามลำดับ แต่พบว่าจำนวนประชากรโปรโตซัวมีปริมาณที่ต่ำลง ($P<0.05$) ในกลุ่มที่เสริม MFL ที่ระดับการเสริม 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ อยู่ที่ 0.75 $x10^5$ cell/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

Variable	Microorganisms (cell/ml; 12 h post incubation)		
	Bacteria ($x10^8$ cell/ml)	Protozoa ($x10^5$ cell/ml)	Fungi ($x10^5$ cell/ml)
Microbial Sources			
Yeast	17.88[b]	2.59[a]	4.61[a]
MFL	19.34[a]	0.69[b]	6.28[a]
SEM			
Supplement levels (%)			
0	16.35[c]	2.13[a]	2.98[b]
10	18.21[b]	1.50[ab]	5.75[ab]
20	20.10[a]	1.38[b]	7.13[a]
30	19.79[a]	1.55[ab]	5.93[ab]
SEM	0.095	0.163	0.042
Comparison			
Microbial sources	**	**	*
Supplement levels	**	ns	*
Interaction	**	*	**
Orthogonal polynomial			
SL (linear)	**	ns	**
SL (quadratic)	*	ns	*
SL (cubic)	ns	ns	ns

[a,b,c,d] Means in the same row with different superscripts differ, *P<0.05, **P<0.01, ns= non-significant different, SEM= Standard error of the mean, MFL= Microbial fermented liquid, SL= Supplement levels.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างแหล่งของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

Microbial sources	Supplement levels (%)	Microorganisms (cell/ml; 12 h post incubation)		
		Bacteria ($x10^8$ cell/ml)	Protozoa ($x10^5$ cell/ml)	Fungi ($x10^5$ cell/ml)
Yeast	0	15.03^{e}	3.75^{a}	3.20^{cd}
	10	18.28^{c}	2.25^{b}	6.75^{ab}
	20	16.15^{cd}	2.00^{b}	4.00^{bc}
	30	22.08^{b}	2.35^{b}	4.50^{bc}
MFL	0	17.68^{cd}	3.45^{a}	2.85^{c}
	10	18.15^{c}	0.75^{c}	4.75^{bc}
	20	24.05^{a}	0.75^{c}	10.25^{a}
	30	17.50^{cd}	0.75^{c}	7.35^{ab}
SEM		0.095	0.163	0.042

^{a,b,c,d} Means in the same row with different superscripts differ, SEM= Standard error of the mean, MFL= Microbial fermented liquid.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

4.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองของอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) และน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) โดยอาหาร TMR มีส่วนประกอบหลักได้แก่ กากถั่วเหลือง มันเส้น รำข้าว และฟางข้าว มีค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง (dry matter; DM) อินทรียวัตถุ (organic matter; OM) โปรตีนหยาบ (crude protein; CP) ไขมันหยาบ (ether extract; EE) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ซึ่งพบว่ามีค่าเท่ากับ 89.6, 90.7, 12.3, 3.5, 56.4 และ 28.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ MFL พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีของ DM, OM, CP, EE อยู่ที่ 22.2, 98.9, 20.6 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว

จากการศึกษาการเสริม MFL ที่ระดับการเสริมที่แตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโครีดนมระยะต้นของการให้น้ำนม ดังแสดงในตารางที่ 4.9 โดยพบว่าอัตราการเจริญเติบโต (กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.63-0.78 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

4.2.3 ปริมาณการกินได้

จากการศึกษาการเสริม MFL ที่ระดับการเสริมที่แตกต่างกัน ต่อปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง พบว่าเมื่อคิดเป็นหน่วยกิโลกรัมต่อวัน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่เมื่อคิดในหน่วยกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักเมแทบอลิก (g/kg $BW^{0.75}$) พบว่ามีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.05$) ตามระดับการเสริม MFL โดยมีค่าสูงสุดเมื่อเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน

นอกจากนี้ปริมาณการกินได้ของโภชนะพบว่าปริมาณการกินได้ของ OM, CP, EE, NDF และ ADF มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณการกินได้ของโภชนะของกลุ่มที่ทำการเสริม MFL มีแนวโน้มเพิ่มสูงกว่า ($P = 0.053$) กลุ่มที่ไม่ได้เสริม ดังแสดงในตารางที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.8 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) และน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL)

Item	TMR	MFL	Rice straw
Ingredient, % of DM			
Rice straw	40.0		
Cassava chip	39.6		
Rice bran	5.0		
Soybean meal	8.5		
Urea	2.0		
Molasses	2.0		
Tallow	2.0		
Salt	0.3		
Sulfur	0.3		
Mineral mixture[1]	0.3		
Chemical composition			
Dry matter (DM)	89.6	22.2	90.2
	----------% of dry matter----------		
Organic Matter (OM)	90.7	98.9	83.0
Crude Protein (CP)	12.3	20.6	2.7
Ether extract (EE)	3.5	1.2	2.0
Neutral detergent fiber (NDF)	56.4	-	80.4
Acid detergent fiber (ADF)	28.3	-	54.0
Price (bath/kg)	6.8	0.27	2.5

ราคาอาหาร 6.8 บาท/กิโลกรัม ณ วันที่ 30 เมษายน 2562, [1]Minerals and vitamins (each kg contained): IU: vit. A 10 000 000, vit. E 70 000, vit. D 1 600 000; g: Fe 50, Zn 40, Mn 40, Co 0.1, Cu 10, Se 0.1, I 0.5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้

Item	Supplement levels (ml/hd/d) [1]				SEM	Contrasts[2]	
	0	100	200	300		L	Q
Body weight							
Initial body weight (kg)	512.0	505.3	505.7	517.3	19.32	ns	ns
Final body weight (kg)	531.0	526.3	529.0	539.5	20.35	ns	ns
Average daily gain (kg/hd/d)	0.63	0.70	0.78	0.74	0.048	ns	ns
Dry matter intake (DMI)							
Kg/d	13.3	15.3	15.7	15.5	0.34	ns	ns
%BW	2.6	3.0	3.1	3.1	0.09	ns	ns
g/kg BW $^{0.75}$	123.9^{b}	143.8^{ab}	147.5^{a}	145.5^{ab}	3.33	*	ns
Nutrient intake, kg/hd/d							
Organic matter (OM)	12.1	13.9	14.3	14.1	0.32	ns	ns
Crude protein (CP)	1.6	1.8	1.9	1.9	0.04	ns	ns
Ether extract (EE)	0.4	0.5	0.6	0.5	0.01	ns	ns
Neutral detergent fiber (NDF)	7.5	8.6	8.9	8.7	0.20	ns	ns
Acid detergent fiber (ADF)	3.8	4.3	4.5	4.4	0.10	ns	ns

[a,b] Means in the same row with different superscripts, *P<0.05,**P<0.01, ns= non-significant difference, SEM = standard error of the means, [1]Levels of microbial fermented liquid supplementation, [2] L= Linear, Q= Quadratic.

4.2.4 การย่อยได้ของโภชนะ

จากการศึกษาผลของการเสริม MFL ที่ระดับการเสริมที่แตกต่างกันต่อการย่อยได้ของโภชนะดังแสดงในตารางที่ 4.10 พบว่า ค่าการย่อยได้ของโภชนะ DM, OM และ EE ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อการย่อยได้ของ CP สูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.01) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม โดยมีค่าสูงที่สุดที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน และมีค่าต่ำที่สุดที่ระดับการเสริม 0 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (69.1 และ 50.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) นอกจากนี้เมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อการย่อยได้ของ NDF และ ADF เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.05) โดยการเสริมที่ระดับ 0 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (กลุ่มที่ไม่ได้เสริม) มีค่าต่ำที่สุด (49.6 และ 49.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และการเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด (63.2 และ 64.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ

Item	Supplement levels (ml/hd/d)[1]				SEM	Contrasts[2]	
	0	100	200	300		L	Q
Apparent digestibility (%)							
Dry matter (DM)	65.0	64.6	68.4	66.9	2.22	ns	ns
Organic matter (OM)	65.4	67.1	70.7	68.45	1.65	ns	ns
Crude protein (CP)	50.5[b]	53.2[b]	69.1[a]	67.3[a]	1.07	**	ns
Ether extract (EE)	66.7	71.4	73.2	72.6	0.96	ns	ns
Neutral detergent fiber (NDF)	49.6[b]	55.1[ab]	63.2[a]	61.9[a]	1.52	*	ns
Acid detergent fiber (ADF)	49.1[b]	55.0[ab]	64.3[a]	59.7[ab]	1.69	*	ns

[a,b] Means in the same row with different superscripts,*P<0.05,**P<0.01, ns = non-significant difference, SEM = standard error of the means, [1]Levels of microbial fermented liquid supplementation, [2] L = Linear, Q = Quadratic.

4.2.5 ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจน ในกระแสเลือด

การศึกษาการเสริม MFL ต่อความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) ดังแสดงในตารางที่ 4.11 ในชั่วโมงที่ 0 ของการให้อาหารพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในขณะที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหารพบว่าเมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อความเข้มข้นของ BUN เพิ่มสูงขึ้นแบบแบบเป็นเส้นตรง (linearly) (P<0.01) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL และพบว่าที่ระดับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด

ตารางที่ 4.11 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด

Item	Supplement levels (ml/hd/d) [1]				SEM	Contrasts[2]	
	0	100	200	300		L	Q
BUN, mg/dl							
0 h post feeding	11.1	11.7	12.4	12.7	0.29	ns	ns
4 h post feeding	12.9[b]	13.1[b]	19.7[a]	18.4[a]	0.25	**	ns
Average	12.1[b]	12.4[b]	16.1[a]	15.6[a]	0.08	**	*

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts, *P<0.05,**P<0.01, ns = non-significant difference, SEM = standard error of the means, [1]Levels of microbial fermented liquid supplementation, [2]L = Linear, Q = Quadratic.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6 ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม

จากตารางที่ 4.12 ศึกษาผลของการเสริม MFL ต่อผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมของโครีดนมระยะต้นของการให้น้ำนม พบว่ามีผลต่อปริมาณน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.01$) และ ค่าปริมาณน้ำนมปรับไขมันนม 3.5 เปอร์เซ็นต์ (3.5% fat corrected milk; FCM) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง (quadraticly) ($P<0.05$) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยระดับการเสริมที่ 0 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (กลุ่มที่ไม่ได้เสริม) มีค่าการผลิตน้ำนมต่ำที่สุด (12.6 และ 12.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน) ในขณะที่ระดับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าการผลิตน้ำนมสูงที่สุด (15.4 และ 17.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน)

นอกจากนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมได้แก่ ไขมัน (fat) แลคโตส (lactose) ของแข็งปราศจากไขมันในน้ำนม (solid not fat; SNF) และความถ่วงจำเพาะของน้ำนม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อ โปรตีน (protein) และของแข็งทั้งหมดในน้ำนม (total solid; TS) เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.05$) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยระดับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด

มากไปกว่านี้พบว่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea nitrogen; MUN) เพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นตรง (linearly) ($P<0.05$) ตามระดับการเสริม MFL โดยเมื่อเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด

4.2.7 การประเมินผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ

จากการศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของการเสริม MFL (ตารางที่ 4.12) โดยประเมินต้นทุนค่าอาหาร (feed price) ที่ใช้ในการผลิตน้ำนมต่อวันพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อรายรับจากการจำหน่ายน้ำนมคิดเป็นผลผลิตต่อตัวต่อวัน มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง (quadraticly) ($P<0.05$) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริมโดยพบว่าการเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงที่สุด (279.4 บาทต่อตัวต่อวัน) และการเสริมที่ระดับ 0 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (กลุ่มที่ไม่ได้เสริม) มีค่าต่ำที่สุด (235.4 บาทต่อตัวต่อวัน) นอกจากนี้รายได้สุทธิจากการจำหน่ายผลผลิตน้ำนมที่มีการหักค่าต้นทุนอาหารแล้ว พบว่าเมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ส่งผลต่อรายได้สุทธิเพิ่มสูงขึ้นแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง (quadraticly) ($P<0.05$) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม โดยการเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่ารายได้เพิ่มสุทธิสูงที่สุด (169.6 บาทต่อตัวต่อวัน) และการเสริมที่ระดับ 0 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (กลุ่มที่ไม่ได้เสริม) มีค่ารายได้เพิ่มสุทธิต่ำที่สุด (106.1 บาทต่อตัวต่อวัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ผลของระดับการเสริม MFL ต่อผลผลิต องค์ประกอบน้ำนม และค่าตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ

Item	Supplement levels (ml/hd/d) [1]				SEM	Contrasts[2]	
	0	100	200	300		L	Q
Production							
milk yield (kg/hd/d)	12.6^{b}	14.0^{ab}	15.4^{a}	14.8^{a}	0.22	**	ns
3.5% FCM (kg/hd/d)[3]	12.7^{c}	14.9^{b}	17.7^{a}	16.3^{ab}	0.32	**	*
Milk composition, %							
Fat	3.4	3.9	4.5	4.2	0.17	ns	ns
Protein	3.2^{b}	3.7^{ab}	4.0^{a}	3.7^{ab}	0.09	*	ns
Lactose	4.2	4.4	4.8	4.6	0.15	ns	ns
Solid not fat (SNF)	8.1	8.5	8.8	8.6	0.12	ns	ns
Total solid (TS)	10.8^{b}	12.2^{ab}	13.0^{a}	12.6^{a}	0.23	*	ns
Specific gravity	1.03	1.03	1.03	1.02	0.0003	ns	ns
Milk urea-nitrogen (MUN), mg/100 ml							
	11.9^{b}	12.2^{bc}	15.4^{a}	14.4^{ab}	0.39	*	ns
Economic return, bath/hd/d							
Milk income	235.4^{c}	255.6^{bc}	279.4^{a}	269.4^{ab}	3.16	**	*
feed price	90.4	105.5	109.8	119.6	3.38	ns	ns
Profit	106.1^{b}	150.0^{ab}	169.6^{a}	149.4^{ab}	3.16	**	*

[a,b,c] Means in the same row with different superscripts, *P<0.05, **P<0.01, ns= non-significant difference, SEM = standard error of the means, [1]Levels of microbial fermented liquid supplementation, [2]L= Linear, Q= Quadratic, [3]3.5% FCM (fat collected milk)= 0.432 (kg of milk/d) + 16.23 (kg of fat). ราคาจำหน่ายน้ำนม 18.2 บาท/กิโลกรัม ณ วันที่ 30 เมษายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การทดลองที่ 1 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและความสามารถในการย่อยได้ในโคนมใช้ *In vitro* gas production technique

5.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในงานทดลอง

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นที่มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญได้แก่ มันสำปะหลัง รำละเอียด กากถั่วเหลือง กากน้ำตาล ยูเรีย กำมะถัน พรีมิกซ์ และเกลือ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งในงานทดลองครั้งนี้ใช้วัตถุดิบหลักเป็นพืชอาหารสัตว์ท้องถิ่นที่นิยมปลูกในประเทศไทยได้แก่ มันสำปะหลัง และรำข้าว โดยรำข้าว หรือรำละเอียด (Rice bran) เป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว เช่นเดียวกับปลายข้าว โดยรำละเอียดมีไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง อยู่ที่ 14.5-16.2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับโปรตีนอยู่ที่ 12.2-13.6 เปอร์เซ็นต์ และมีเยื่อใยอยู่ที่ 6.0-6.6 เปอร์เซ็นต์ (วลัยกานต์ เจียมเจตจรูญ และคณะ. 2559)

นอกจากนี้ยังมีมันสำปะหลัง เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจไทยเพราะมีการเพาะปลูกกระจัดกระจายอยู่ทั่วทุกภาคในประเทศ เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่ขึ้นได้บนดินหลายชนิด การลงทุนไม่มากทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดีเกษตรกรจึงนิยมปลูกกันมาก มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีการสะสมอาหารในส่วนของราก (root) หรือหัว (tuber) โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยแป้งเป็นหลัก ซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายได้ง่าย สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ที่มีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งอาหารที่เป็นพลังงานชนิดอื่น โดยคุณค่าทางอาหารของมันสำปะหลังจะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนประกอบ 64.5-87.8 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนประมาณ 2-3 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 3-4 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.12-0.53 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 2.4-5.2 เปอร์เซ็นต์ (จุฑาลักษณ์ วงศ์ชัยชนะ. 2549; Wanapat and Kang. 2015)

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักยีสต์ (yeast) (ตารางที่ 4.1) มีระดับ OM และ CP อยู่ที่ 98.7 และ 21.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีค่าต่ำกว่าการรายงานของ สินีนาฏ พลโยราช (2551) ได้ศึกษาน้ำหมักยีสต์ (yeast fermented liquid; YFL) โดยใช้สัดส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบไปด้วย ยูเรีย: กากน้ำตาล: น้ำ อยู่ที่ 24: 72: 100 และทำการหมักเป็นระยะเวลา 60 ชั่วโมง เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีระดับของ OM, CP และ EE อยู่ที่ 91.7, 150 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักจุลินทรีย์ (microbial fermented liquid; MFL) พบว่ามีระดับ OM และ CP มีค่าอยู่ที่ 98.9 และ 20.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการรายงานของ Kwak *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสม trace minerals-fortified microbial culture (TMC) (*Enterobacter sp*., *Bacillus sp*., *Lactobacillus sp*. and *Saccharomyces sp*.) พบว่ามีระดับ CP และ EE มีค่าอยู่ที่ 16.7 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อ สัดส่วนอาหารของเลี้ยงเชื้อ ระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (อัญชุลี ชินสุข. 2558)

5.1.2 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊ส

จากการศึกษาจลพลศาสตร์การผลิตแก๊สของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริมด้วย MFL มีค่าจุลพลศาสตร์การผลิตแก๊สได้แก่ การผลิตแก๊สจากส่วนที่ละลายได้ง่าย (a), ปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (b), ส่วนที่ละลายได้ง่ายร่วมกับปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (a+b) และค่าการผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชม. สูงกว่ากลุ่มที่ทำการเสริมด้วยน้ำหมักยีสต์ (ตารางที่ 4.2 และ 4.3) เนื่องจากใน MFL มีจุลินทรีย์หลายชนิดเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ 1) กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria) 2) กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตกรดแลกติก (lactic acid bacteria; LAB) 3) กลุ่มจุลินทรีย์ยีสต์ (yeasts) และ 4) กลุ่มจุลินทรีย์แอคทิโนมัยซีทส์ (actenomycetes) (Ewa *et al*. 2017) ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมนหลักๆ ได้แก่ LAB และยีสต์ จากการรายงานของ Narvhus *et al.* (2003) กล่าวว่าเมื่อทำการเสริมยีสต์ร่วมกับ LAB ส่งผลต่อปฏิสัมพันธ์ร่วมกัน โดยยีสต์จะผลิตวิตามินที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ LAB นอกจากนี้ Polyorach *et al.* (2016) รายงานว่ากากถั่วเหลืองหมักนม (soybean meal fermented milk; SBMFM) ที่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์ ยีสต์และ LAB สามารถปรับปรุงการใช้อาหารของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน โดยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้นต้องการโภชนะที่สำคัญได้แก่ แอมโมเนีย กรดอะมิโน และโปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน และต้องการพลังงานจากคาร์โบไฮเดรต ซึ่งกระบวนการหมักย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนจะทำการหมักย่อยส่วนที่ย่อยสลายได้ง่ายก่อน คือส่วนของคาร์โบไฮเดรตก่อนที่จะย่อยสลายส่วนที่เป็นเยื่อใย จึงทำให้มีปริมาณแก๊สสะสมเพิ่มสูงขึ้นใน 1-2 ชั่วโมงแรกของการเกิดกระบวนการหมักย่อยโภชนะและจะลดลงในเวลาต่อมา (โชค มิเกล็ด และคณะ. 2552) ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้เป็นการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ที่ได้จากแหล่งจุลินทรีย์ EM (effective microorganism) ร่วมกับสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น 40:60 มีผลต่อผลผลิตแก๊สที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก EM มีจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วย LAB และ ยีสต์ ส่งผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน (Uyeno *et al*. 2015) จากการรายงานของ Paramithiotis *et al*. (2006) ยีสต์ และ LAB สามารถช่วยเร่งการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สอดคล้องกับการรายงานของ Ridwen *et al*. (2018) ได้ทำการศึกษาการเสริม LAB ร่วมกับสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น (70:30) พบว่า LAB สามารถกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนส่งผลต่อการผลิตแก๊สทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.3 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้

นอกจากนี้สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้งในหลอดทดลอง (*In vitro* dry matter digestibility, IVDMD) และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้งอินทรียวัตถุในหลอดทดลอง (*In vitro* organic matter digestibility, IVOMD) (ตารางที่ 4.2 และ 4.3) พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริม MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่า IVDMD สูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก MFL มีจุลินทรีย์หลายชนิดเป็นองค์ประกอบดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งมียีสต์เป็นองค์ประกอบหลักโดยยีสต์สามารถเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนสูงขึ้น ยีสต์จะทำหน้าที่ในการใช้ออกซิเจน (O_2) ที่เข้าสู่กระเพาะรูเมนทางอาหารและน้ำที่สัตว์กินเข้าไป เพื่อใช้ในการผลิตพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นแหล่งโภชนะสำหรับจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนเมื่อยีสต์เกิดการสลายตัวจะปลดปล่อย โปรตีน แร่ธาตุและวิตามิน จากผนังเซลล์ ถูกนำมาใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในกระเพาะรูเมน (Jouany *et al*. 2006) ส่งผลต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนและสามารถรักษาเสถียรภาพของค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมส่งผลต่อการย่อยได้ (Rossi *et al*. 2004) จากการรายงานของ Ellis *et al*. (2016) กล่าวว่าการเสริมยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเยื่อใย (fibrolytic bacteria) (*F. succinogenes*, *R. flavefacians*, *R. albus*) สูงขึ้นส่งผลต่อการปรับปรุงการย่อยเยื่อใยของอาหารที่เพิ่มสูงขึ้น

นอกจากนี้ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง ยีสต์ และ LAB ส่งผลต่อการรักษาสมดุลของค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้งนี้การอธิบายกลไกภายในกระเพาะรูเมนมีข้อมูลค่อนข้างจำกัด แต่อย่างไรก็ตามมีการรายงานของ Shimizu *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษากลไกการทำงานระหว่าง LAB (*L. lactis*) และ ยีสต์ (*K. marxianus*) ในน้ำนมหมักโดย LAB สามารถดูดซึมมอลโตส (maltose) ทำให้มีการผลิตและปลดปล่อยไนซิน (nisin) และแลคเตทออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งยีสต์จะดูดซึมแลคเตทเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในสภาวะที่สมดุล จากกลไกดังกล่าวอาจส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในระดับที่ 6-7 ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน จากการศึกษาของ Polyorach *et al.* (2016) ถึงกากถั่วเหลืองหมักนม (soybean meal fermented milk; SBMFM) ที่มีการหมักร่วมกับ ยีสต์ และLAB ในสูตรอาหารข้นที่ระดับการเสริมที่แตกต่างกันได้แก่ 0, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารข้น พบว่า SBMFM ที่ระดับการเสริม 5 เปอร์เซ็นต์ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (effective degradability of dry matter; EDDM) สูงกว่าระดับการเสริมที่ 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารข้น (82.92, 71.71 และ 80.32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของแหล่งโปรตีนที่ได้จากการหมักร่วมกับ LAB และยีสต์ที่เพิ่มสูงขึ้น (Polyorach *et al.* 2014b) ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีนเป็นผลให้การย่อยได้ของแหล่งไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้น และไนโตรเจนถูกนำมาใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนทำให้การย่อยได้ของอาหารเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงขึ้น (กฤตพล สมมาตย์. 2548) สอดคล้องกับการศึกษาของ Yonatan *et al.* (2011) ทำการหมักกากกาแฟร่วมกับ Effective Microorganisms (EM) ที่ระดับการเสริม 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าส่งผลต่อการเพิ่ม IVDMD มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมจาก 60.6 เป็น 77.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริมจุลินทรีย์ที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงที่สุด ใกล้เคียงกับการรายงานของ Totakul *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาระดับการเสริม yeast-fermented de-hulled rice (YDR) ได้แก่ 0, 25, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับอาหารหยาบ (roughages; R) ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฟางข้าว (rice straw; RS) และหญ้าหวาน (sweet grass hay; SGH) โดยมีสัดส่วนของ R:YDR ดังนี้ 100:0, 75:25, 50:50 และ 25:75 พบว่าสัดส่วน 75:25 ของ SGH:YDR ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า IVDMD สูงที่สุดอยู่ที่ 79.6 เปอร์เซ็นต์

ค่า IVOMD พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริม MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก MFL มีส่วนประกอบของยีสต์และ LAB ซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลักที่ช่วยส่งเสริมการเพิ่มของประชากรจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน สอดคล้องกับการรายงานของ Ridwin *et al*. (2018) พบว่าการเสริม LAB ในหลอดทดลองที่มีสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น (70:30) ส่งผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (DMD) และการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (OMD) โดยมีค่าที่สูงกว่า (74.44 และ 73.67 เปอร์เซ็นต์) กลุ่มควบคุม (68.47 และ 60.36 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาระดับการเสริมในการทดลองครั้งนี้ พบว่าที่การเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ Espirito *et al.* (2014) กล่าวว่าการเสริม LAB ที่ระดับที่เหมาะสมต่อการย่อยได้ของโภชนะอยู่ที่ 20 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลต่อค่า IVOMD ที่สูงที่สุด (69.9 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Carvalho *et al.* (2013) กล่าวว่าการรวมกันของเชื้อจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มการย่อยสลายโภชนะได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.1.4 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และผลผลิตของแก๊สเมทเธน

การทดลองการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์พบว่าความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยทั้งหมด (total volatile fatty acids; TVFAs) จากแหล่งของจุลินทรีย์ MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด และส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดโพรพิโอนิก (propionic acid; C_3) สูงขึ้น (ตารางที่ 4.4 และ 4.5) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ร่วมของยีสต์ และ LAB ที่เป็นกลุ่มจุลินทรีย์หลักของ MFL ซึ่งการเกิดปฏิสัมพันธ์ของยีสต์ และ LAB ได้มีการรายงานของ Gadaga *et al.* (2001) พบว่า LAB และยีสต์ในน้ำนมหมักมีปฏิสัมพันธ์กันโดยยีสต์สามารถกระตุ้น LAB โดยการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ไพรูเวต (pyruvate) โพรพิโอเนต (propionate) และซัคซิเนต (succinate) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของคาร์บอนไดออกไซด์ ส่งผลทำให้ภายในกระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic) ส่งผลทำให้ LAB ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้ง ไพรูเวต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพรพิโอเนต และซัคซิเนต สามารถกระตุ้นการเมแทบอลิซึม (metabolism) เป็นผลทำให้เพิ่มผลผลิตของ LAB ได้แก่กรดแลคติก และกรดอะซิติก มากไปกว่านี้ยีสต์ยังเป็นแหล่งของกรดอะมิโนอิสระ เช่น ลิวซีน ฟีนิลอะลานิน ไลซีน อาร์จีนิน กรดกลูตามิก และ วาลีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการทำกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเกิดการปลดปล่อยกรดอะมิโนอิสระของยีสต์จะช่วยส่งเสริมการเติบโตและการทำงานของ LAB โดยสามารถกระตุ้นการทำงานของแบคทีเรียที่ใช้กรดแลคติก (lactic acid utilizing bacteria; LUB) ได้แก่ Megasphaera และ Propionibacterium ส่งผลให้ผลผลิต VFA เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิต C_3 อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเสริม LAB ร่วมกับ ยีสต์ ส่งผลให้การผลิตกรดอะซิติก (acetic acid; C_2) ลดลง (Paramithiotis *et al*. 2006) จากการรายงานของ Weinderg *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาในหลอดทดลองโดยการเสริม LAB ร่วมกับข้าวโพดหมัก พบว่ามีการผลิต C_2 และ C_3 เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ Kenney *et al*. (2015) รายงานว่าเมื่อทำการเสริมจุลินทรีย์รวม LAB (*L. acidophilus*, *E. faecium*, *P. acidilactici*, *L. brevis* และ *L. plantarum*) และ LAB/LU (*L. acidophilus* และ *P. freudenreichii*) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของ VFA อย่างไรก็ตามการเสริมยีสต์มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต VFA จากการศึกษาของ Polyorach *et al*. (2014a) เมื่อใช้มันเส้นหมักยีสต์ (yeast fermented cassava chip, YEFECAP) สามารถเพิ่มผลผลิต VFA, C_3 และลดสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพริโอนิก (acetic acid: propionic acid; C_2:C_3) นอกจากนี้จากการทดลองพบว่า C_2 รวมถึงสัดส่วนของ C_2:C_3 มีแนวโน้มลดต่ำลง แต่พบว่ากรดบิวทีริก (butyric acid; C_4) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ได้มีบางรายงานพบว่าการเสริมยีสต์ไม่มีผลต่อสัดส่วนของ VFA (Guedes *et al*. 2008) จากการรายงานของ Malekkhahi *et al*. (2016) เมื่อทำการเสริมยีสต์ (20×10^9 CFU) ในอาหาร TMR พบว่าไม่มีผลต่อความเข้มข้น C_4 แต่มีผลต่อการลดลงของสัดส่วนของ C_2:C_3 อย่างไรก็ตามอิทธิพลของการเสริมจุลินทรีย์รวมต่อผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักค่อนข้างมีความแปรปรวน ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากหลายปัจจัย เช่น ความแตกต่างของสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ใช้ ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการประกอบสูตรอาหาร รวมถึงชนิดของจุลินทรีย์และระดับของการเสริมอื่นๆ

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) ของของเหลวในกระเพาะรูเมนจากการทดลองการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4.4 และ 4.5) พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริม MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุดอยู่ที่ 28.05 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมที่ เมธา วรรณพัฒน์ (2533) แนะนำไว้คือ 15-30 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่าการเสริมน้ำหมักยีสต์ มีความเข้มข้นของ NH_3-N ซึ่งอยู่ในระดับที่เหมาะสมอยู่ที่ 19.03-26.08 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่ากลุ่มของการเสริมด้วย MFL ส่งผลต่อการเพิ่มความเข้มข้น NH_3-N สูงที่สุด อาจเนื่องมากจาก MFL ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลักที่สำคัญ ได้แก่ ยีสต์ และ LAB ส่งผลต่อการสร้างสมดุลของการปลดปล่อย NH_3-N ในกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน (Da Silva *et al*. 2016) จากการรายงานของ Latif *et al*. (2014) พบว่าการเสริมยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*S. cerevisiae*) ที่ระดับการเสริม 0.5 กรัมต่อตัวต่อวัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง NH_3-N ที่เพิ่มสูงขึ้นจาก 24.5±2.4 เป็น 29.1±2.4 mg/dl ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ NH_3-N นี้อาจเนื่องมาจากยีสต์ ส่งผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส (cellulolytic bacteria) โดยยีสต์เป็นแหล่งของ growth factor ของจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใย (Hritove *et al*. 2010) นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ออกซิเจนที่หลงเหลืออยู่ภายในกระเพาะรูเมนทำให้สภาวะภายในกระเพาะรูเมนมีปริมาณออกซิเจนลดต่ำลง ทำให้กระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่ย่อยเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์ย่อยโภชนะได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงมีผลต่อการเพิ่มประชากรของกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) ส่งผลต่อปริมาณการย่อยได้ของโภชนะโปรตีนทำให้การย่อยสลายโปรตีนเป็น เปปไทด์ กรดอะมิโน ซึ่งได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น NH_3-N ที่สูงขึ้นรวมถึงส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (microbial protein synthesis) (Liu *et al*. 2007) ขัดแย้งกับรายงายงานของ Goto *et al*. (2016) รายงานว่าการรวมกันของจุลินทรีย์รวม *Lactobacillus plantarum* 220, *E. faecium* 26 และ *Clostridium butyricum* Miyari ที่ระดับการเสริม 20 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR ไม่มีผลต่อค่า NH_3-N ทั้งนี้อาจเกิดจากการเสริมจุลินทรีย์รวมส่งผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส โดยมีการใช้ไนโตรเจน (nitrogen) เป็นสารอาหารจึงส่งผลต่อการผลิต NH_3-N ลดต่ำลง (Russell *et al*. 1992; Qadis *et al*. 2014) แต่อย่างไรก็ตาม เมธา วรรณพัฒน์ (2533) กล่าวว่าความเข้มข้นของ NH_3-N ภายในกระเพาะรูเมนขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนในอาหาร และระบบนิเวศวิทยาที่เหมาะสมภายในกระเพาะรูเมน

จากการทดลองการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) พบว่าปัจจัยจากระดับของการเสริม ส่งผลต่อการลดลงของ CH_4 ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในงานทดลองครั้งนี้มีค่าการ CH_4 อยู่ที่ 25.54 (mM/L) ทั้งนี้การลดลงของ CH_4 เนื่องมาจากองค์ประกอบหลักที่เป็นส่วนประกอบภายใน EM โดยยีสต์มีผลต่อกระบวนการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจน (hydrogen; H_2) และกระบวนการสังเคราะห์แก๊สเมทเธน ซึ่งจากการรายงานของ Pszczolkowski *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาในหลอดทดลองโดยการใช้ยีสต์ที่เป็นวัสดุเหลือใช้จากการผลิตเบียร์ Craft yeast (CY) พบว่า CY มีผลต่อการลดลงของ CH_4 อยู่ที่ 2.71 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (6.94 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเชื้อยีสต์สามารถกระตุ้นให้เกิด acetogens อย่างสมบูรณ์หรือลดการสังเคราะห์ C_2 หรือมีการดึงไฮโดรเจน มาใช้ดังนั้นการผลิต CH_4 จึงลดลง นอกจากนี้ Astuti *et al*. (2018) ทำการศึกษา *Lactobacillus plantarum* 14 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกจากกระเพาะรูเมน ทำการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ คือ *L. plantarum* U32 และ *L. plantarum* U40 ส่งผลต่อการลดของ CH_4 ผู้ศึกษาได้กล่าวว่าการเสริม LAB อาจกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ใช้กรดแลคติค (LUB) ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์ C_3 เนื่องจากในกระบวนการผลิต C_3 จำเป็นต้องใช้ไฮโดรเจน จึงไม่มีเหลือพอที่จะให้จุลินทรีย์ในกลุ่ม methanogenic bacteria นำใช้เป็นสารตั้งต้นในผลิต CH_4 ได้

5.1.5 การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

จากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นถึงปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนโดยวิธีการนับโดยตรง (ตารางที่ 4.6 และตารางที่ 4.7) พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรของแบคทีเรีย และเชื้อราของกลุ่มที่ทำการเสริมด้วย MFL ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด โดยพบว่าประชากรแบคทีเรียมีปริมาณ อยู่ที่ 24.05 x10^8 cell/ml และประชากรของเชื้อราอยู่ที่ 10.25 x10^5 cell/ml ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากมีจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของ MFL หลักๆ ที่สำคัญ คือ ยีสต์ และ LAB (Wondmeneh *et al*. 2011) ซึ่งจะทำงานร่วมกันส่งผลต่อการเพิ่มประชากรของแบคทีเรีย และเชื้อรา Jouany (2006) ได้อธิบายว่า ยีสต์จะช่วยย่อยน้ำตาลและ oligosaccharides ได้ผลผลิตเป็น เอทานอล กลีเซอรอล เปปไทด์ และ กรดอะมิโน ซึ่งจะเป็นแหล่งโภชนะสำหรับจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยีสต์สามารถใช้ออกซิเจนที่เข้าสู่กระเพาะรูเมนจากการกินอาหารและน้ำของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อใช้ในการผลิตพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตของตัวยีสต์เอง ส่งผลให้จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนที่สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนประชากรได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แบคทีเรียและเชื้อรา จากการรายงานของ Newbold and Rode. (2006) พบว่ายีสต์มีชีวิตสามารถเพิ่มประชากรแบคทีเรียได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ของแบคทีเรียทั้งหมด รวมถึงมีผลต่อการเพิ่มประชากรของเชื้อรา สอดคล้องกับการรายงานของ กฤษฎา บุญนพ (2551) ศึกษามันเส้นหมักยีสต์ทดแทนแหล่งของโปรตีนจากกากถั่วเหลืองในสัดส่วน 33:67, 67:33 และ 100:0 พบว่ามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรของทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ในทางตรงกันข้ามสามารถลดจำนวนประชากรโปรโตซัวได้ และจากการรายงานของ Polyorach *et al*. (2014a) การเสริมมันเส้นหมักยีสต์ (yeast fermented cassava chip, YEFECAP) สามารถเพิ่มประชากรแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ มากไปกว่านี้จากการรายงานของ McAllister *et al*. (2011) กล่าวว่า LAB ที่ถูกนำมาเสริมในอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องจัดเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) ที่มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงนิเวศวิทยาภายในกระเพาะรูเมนให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน โดยกระตุ้นการทำงานของ LUB และสามารถรักษาเสถียรภาพของค่าความเป็นกรด-ด่าง (อยู่ในช่วง 6-7) เนื่องจาก LUB ได้แก่ *S. ruminantium*, *M. elsdenii* และ *P. freudenreichii* สามารถนำใช้แลคเตทที่สะสมภายในกระเพาะรูเมนที่เกิดจากการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูงป้องกันไม่ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะรูเมนลดลงอย่างเฉียบพลัน (Beauchemin *et al*. 2003) ดังนั้นการลดการสะสมของแลคเตท อาจส่งผลดีต่อการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์โดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในอาหารต่อประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม

5.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสูตรอาหารผสมครบส่วน (Total mixed ration; TMR) โดยมีสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น (roughage: concentrate ration; R:C ration) อยู่ที่ 40:60 ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่ามีระดับโปรตีนหยาบ (crude protein; CP) อยู่ที่ 12.3 เปอร์เซ็นต์ และมีพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrients; TDN) อยู่ที่ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยโคนมที่ใช้ในการศึกษาเป็นโครีดนมระยะต้น (0-3 เดือน หลังคลอด) พันธุ์ลูกผสมโฮล์สไตน์ฟรีเชียน เพศเมีย ระดับสายเลือด 75 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 500±30 กิโลกรัม และให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ย 10-15 กิโลกรัมต่อวัน ซึ่งการให้อาหารที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการให้ผลผลิตน้ำนมที่สูงขึ้นนั้น โครีดนมควรได้รับโภชนะตามความต้องการในช่วงการให้น้ำนมขณะนั้นๆ สอดคล้องกับการรายงานของ สมคิด พรหมมา และบุญล้อม ชีวอิสละกุล (2540) ได้ประเมินความต้องการโภชนะของโคนมในประเทศไทย พบว่าโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ย อยู่ที่ 10-14 กิโลกรัมต่อวัน ที่ได้รับสูตรอาหาร TMR ควรมีองค์ประกอบของโปรตีนในอาหารประมาณ 12-14 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (TDN) ประมาณ 64 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับค่าที่ได้รายงานไว้โดย วิโรจ ภัทรจินดา (2560) พบว่ามาตรฐานของอาหาร TMR ที่เหมาะสมต่อโครีดนมที่ให้ผลผลิต 10-14 กิโลกรัมต่อวัน ควรได้รับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 68 เปอร์เซ็นต์ TDN อีกทั้งระดับของไขมันไม่ควรต่ำกว่า 2.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการทดลองครั้งนี้ พบว่าปริมาณของไขมันในอาหารมีค่าอยู่ที่ 3.5 เปอร์เซ็นต์ โดยอยู่ในระดับที่เหมาะสม จากการรายงานของ เมธา วรรณพัฒน์ (2553) กล่าวว่าระดับของไขมันหยาบที่เหมาะสมในอาหารสัตว์ควรอยู่ระหว่าง 3-5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้โคนมสามารถรักษาระดับของไขมันในน้ำนมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมตามมาตราฐานได้

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) (ตารางที่ 4.8) พบว่ามีระดับ OM, CP และ EE มีค่าอยู่ที่ 98.9, 20.6 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการรายงานของ Kwak *et al.* (2016) ทำการศึกษาจุลินทรีย์ผสม trace minerals-fortified microbial culture (TMC) (*Enterobacter sp*., *Bacillus sp*., *Lactobacillus sp*. and *Saccharomyces sp*.) พบว่ามีระดับ CP และ EE มีค่าอยู่ที่ 16.7 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำหมักจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ สัดส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (อัญชุลี ชินสุข. 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว

จากการศึกษาการเสริม MFL ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโครีดนมระยะต้นของการให้น้ำนม (ตารางที่ 4.9) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาหารที่โคได้รับในการศึกษาครั้งนี้ได้นำไปใช้เพื่อการดำรงชีพและการให้ผลผลิตน้ำนมเป็นหลัก จึงไม่ส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวของโครีดนม จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Muruz and Gul (2020) ได้ศึกษายีสต์มีชีวิต (live yeast; LY) สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ที่ระดับการเสริม 5 กรัม ร่วมกับอาหาร TMR พบว่าไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของโคให้นมระยะกลาง ในขณะที่ Kitaw *et al*. (2013) ศึกษาการใช้ effective microbes (EM) ในอาหารโครระยะให้นมพันธุ์ลูกผสม โบรัน (Boran) และฟรีเซี่ยน (Friesian) 50 เปอร์เซ็นต์ ได้ทำการเสริม EM (Bokashi) ที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการกินได้ทั้งหมดของวัตถุแห้ง (total dry matter intake; TDMI) ร่วมกับเมล็ดถั่วเค้กและหญ้าพื้นเมือง พบว่าส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (392.8±66.4 และ 277.2±54.6 กรัมต่อวัน ตามลำดับ) ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจาก ปริมาณการกินได้ สัดส่วนของอาหารข้นและอาหารหยาบ ความสั้นและยาวของอาหาร ความน่ากิน โภชนะที่สัตว์ได้รับ ความสามารถในการย่อยและการดูดซึมโภชนะ และการเปลี่ยนแปลงอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed conversion ratio; FCR) (บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2532; เมธา วรรณพัฒน์. 2533)

5.2.3 ปริมาณการกินได้

จากการศึกษาปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งของโครีดนมระยะต้นของการให้น้ำนมที่ได้รับอาหาร TMR ร่วมกับการเสริม MFL พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณการกินได้เพิ่มสูงขึ้น เมื่อคิดในหน่วยกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักเมแทบอลิก ดังแสดงในตารางที่ 4.9 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก MFL ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่สำคัญที่ส่งผลต่อตัวสัตว์หลักๆ ได้แก่ ยีสต์ และ LAB ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนประชากรของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเยื่อใยภายในกระเพาะรูเมน สายพันธุ์ของยีสต์ที่นิยมนำมาใช้ในตัวสัตว์ ได้แก่ *S. cerevisiae* โดยยีสต์เป็นแหล่งโภชนะสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน เมื่อเกิดการสลายตัว (autolyzed) ยีสต์จะปลดปล่อย โปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินจาก cytosol, B-D-glucans และ mannoproteins จากผนังเซลล์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในกระเพาะรูเมนสามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนประชากรได้ (สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียที่ย่อยสลายเยื่อใย (Ellis *et al.* 2016) จัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สำคัญต่อการย่อยสลายเยื่อใย จากผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Piamphon *et al.* (2014) พบว่าหญ้าเนเปียร์ผสมหัวมันสดที่ทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด ได้แก่ *A. niger* และ *S. cerevisiae* มีผลต่อการเพิ่มปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(dry matter intake, DMI) (7.7 เป็น 8.5 กิโลกรัมต่อวัน) นอกจากนี้ สินีนาฏ พลโยราช (2551) พบว่าปริมาณการกินได้ของกลุ่มที่เสริมน้ำหมักยีสต์ (YFL) และน้ำมันมะพร้าว (coconut oil; CO) ที่ใช้มันเฮย์ (cassava hay; CH) เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร มีค่าสูงกว่าการใช้กากถั่วเหลือง (soy bean meal; SBM) เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร และจากการศึกษาของ Moallem *et al*. (2009) พบว่าโครยะให้นมที่ได้รับอาหาร TMR เสริมด้วย Live yeast (LY) (*S. cerevisiae* SC47) ที่ระดับการเสริม 1 กรัม ต่อ 4 กิโลกรัมของวัตถุแห้ง ส่งผลต่อการเพิ่ม DMI เฉลี่ยต่อวันในกลุ่ม LY มากกว่ากลุ่มควบคุม 0.6 กิโลกรัมต่อวัน (2.5 เปอร์เซ็นต์) อีกทั้งในการศึกษาครั้งนี้ DMI มีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานไว้โดย NRC. (2001) พบว่าโคนมที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 450-520 กิโลกรัม ให้ผลผลิตน้ำนมประมาณ 10-15 กิโลกรัมต่อวัน ควรมี DMI ประมาณ 14-16 กิโลกรัมต่อวัน หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอยู่ที่ 2.6-3.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว

นอกจากนี้ปริมาณการกินได้ของโภชนะของโครีดนมพบว่าเมื่อทำการเสริม MFL เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้โครีดนมมีการกินได้ของโภชนะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ($P = 0.053$) มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม ซึ่งปริมาณการกินได้ (ตารางที่ 4.9) มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ ได้แก่ CP, NDF และ ADF ดังแสดงในตารางที่ 4.10 โดยปริมาณการกินได้ของโปรตีนที่โคนมได้รับในงานทดลองครั้งนี้มีค่าอยู่ระหว่าง 1.6-1.9 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานไว้โดย NRC. (2001) พบว่าโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมอยู่ระหว่า 10-15 กิโลกรัมต่อวัน ควรได้รับโปรตีนที่ย่อยได้ 1.6-2.2 กิโลกรัมต่อวัน อย่างไรก็ตามยังคงมีปัจจัยอื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้องและมีผลต่อปริมาณการกินได้ของโค เช่น ลักษณะของอาหาร รสชาต ความสัมพันธ์ของพลังงานในอาหาร ความสามารถในการย่อยได้ น้ำหนักตัวและการให้ผลผลิต (ฉลอง วชิราภากร. 2541) รวมทั้งสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบ ความถี่ในการให้อาหาร พันธุ์สัตว์ เพศ ตลอดจนอุณหภูมิและสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวสัตว์ (เมธา วรรณพัฒน์. 2533)

5.2.4 การย่อยได้ของโภชนะ

การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของโครีดนมนมระยะต้นของการให้น้ำนมที่ได้รับอาหาร TMR ร่วมกับการเสริม MFL ในระดับการเสริมที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.10) พบว่าไม่ส่งผลต่อการย่อยได้ของ DM, OM และ EE ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับของการเสริม MFL การย่อยได้ของ CP, NDF และ ADF มีค่าเพิ่มสูงขึ้นและมีค่าสูงที่สุดที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (69.1, 63.2 และ 64.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) จะเห็นได้ว่าค่าการย่อยได้ของโภชนะโปรตีนของงานทดลองครั้งนี้มีค่าเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับปริมาณการกินได้เพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 4.9) กิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของอาหาร อย่างไรก็ตามเมื่อโคกินอาหาร อาหารจะถูกหมักย่อยโภชนะโปรตีนจากจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนโดยเฉพาะอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยิ่งแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีน ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น แอมโมเนีย โดยแอมโมเนียบางส่วนจะถูกนำไปใช้สังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และบางส่วนที่ไม่ถูกนำไปใช้จะมีการดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนลำเลียงเข้าสู่กระแสเลือด (เมธา วรรณพัฒน์. 2533) ทำให้ค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) เพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 4.11) ส่งผลต่อค่าโปรตีนในน้ำนม และค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea nitrogen; MUN) (ตารางที่ 4.12) ที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของการย่อยได้ของโภชนะโปรตีนเนื่องมาจาก MFL มีส่วนประกอบของยีสต์และ LAB เป็นชนิดจุลินทรีย์หลักสำคัญ โดยผนังของเซลล์ยีสต์ (*S. cerevisiae*) มีวิตามินจาก cytosol, B-D-glucans และ mannoproteins ซึ่งเป็นสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน (สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558) และภายในเซลล์ยีสต์อุดมไปด้วยโปรตีน 40-60 เปอร์เซ็นต์ กรดอะมิโน ไลซีน (lysine) และฮีสทิดีน (histidine) (Rossi *et al.* 2004) รวมถึงยีสต์มีชีวิตจะสามารถใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ภายในกระเพาะรูเมน ในการเผาผลาญน้ำตาลและ oligosaccharide สายสั้นๆ จากอาหารและได้มีการผลิตเอทธานอล กลีเซอรอล เปปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งผลผลิตเหล่านี้สามารถใช้ประโยชน์ได้โดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ภายในกระเพาะรูเมน และการใช้ออกซิเจนของยีสต์ยังช่วยให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจนทำให้แบคทีเรียที่สำคัญเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน และกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายแป้ง (amylolytic bacteria) เป็นต้น (Jouany. 2006; สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558) อีกทั้งการสลายตัวของเซลล์ยีสต์สามารถถูกนำไปใช้ในตัวสัตว์ทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์ได้ (วาสนา ศิริแสน และกิตติ วิรุณพันธุ์. 2557) จากการรายงานของ Ghazanfer *et al*. (2015) กล่าวว่ายีสต์สามารถเพิ่มการไหลผ่านของโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจากกระเพาะอาหารและเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนเข้าสู้ลำไส้เล็กได้ ซึ่งได้มีการศึกษาของ Piamphon *et al.* (2014) ทำการศึกษาหญ้าเนเปียร์ผสมหัวมันสดหมักร่วมกับจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน โดยทำการเปรียบเทียบกลุ่มที่หมักด้วย *A. niger* และกลุ่มที่หมักด้วย *S. cerevisiae* พบว่าหญ้าเนเปียร์ผสมหัวมันสดหมักด้วยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด มีผลต่อการกินได้และการย่อยได้ของโภชนะโดยเฉพาะแหล่งของ CP เพิ่มขึ้นจากกลุ่มที่ไม่ได้หมักจุลินทรีย์ (55.1 เป็น 63.3 และ 64.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน ส่งผลทำให้การย่อยได้ของโภชนะโปรตีนเพิ่มขึ้น (Boing. 1983; Piamphon *et al.* 2014) นอกจากนี้ กฤษฎา บุญนพ (2551) ศึกษาผลของการใช้มันเส้นหมักยีสต์ทดแทนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองในสัดส่วน 0:100, 33:67, 67:33 และ 100:0 ในอาหารข้น พบว่าการย่อยได้ของ CP เพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการใช้มันเส้นหมักยีสต์ทดแทนกากถั่วเหลืองในระดับที่สูงขึ้นโดยมีค่าสูงที่สุดที่สัดส่วน 67:33 (65.2, 68.8, 73.7 และ 72.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

นอกจากนี้การย่อยได้ของโภชนะเยื่อใย ได้แก่ NDF และ ADF เพิ่มสูงขึ้นที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน (63.2 และ 64.3 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งพบว่าเป็นระดับการเสริม MFL ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมในการเพิ่มการย่อยได้ สอดคล้องกับปริมาณการกินได้ที่เพิ่มสูงขึ้นดังแสดงในตารางที่ 4.9 ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า ยีสต์ (*S. cerevisiae*) มีความสามารถในการเพิ่มการย่อยได้ของผนังเซลล์ เนื่องจากยีสต์เป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและ การแตกหน่อของเชื้อรา (Jiang *et al.* 2017) โดยกิจกรรมของเชื้อราเป็นจุลินทรีย์กลุ่มแรกที่เข้าย่อยโครงสร้างของโครงสร้างเยื่อใย โดยจะใช้ส่วนที่เรียกว่า rhizoid ซึ่งสามารถแทงผ่านผนังของเซลล์พืชเพื่อลดความตึงของเส้นใยทำให้เกิดการแตกของเส้นใยได้ง่ายขึ้น ซึ่งยีสต์บางสายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายเยื่อใย เช่น *Fibrobacter succinogenes* S85 และส่งผลในการลดระยะพักของ *Ruminococcus albus*7, *R. flaefacins* FD1 และ *Butyivibrio fibrisolvens* D1 ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญในการย่อยเซลลูโลสที่เป็นผนังเซลล์พืช (สินีนาฏ พลโยราช และ เมธา วรรรณพัฒน์. 2558) อีกทั้งการรวมกันของจุลินทีย์ หรือจุลินทรีย์แบบผสม (mixed microbe) เพื่อเพิ่มศักยภาพในการย่อยได้ของโภชนะโดยมีส่วนประกอบหลักที่สำคัญคือ LAB ที่มีผลทำให้กรดแลคติคคงที่ในกระเพาะรูเมนช่วยให้จุลินทรีย์โดยรวมในการปรับการสะสมกรดแลคติค กระตุ้นให้แลคเตทใช้แบคทีเรียทำให้กระเพาะรูเมนมีกระบวนการหมักได้ดียิ่งขึ้น จากผลการทดลองครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Zhao *et al.* (2019) พบว่าฟางข้าวที่หมักด้วย LAB (*Lactobacillus plantrarum)* ร่วมกับกากน้ำตาลเป็นระยะเวลา 60 วัน ส่งผลต่อการลดลงของเยื่อใย ได้แก่ NDF เซลลูโลส และ เฮไมเซลลูโลส โดยคาร์โบไฮเดรตเชิงโครงสร้างอาจถูกย่อยสลายด้วยค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำ เกิดจากการผลิตกรดแลคติกซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จาก *L. plantrarum* อีกทั้งการใช้กากน้ำตาลร่วมสามารถกระตุ้นการหมักกรดแลคติก และส่งเสริมการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (structural carbohydrate; SC) ได้อีกด้วย (Chen *et al*. 2017) นอกจากนี้ Polyorach *et al*. (2017a) พบว่าฟางข้าวที่หมักด้วย *A. niger* สามารถลดเยื่อใย NDF และ ADF จาก 77.3 เป็น 70.2 และ 54.8 เป็น 49.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อรา *A. niger* มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส ส่งผลต่อการเพิ่มระดับโปรตีนและลดระดับเยื่อใยได้ (พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล และคณะ. 2559) นอกจากนี้ *Aspergillus spp*. สามารถผลิตเอนไซม์ β-glucosidase ที่สามารถย่อยองค์ประกอบของ lignocelluloses ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ลิกนิน เซลลูโลส และเฮไมลเซลลูโลส ทำให้เกิดการใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ได้สูงสุด (Ryu and Mandels. 1980; วาสนา ศิริแสน และกิตติ วิรุณพันธุ์. 2557)

5.2.5 ความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด

จากการศึกษาความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (Blood urea nitrogen; BUN) ของโครีดนมระยะต้นของการให้น้ำนมที่ได้รับอาหาร TMR ที่มีการเสริม MFL ในชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร มีค่าความเข้มข้นของ BUN เพิ่มสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยการเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด (19.7 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) โดยความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของ BUN สอดคล้องกับการย่อยได้ของโภชนะโปรตีน (ตารางที่ 4.10) และมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น NH_3-N ในกระเพาะรูเมน ซึ่งอธิบายได้ว่าการเพิ่มขึ้นของ BUN เป็นผลมาจากการที่สัตว์กินอาหารที่มีโปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับสูง เมื่อเข้าสู่กระเพาะรูเมนจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน เข้าย่อยสลายได้ NH_3-N มากขึ้น สามารถมีการดูดซึมผ่านผนังของกระเพาะรูเมนเข้ากระแสเลือดลำเลียงเข้าสู่ตับเพื่อเปลี่ยนเป็นยูเรียได้มากขึ้น ส่งผลให้ระดับ BUN เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของ BUN ส่งผลต่อค่าความเข้มข้นของ MUN ที่เพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 4.12) (Higginbotham *et al*. 1989; ฐิติมา นรโภค. 2554) เมื่อพิจารณาระดับการเสริม MFL ในงานทดลองครั้งนี้พบว่าที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน เป็นระดับที่เหมาะสมส่งผลต่อค่าความเข้มข้นของ BUN สูงที่สุด ใกล้เคียงกับ Kampa *et al*. (2009) ได้ทำการศึกษาในโคพื้นเมืองที่ได้รับมันสำประหลังหมักยีสต์ (yeast fermented cassava chip; YFCC) เป็นแหล่งอาหารข้นที่ระดับการเสริม 205 กรัมต่อวัน เปรียบเทียบแหล่งอาหารข้นที่มีระดับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ โดยมีฟางข้าวหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบ พบว่า YFCC ส่งผลต่อค่า BUN สูงกว่ากลุ่มที่ใช้อาหารข้นที่มีระดับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ อยู่ที่ 13.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ อีกทั้ง YFCC ส่งผลต่อค่า NH_3-N เพิ่มสูงขึ้น (21.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้จากรายงานของ Gao *et al*. (2020) ได้ทำการศึกษาการเสริมยีสต์ (*S. cerevisiae*) และ LAB (lactococcal and maltodextrin) ร่วมกับอาหาร TMR พบว่าส่งผลให้ BUN ของโคให้นมมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของค่า BUN อาจเนื่องมาจากยีสต์ที่มีอยู่ใน MFL สามารถใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ภายในกระเพาะรูเมนเพื่อใช้ในการผลิตพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของยีสต์เอง และเมื่อยีสต์เกิดการสลายตัวจะเป็นแหล่งของสารอาหาร (โปรตีน แร่ธาตุ และวิตามิน) ให้กับจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน (Jouany. 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน เป็นผลให้เป็นการย่อยได้ของโปรตีนภายในกระเพาะรูเมนเปลี่ยนเป็น เปปไทด์ กรดอะมิโน และได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น NH_3-N เพิ่มสูงขึ้น (Liu *et al*. 2007) อีกทั้ง LAB มีผลต่อการสร้างสมดุลของการปลดปล่อย NH_3-N ในกระเพาะรูเมนอีกด้วย (Da silva *et al*. 2016) จากผลการศึกษาครั้งนี้มีค่าความเข้มข้นของ BUN อยู่ที่ 19.7 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมตามค่าที่รายงานไว้โดย เมธา วรรณพัฒน์ (2533) กล่าวว่าระดับความเข้มข้นของ BUN ของโคปกติอยู่ที่ 10-20 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์

5.2.6 ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม

จากกการศึกษาผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมของโครีดนมระยะต้นที่ได้รับอาหาร TMR ร่วมกับการเสริม MFL (ตารางที่ 4.12) เมื่อเพิ่มระดับการเสริม MFL ปริมาณผลผลิตน้ำนมและปริมาณน้ำนมปรับไขมันนม 3.5 เปอร์เซ็นต์ (3.5 % FCM) มีค่าเพิ่มสูงขึ้น และที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อววัน มีค่าสูงที่สุด (15.4 และ 17.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของผลผลิตน้ำนมสอดคล้องกับปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งต่อน้ำหนักตัว (g/Kg $BW^{0.75}$) ที่เพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 4.9) และเมื่อพิจารณาระดับการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ในการทดลองครั้งนี้พบว่าระดับที่เหมาะสมต่อการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ MFL อยู่ที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ใกล้เคียงกับการรายงานของ Yuan *et al.* (2015) ที่ได้ทำการศึกษาการเสริมยีสต์ในที่ระดับการเสริมที่แตกต่างกันได้แก่ 0, 30, 60 และ 90 กรัมต่อวัน พบว่าผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นตามระดับการเสริมโดยมีค่าสูงที่สุดที่ระดับการเสริม 60 กรัมต่อวัน (47.8 กิโลกรัมต่อวัน) รวมไปถึงเมื่อเพิ่มระดับการเสริมยีสต์ 90 กรัมต่อวัน สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีน และแลคโตสในน้ำนมสูงที่สุด (3.12 และ 4.85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) นอกจากนี้ MFL ที่ใช้เสริมร่วมกับอาหาร TMR มีองค์ประกอบของจุลินทรีย์หลักที่สำคัญ ซึ่งถือว่าส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม ได้แก่ ยีสต์และ LAB ได้มีการศึกษาของ Muruz and Gul (2020) ศึกษาการเสริมยีสต์มีชีวิต (Live yeast ; LY) สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ที่ระดับการเสริม 5 กรัม ร่วมกับ TMR ให้แก่โครีดนมเป็นระยะเวลา 70 วัน พบว่า *S. cerevisiae* สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยอยู่ที่ 0.42 กิโลกรัมต่อวัน รวมถึงเพิ่ม 4 % FCM เฉลี่ยอยู่ที่ 2.44 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งจากการศึกษาของ Xu *et al*. (2017) เมื่อทำการเสริม *Lactobacillus casei* zhang และ *L. plantarum* P-8 ที่ระดับการเสริม 50 กรัมต่อวัน พบว่าส่งผลต่อผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นถึง 3.43 กิโลกรัมต่อวัน นอกจากนี้ Sallam *et al.* (2019) ได้ศึกษาการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ได้แก่ *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* ในอาหาร TMR ถึงการเพิ่มผลผลิตน้ำนม พบว่าเมื่อทำการเสริม *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* ที่ระดับ 3.5 กรัมต่อตัวต่อวัน ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดร่วมกัน สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้ โดยเกิดจากกลไกการทำงานของ LAB จะส่งผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ LUB (*S. ruminantium*, *M. elsdenii*) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการผลิตกรดแลคติกมาเป็น C_3 ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของ C_3 ในกระเพาะรูเมนส่งผลต่อการเพิ่มการผลิตกลูโคส (glucose) ในตับ (Stein *et al*. 2016) โดยกลูโคสเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์แลคโทส (lactose) ที่เกิดจากการรวมกันของกลูโคสและกาแลคโทส (galactose) ซึ่งเกิดขึ้นที่ส่วน golgi apparatus ของเซลล์สร้างน้ำนม (secretory cell) และส่งผลต่อเนื่องไปถึงการเพิ่มผลผลิตน้ำนมภายในต่อมผลิตน้ำนม (mammary gland) ปริมาณแลคโทสที่สังเคราะห์ได้จะมีการเคลื่อนที่ผ่านเซลล์เข้าไปภายในกระเปาะนม (alveolus) เมื่อแลคโทสมีความเข้มข้นสูงส่งผลทำให้เกิดกระบวนการออสโมติก (osmotic pressure) จากที่มีความเข้มข้นสูงภายในเซลล์ไปยังที่มีความเข้มข้นต่ำภายใน Alveolus เป็นกระบวนการดึงน้ำเข้าสู่เซลล์เพื่อรักษาหรือช่วยปรับสมดุลแรงดันออสโมติก และน้ำที่เข้าสู่เซลล์จะถูกนำมาสังเคราะห์เป็นน้ำนมส่งผลให้ปริมาณน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น (Polyorach *et al.* 2015; Weiss *et al.* 2008)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ไขมัน แลคโตส ของแข็งไม่รวมไขมัน และความถ่วงจำเพาะ ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่ามาตรฐานตามสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ว่าด้วยเรื่องมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สินค้าเกษตร (มกษ. 6003-2553) ของน้ำนมดิบ โดยมีมาตรฐานองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมดังนี้ ไขมันไม่ต่ำกว่า 3-3.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลแลคโตสไม่ต่ำกว่า 4.5 เปอร์เซ็นต์ ของแข็งไม่รวมไขมัน (Solid not fat; SNF) ไม่ต่ำกว่า 8.25 เปอร์เซ็นต์ และความถ่วงจำเพาะไม่ต่ำกว่า 1.028 ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่าอยู่ในมาตรฐานดังแสดงในตารางที่ 4.12 ได้แก่ 3.4-4.2, 4.2-4.8, 8.1-8.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.02-1.03 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าโปรตีนและของแข็งทั้งหมด (Total solid; TS) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยการเสริมที่ระดับ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด (4.0 และ 13.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) การที่เปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการย่อยได้ของโภชนะโปรตีน (ตารางที่ 4.10) ปริมาณการกินได้ (ตารางที่ 4.9) และความเข้มข้นของ BUN (ตารางที่ 4.11) ที่เพิ่มสูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมทั้งนี้อาจเนื่องมาผลของการเสริม MFL ซึ่งการมีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง ยีสต์และ LAB ส่งผลทำให้ภายในกระเพาะรูเมนอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจนและสามารถรักษาสมดุลของค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสม (6-7) (Gadaga *et al.* 2001; Shimizu *et al.* 2005) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน อีกทั้งยีสต์เมื่อสลายตัวแล้วยังเป็นสารอาหารให้แบคทีเรียที่อยู่ภายในกระเพาะรูเมนโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน ซึ่งส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมน (Stein *et al.* 2006) ที่สามารถผลิตกรดอะมิโนและแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้น โดยโคนมสามารถดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนผ่านลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดและถูกนำไปใช้ประโยชน์ใน mammary gland เพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมได้ (วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546) อีกทั้งในการทดลองครั้งนี้พบว่ามีแนวโน้มการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มสูงขึ้นตามระดับของการเสริม MFL (P=0.081) สอดคล้องกับการย่อยได้ของโภชนะเยื่อใย NDF และ ADF (ตารางที่ 4.10) โดยจากการรายงานของ ปิ่น จันจุฬา และเมธา วรรณพัฒน์ (2548) กล่าวว่า การย่อยได้ของเยื่อใยมีบทบาทสำคัญต่อเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนม เนื่องจากการสร้างเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมจะใช้กรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายเป็นสารตั้งต้น โดยเฉพาะ C_2 ดังนั้นการย่อยได้ของเยื่อใยเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นและส่งผลต่อค่า TS เพิ่มสูงขึ้นด้วย เนื่องจากค่า TS ในน้ำนมมีองค์ประกอบหลักคือ ไขมัน และโปรตีน (สหกรณ์โคนมมวกเหล็ก. 2548) โดยพบว่าค่า TS ในน้ำนมของการศึกษาครั้งนี้ มีค่าอยู่ที่ 13.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับที่เหมาะสมตามมาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ. 6003-2553) จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการเสริม MFL ที่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่สำคัญ คือ ยีสต์และ LAB ได้มีการรายงานของ Polyorach *et al.* (2015) ศึกษาผงเปลือกมังคุดร่วมกับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (YEFFCAP) ที่ระดับการเสริม 300 กรัม พบว่าส่งผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมของโคนมสูงอยู่ที่ 3.6 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร คล้ายคลึงกับการรายงานของ Dias *et al.* (2018) ทำการศึกษาการเสริมยีสต์ (yeast culture) ในโคนมที่ได้รับอาหารที่มีแป้งในปริมาณสูง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีนเพิ่มสูงขึ้น 1.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิโลกรัมต่อวัน นอกจากนี้จากการรายงานของ Gao *et al*. (2020) ใช้อาหาร TMR ร่วมกับ LAB (Lactococal) และ ยีสต์ (*S. cerevisiae*) พบว่ามีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนม (4.02 เปอร์เซ็นต์)

การเสริม MFL ส่งผลต่อค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea nitrogen; MUN) มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยที่ระดับการเสริมที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด (15.4 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (ตารางที่ 4.11) ที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งค่าความเข้มข้น MUN ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ใกล้เคียงกับการรายงานของ Jonker *et al*. (1998) และ Jonner *et al*. (1999) อ้างโดย ฐิติมา นรโภค (2554) กล่าวว่าความเข้มข้นของ MUN ที่เหมาะสมควรมีค่าอยู่ระหว่าง 10-16 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ โดยค่า MUN ได้จากแอมโมเนียที่ถูกดูดซึมจากกระเพาะรูเมนถูกนำมาสังเคราะห์เป็น ยูเรีย-ไนโตรเจน (Hopkins. 2001; นริศรา เหล็งหวาน. 2551) โดยอาศัยการย้ายหมู่อะมิโน ทำให้เกิดแอมโมเนียในกระแสเลือดและถูกนำไปสังเคราะห์เป็นยูเรียในตับ โดยผ่านวัฏจักรยูเรีย (Urea cycle) (App *et al*. 1992; นริศรา เหล็งหวาน. 2551) และ BUN แพร่เข้าสู่เต้านมและน้ำนมตามลำดับ (Hopkins. 2001) ซึ่งค่าความเข้มข้นของ MUN บ่งบอกถึงระดับโปรตีนในอาหารที่เพียงพอ ความสมดุลระหว่างโปรตีนและพลังงานในอาหาร (Wattiaux and Karg. 2004) ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากไนโตรเจน และความเข้มข้นของ NH_3-N ในกระเพาะรูเมน (Nousiainen *et al.* 2004; ฐิติมา นรโภค. 2554)

5.2.7 การประเมินผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากผลผลิตน้ำนม พบว่ารายรับที่ได้จากการผลิตน้ำนมของโครีดนม และรายได้สุทธิจากเมื่อหักค่าต้นทุนทางด้านอาหารแล้ว มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระดับการเสริม MFL โดยกลุ่มโครีดนมระยะต้นที่ได้รับอาหาร TMR ร่วมกับการเสริม MFL ที่ระดับการเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน มีค่าสูงที่สุด (279.4 และ 169.6 บาทต่อตัวต่อวัน) (ตารางที่ 4.12) จากการศึกษาครั้งนี้ราคาอาหาร TMR ร่วมกับการเสริม MFL ที่การเสริม 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน สามารถสร้างผลกำไรให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมต่อวันเฉลี่ย 169.6 บาทต่อตัวต่อวัน ดีกว่ากลุ่มระดับการเสริมอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับค่าองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมที่มีระดับเปอร์เซ็นต์โปรตีนและของแข็งทั้งหมด (ตารางที่ 4.12) ซึ่งถือว่าเป็นตัวกำหนดราคาในการขายของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมตามมาตรฐานการรับซื้อน้ำนมโค พศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการให้น้ำนมในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนม สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

การเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) ที่ระดับการเสริม 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารข้น เป็นระดับที่เหมาะสม จากการศึกษา *In vitro* gas production technique ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าการผลิตแก๊สจากส่วนที่ละลายได้ง่าย (a) ค่าปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (b) ศักยภาพการย่อยสลายได้ (a+b) และการผลิตแก๊สสะสมที่ 72 ชั่วโมง ในทางตรงกันข้ามการเสริม MFL ไม่มีผลต่อความแตกต่างของค่าอัตราการเกิดแก๊ส (c) นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (*In vitro* dry matter degradability; IVDMD) และอินทรียวัตถุ (*In vitro* organic matter degradability; IVOMD) ในขณะที่ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia nitrogen; NH_3-N) กรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมด (total volatile fatty acids; TVFAs) กรดโพรพิออนิก (propionic acid; C_3) จำนวนประชากรของแบคทีเรีย (bacteria) และเชื้อรา (fungi) ในกระเพาะรูเมนมีค่าเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามกรดอะซิติก (acetic acid; C_2) กรดบิวทิริก (butyric acid; C_4) สัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก (C_2:C_3) การผลิตแก๊สเมทเธน (methane production; CH_4) และจำนวนประชากรของโปรโตซัว (protozoa) มีค่าลดต่ำลง

เมื่อทำการศึกษาในโคนมระยะต้นของการให้น้ำนมที่ได้รับอาหารผสมครบส่วน (total mixed ration; TMR) ในสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นอยู่ที่ 40:60 ร่วมกับการเสริมน้ำหมักจุลินทรีย์รวม (microbial fermented liquid; MFL) โดยระดับการเสริม MFL ที่เหมาะสมอยู่ที่ 200 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง (g/kg BW $^{0.75}$) การย่อยได้ของโภชนะ ได้แก่ โปรตีนหยาบ (crude protein) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber; NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber; ADF) ในขณะที่ไม่มีผลต่อความแตกต่างของค่าการย่อยได้ของ วัตถุแห้ง (dry matter; DM) อินทรียวัตถุ (organic matter; OM) และไขมันหยาบ (ether extract; EE) รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโต (กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน) ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อทำการเสริม MFL

นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการเพิ่มค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) ค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (milk urea nitrogen; MUN) ปริมาณน้ำนม 3.5 % FCM (fat corrected milk) และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ได้แก่ โปรตีน (protein) ของแข็งทั้งหมด (Total solid; TS) ในขณะที่ไม่มีผลต่อความแตกต่างของ ไขมัน (fat) แลคโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(lactose) ของแข็งปราศจากไขมัน (solid not fat; SNF) และความถ่วงจำเพาะในน้ำนม ส่งผลต่อการเพิ่มรายรับจากการจำหน่ายผลผลิตน้ำนมและเพิ่มผลกำไรให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

6.2 ข้อเสนอแนะ

6.2.1 ควรมีการใช้ระยะเวลาในการศึกษาในโครีดนมระยะต้น (early lactation) จนถึงสิ้นสุดระยะการให้น้ำนม (late lactation) ของโครีดนม เพื่อทราบถึงศักยภาพสูงสุดของการเสริม MFL

6.2.2 การเสริม MFL ควรมีการศึกษาร่วมกับแหล่งวัตถุดิบอาหารท้องถิ่นชนิดอื่นๆ เพื่อเป็นการสนับสนุนการใช้ทรัพยากรอาหารโคที่มีในท้องถิ่นให้มีศักยภาพสามารถเพิ่มผลผลิตและรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

6.2.3 ควรมีการศึกษาการเสริม MFL ในสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่นๆ เช่น โคเนื้อ แพะ และแกะ เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์ได้อย่างสูงสุด

6.2.4 ควรมีการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมและวัตถุดิบอาหารในแต่ละท้องถิ่นนั้นๆ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กฤตพล สมมาตย์. 2548. **การย่อยและการแมแทบอลิซึม.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กฤษฎา บุญนพ. 2551. **"การศึกษากระบวนการผลิตและการใประโยชน์ของโปรตีนจากมันเส้นหมักยีสต์ ต่อกระบวนการหมัก การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในสัตว์เคี้ยวเอื้อง."** วิทยานิพนธ์ปริญญวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา, สมจิตร อินทรมณี, วิโรจน์ วนาสิทธชัยวัฒน์, โอสถ นาคสกุล, ศุภชัย อุตซาซน และ นพวรรณ ชมชัย. 2538. **เทคนิคการให้อาหารโคนม.** กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์.

จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา, โอสถ นาคสกุล และสมจิตร อินทรมณี. 2547. **เทคนิคการให้อาหารโคนม.** กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. หน้า 9-13.

จีระวัชร์ เข็มสวัสดิ์, อุทัย ลีรัตนชัย, ทิพา บุณยะวิโรจน์, วีระพล พูนพิพัฒน์ และไพฑูรย์ ชูเมือง. 2536. **ผลผลิตต้นทุนและผลตอบแทนของการปลูกหญ้าเนเปียร์ซอกั้มแดง ไข่มุก และจัมโบ้ในเขตชลประทาน.** รายงานประจำปี 2536 ศูนย์วิจัยอาหารสัตว์ชัยนาท กองอาหารสัตว์กรมปศุสัตว์. 126-133.

จุฑาลักษณ์ วงศ์ชัยชนะ. 2549. **"การศึกษาปริมาณแทนนินในใบมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาพแปลง."** ปัญหาพิเศษ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฉลอง วชิราภากร. 2541. **โภชนศาสตร์ และการใช้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า. 35-47.ขอนแก่น.

โชค มิเกล็ด, จีระวัชร์ เข็มสวัสดิ์, จรูญโรจน์ จันทรศิริ, วิสูตร ศิริณุพงษานันท์ และอภิชาติ ศรีภัย. 2552. "การใช้ประโยชน์จากการทำทุ่งหญ้าถั่วผสมแบบสลับเป็นแถบใน การเลี้ยงโคนม." *ใน* **การสัมมนาเรื่องงานวิจัย วช. โอกาสการพัฒนาศักยภาพโคนมของประเทศ**. 132-152. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ภารกิจโครงการและประสานงานวจิย.

โชคชัย วนภู, นันทกร บุญเกิด, และลำไพร ดิษฐวิบูลย์. 2546. คนทำไวน์: winemaker 1. สมบูรณ์พริ้นติ้ง, นครราชสีมา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2550. **น้ำหมักชีวภาพ: เทคโนโลยีเพื่อความพอเพียงสู่นวัตกรรมเพื่อสุขภาพชุมชนที่ยั่งยืน** งานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อชนบทและชุมชน ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. ปทุมธานี.

ฐิติมา นรโภค. 2554. "**ผลของระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมเปลือกมังคุด (Mago-pel) ในสูตรอาหารข้นที่มีไขมันสูงต่อกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน ผลผลิตน้ำนมและคุณภาพน้ำนมในครีดนม**" วิทยานิพนธ์ปริญญวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นพวรรณ ด่านบำรุงตระกูล, ธีราพร ตังเจริญ และ ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์. 2558. **ผลของยูเรียต่อการผลิตเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* Sc90.** รายงานการวิจัย ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

นริศรา เหล็งหวาน. 2551. **" อิทธิพลของระดับของหญ้าแพงโกล่าแห้งและกระถินสับแห้ง ที่ใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบในสูตรอาหารผสมสำเร็จในโคให้นม"** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2532. **โภชนศาสตร์สัตว์.** ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 170 หน้า.

ปิ่น จุฬา และเมธา วรรณพัฒน์. 2546. "บทบาทของอาหารเยื่อใยต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน, ปริมาณการกินได้, ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโครีดนม" **วารสารโคนม.** 20 (1).

พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล, พรศิลป์ สีเผือก, ชัยสิทธิ์ ปรีชา และวุฒิชัย สีเผือก. 2559. "การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจากซากใบปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis Jacq.*)" **วารสารแก่นเกษตร.** 44(1): 948-952.

พวน ทัศพงษ์. 2543. **"การศึกษาความต้องการพลังงานและโปรตีนในโคนมสาวลูกผสม"** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 6003-2553. 2553. **น้ำนมโคดิบ.** สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เมธา วรรณพัฒน์. 2533. โภชนะศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. หน้า 69-94.

วลัยกานต์ เจียมเจตจรูญ, สุวรรณี เกศกมลาสน์ และสดุดี พงษ์เพียจันทร์. 2559. **การรวบรวมและจัดทำ ข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์.** *ใน* เอกสารคำแนะนำ. สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันดี ศิริโชคชัชวาล, ธงชัย เฉลิมชัยกิจ และณุวีร์ ประภัสระกูล. 2554. **บทบาทของโปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

วาสนา ศิริแสน, วิโรจน์ ภัทรจินดา, คณิต วิชิตพันธุ์ และรัตนภรณ์ ลีสิงห์. 2556. “ผลของการเสริมยีสต์ต่อสมรรถนะการให้ผลผลิตในโคนม” **วารสารแก่นเกษตร.** 41(1): 105-109.

วาสนา ศิริแสน และกิตติ วิรุณพันธุ์. 2557. “กลยุทธ์การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของเศษเหลือทางการเกษตรและโรงงานอุตสาหกรรม ด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติก เพื่อเป็นอาหารสัตว์.” **วารสารการเกษตรราชภัฏ**. 13: 1-10.

วาสนา ศิริแสน. 2560 “กลยุทธ์การลดสภาวะกรดในกระเพาะรูเมนด้วยจุลินทรีย์.” **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.** 15: 51-62.

วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546. **โคนม.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น, โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 313–321.

วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2560. **TMR เพิ่มคุณภาพน้ำนม.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ศูนย์เทคโนโลยีที่เหมาะสม. 2557. **น้ำหมักชีวภาพ.** ศูนย์เทคโนโลยีที่เหมาะสม สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.

สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2555. **น้ำหมักชีวภาพกับงานด้านการเกษตร**. ภาควิชาชีววิทยาและหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สมคิด พรหมมา และบุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2540. “ความต้องการโภชนะของโคนมไทย: การประเมินเบื้องต้น” **วารสารแก่นเกษตร.** 25: 165-175.

สมชาย จันทร์ผ่องแสง. 2541. **การเลี้ยงโคนม.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2556. **วิศวกรรมกระบวนการหมัก**. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. **ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสาตร์. กรุงเทพฯ.

สินีนาฏ พลโยราช. 2551. **“การเสริมน้ำหมักยีสต์และน้ำมันมะพร้าวต่อนิเวศวิทยารูเมนของโคเนื้อ”** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558. “ศักยภาพในการใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรไบโอติก” **วารสารแก่นเกษตร.** 43: 191-206.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัยม อดุลย์ วังตาล และจุไรรัตน์ ถนอมกิจ. 2556. **โครงการวิจัยมาตรฐานความปลอดภัยอาหารตลอดห่วงโซ่การผลิตเพื่อสนับสนุนการขับเคลื่อนยุทธศาสตร์ความปลอดภัยอาหาร: น้ำนม.** รายงานการวิจัย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. หน้า 3-5.

สุนทรีพร จันทร์แสนตอ. 2538. **“การใช้ยูเรีย-กากน้ำตาล-แร่ธาตุชนิดก้อนเป็นอาหารเสริมของโค.”** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุมน โพธิ์จันทร์. 2562. **การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารสัตว์**. [ออนไลน์] สืบค้นจาก: Available://http://www.oae.go.th/download/download_journal/2560/commoddity 59.pdf. [สืบค้นวันที่19 ตุลาคม 2562].

สุริยะ สะวานนท์. 2551. **จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพด้านจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน**. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม.

เสริมสวัสดิ์ ตุลยอนุกิจ. 2547. **“องค์ประกอบบางประการของสารหมักชีวภาพที่ได้จากผักและประสิทธิภาพของปุ๋ยน้ำหมักที่มีต่อพืช”** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. **สถานการณ์โคนมโลก&ไทย ปี 2562.** [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: Available://http://dairydevelopmentprogram.weebly.com/blog/36153634361936603617362636403586/-2562. 19/10/2562. [สืบค้นวันที่ 22 กรกฎาคม 2563].

เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ, ณิชตา เป็งทินา, พรทิพย์ แสนยอง, นพพล ชุบทอง, ชัยวัฒน์ อาจิน และณรกมล เลาห์รอดพันธ์. 2555. “ผลของการเสริมยูเรียและกากน้ำตาลต่อคุณภาพของเปลือกข้าวโพดหมักและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของโคดอย.” **วารสารแก่นเกษตร.** 40(2): 187-192.

อนุสรณ์ เชิดทอง. 2555. “แนวทางปัจจุบันสำหรับการลดการผลิตแก๊สเมทเธนจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง” **วารสารแก่นเกษตร.** 40: 93-106.

อภิเชษฐ หมื่นอร่าม, วิเชียร ลีลาวัชรมาศ และประมุข ภระกูลสุขสถิต. 2561. **ผลของกากน้ำตาลและกากเซลล์ยีสต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการผลิตแบคทีเรียแลกติก** รายงานการวิจัย.ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ออมทรัพย์ นพอมรบดี, สมพร อิศรานุรักษ์, สุนันทา ชมภูนิช, ภาวนา ลิกขนานนท์, นิตยา กันหลง ,รังษี เจริญสถาพร และรัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา. 2547. **ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์น้ำหมักชีวภาพ.** โครงการวิจัยและพัฒนาน้ำหมักชีวภาพ โครงการเกษตรแบบยั่งยืน. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัญชุลี ชินสุข. 2558. “การพัฒนาหมอดินอาสาประจำตำบลสู่ Smart Farmer” *ใน* **เอกสารประกอบการฝึกอบรมหมอดินอาสาประจำตำบล** ณ สถานีพัฒนาที่ดินมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม.

อาณัติ จันทร์ถิระติกุล. 2555. **การผลิตโคนม.** คณะเทคโนโลยี ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. หน้า 15-33.

Abd El-Ghani, A.A. 2004. “Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae)* on performance of Zaraibi goats.” **Journal of Small Ruminant Research.** 52: 223-229.

Aguerre, M.J., Wattiaux, M.A., Powell, J.M., Broderick, G.A. and Arndt, C. 2011. “Effect of forageto-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion.” **Journal of Dairy Science.** 94: 3081-3093.

Alshaikh, M.A., Alsiadi, M.Y., Zahran, S.M., Mongawer, H.H. and Aalshowime, T.A. 2002. “Effect of feeding yeast culture from different sources on the performance of lactating Holstein Cows in Saudi Arabia.” **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 15: 352-356.

AOAC. 1995. **Official methods of analysis, 16th ed.** Association of Official Analytical Chemists; Arlington. VA, USA.

AOAC 2000 **Official Methods of Analysis. 17th Edition,** The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods.

Apps, D.K., Cohen, B.B. and Steel, C.M. 1992. **“Biochemistry: A concise text for medical students.”** 5th Ed. Bailliere Tindall, London.

Asanuma, N. and Hino, T. 2004. “Prevention of rumen acidosis and suppression of ruminal methanogenesis by augmentation of lactate utilization.” **Nihon Chikusan Gakkaiho.** 75:543–550.

Astuti, W.D., Wiryawan, K.G., Wina, E., Widyastuti, Y., Suharti, S. and Ridwan, R. 2018. “Effects of selected *Lactobacillus plantarum* as probiotic on *In vitro* ruminal fermentation and microbial population.” **Pakistan Journal of Nutrition**. 17: 131–139.

Barton, M.D. 2000. “Antibiotic use in animal feed and its impact on human health.” **Nutrition Research Reviews**. 13: 279-299.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Beauchemin, K.A., Yang, W.Z., Morgavi, D.P., Ghorbani, G.R., Kautz, W. and Leedle, J.A.Z. 2003. "Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle." **Journal of Animal Science.** 81: 1628–1640.

Brossard, L., Martin, C., Chaucheyras-Durand, F., and Michalet-Doreau, B. 2004. "Protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep." **Organic article**. 44: 195-206.

Boonnop, K., Wanapat, M. and Navanukraw, C. 2010. "Replacement of soybean meal by yeast fermented-cassava chip protein (YEFECAP) in concentrate diets fed on rumen fermentation, microbial population and nutrient digestibilities in ruminants." **Journal of Animal and Veterinary Advances.** 9: 1727-1734.

Boyd, J., West, J. and Bernard, J. 2011. "Effects of the addition of direct-fed microbials and glycerol to the diet of lactating dairy cows on milk yield and apparent efficiency of yield." **Journal of Dairy Science**. 94(9): 4616-4622.

Callaway, T.S. and Martin. 1997. "Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose." **Journal of Dairy Science.** 80:2035.

Carvalho, B.F., Aacute, C.L.S., Vila Pinto, J.C. and Schwan, R.F. 2013. "Effect of propionic acid and *Lactobacillus plantarum* UFLA SIL 1 on the sugarcane silage with and without calcium oxide." **African Journal of Microbiology Research.** 7: 4159-4168.

Chen, X., Li, W., Gao, C., Zhang, X., Weng, B. and Cai, Y. 2017. "Silage preparation and fermentation quality of kudzu, sugarcane top and their mixture treated with lactic acid bacteria, molasses and cellulase. **Animal Science Journal.** 88: 1715-21.

Chiquette J. 2009. "Evaluation of the protective effect of probiotics fed to dairy cows during a subacute ruminal acidosis challenge." **Animal Feed Science and Technology.** 153: 3–4, 278-291.

Chiquette, J., Allison, M.J. and Rasmussen, M.A. 2008. "*Prevotella bryantii* 25a used as a probiotic in early-lactation dairy cows: Effect on ruminal fermentation characteristics, milk production, and milk composition[1]." **Journal of Dairy Science.** 91: 3536-3543**.**

Chung, Y.H., Walker, N., McGinn, S. and Beauchemin, K. 2011. "Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in non-lactating dairy cows." **Journal of Dairy Science.** 94: 2431–2439.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Da Silva, L.D., Pereira, O.G., Da Silva, T.C., Valadares, S.C. and Ribeiro, K.G. 2016. "Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility, ruminal fermentation, nitrogen use efficiency and performance of finishing beef cattle." **Animal Feed Science and Technology.** 220: 22-23.

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C. and Sauvant. D. 2009. "Metha-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants." **Journal of Dairy Science.** 92: 1620-1632.

Dias, A.L., Freitas, J.A., Micai, B., Azevedo, R.A., Greco, L.F. and Santos, J.E.P. 2018. "Effects of supplementing yeast culture to diets differing in starch content on performance and feeding behavior of dairy cows." **Journal of Dairy Science.** 101: 186-200.

Doto, S.P., Liu, J.X. and Wang. J.K. 2017. "Effect of yeast culture and its combination with direct-fed microbials on growth performance and rumen fermentation of weaned lambs." **Tanzania Journal of Agricultural Sciences**. 16: 56-61.

Ellis, J.L., Bannink, A., Hindrichsen, I.K., Kinley, R.D., Pellikaan, W.F., Milora, N. and Dijkstra, J. 2016. "The effect of lactic acid bacteria included as probiotic or silage inoculant on *in vitro* rumen digestibility, total gas and methane production." **Animal Feed Science and Technology.** 211: 61-74.

Erasmus, L.J., Robinson, P.H., Ahmadi, A., Hinders, R. and Garett, J.E. 2005. "Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows." **Animal Feed Science and Technology.** 122: 219–239.

Espirito, S.A.P., Mouquet, R.C., Humblot, C., Cazevieille, C., Icard, V.C., Soccol, C.R. and Guyot, J.P. 2014. "Influence of fermentation by amylolytic Lactobacillus strains and probiotic bacteria on the fermentation process, viscosity and microstructure of gruels made of rice, soy milk and passion fruit fiber." **Food Research International**. 57: 104–113.

Ewa, L. Łukasz, J. and Zbigniew, G. 2017. "The effect of feed supplementation with effective microorganisms (EM) on pro-and anti-inflammatory cytokine concentrations in pigs." **Research in Veterinary Science.** 115: 244–249.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ferraretto, L.F. and Shaver, R.D. 2015. “Effect of direct-fed microbial supplementation on lactation performance and total-tract starch digestibility by mid-lactation dairy cows. **Applied Animal Science.** 31: 63–67.

Francia, D.A., Masucci, F., De Rosa, G., Varricchio, M.L. and Proto, V. 2008. “Effect of *Aspergillus oryzae* extract and a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves.” **Animal Feed Science and Technology**. 140: 67-77.

Frank, B. and Swensson, C. 2002. “Relationship between content of crude protein in rations for dairy cows and milk yield, concentration of urea in milk and ammonia emissions.” **Journal of Dairy Science.** 85: 1829-1838.

Gadaga, T.H., Mutukumira, A.N. and Narvhus, J.A. 2001. The growth and interaction of yeasts and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT milk. **International Journal of Food Microbiology.** 68: 21–32.

Galyean, M. 1989. “Laboratory Procedure in Animal Nutrition Research.” **Department of Animal and Life Science**. New Mexico state University, USA.

Gao, J., Liu, Y.C., Wang, Y., Li, H., Wang, X.M., Wu, Y., Zhang, D.R., Gao, S. and Qi, Z.L. 2020. “Impact of yeast and lactic acid bacteria on mastitis and milk microbiota composition of dairy cows.” **AMB Express.** 10: 20.

Ghazanfer, S., Anjum, M.I., Azim, A. and Ahmed, I. 2015. “Effect of dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on growth performance, blood parameters, nutrient digestibility and fecal flora of dairy heifers.” **Journal of Animal and Plant Sciences**. 25:53-59.

Goto, H., Qadis, A.Q., Kim, Y.H., Ikuta, K., Ichijo, T. and Sato, S. 2016. “Effects of a bacterial probiotic on ruminal pH and volatile fatty acids during subacute ruminal acidosis (SARA) in cattle.” **Journal of Veterinary Medical Science.** 78(10): 1595–1600.

Guedes, C.M., Gonçalves, D., Rodrigues, M.A.M. and Dias, D.S.A. 2008. “Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fiber degradation of maize silages in cows.” **Animal Feed Science Technology**. 145: 27-40.

Guo, G., Shen, C., Liu, Q., Zhang, S.L., Shao, T., Wang, C., Wang, Y., Xu, Q.F. and Huo, W.J. 2020. “The effect of lactic acid bacteria inoculums on *in vitro* rumen fermentation, methane

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

production, ruminal cellulolytic bacteria populations and cellulase activities of corn stover silage." **Journal of Integrative Agriculture**. 19(3): 838–847.

Hopkins, B.A. 2001. **" Milk urea nitrogen (MUN) as a management tool for effective use of protein in early lactation dies."** Department of Animal Science, North Carolina State University, Raleigj.

Hristove, A.N., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S.K.R., Corl. B., Hovde, C.J. and Yoon, I. 2010. "Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows." **Journal of Dairy Science.** 93: 682-692.

Hučko, B., Bampidis, V.A., Kodeš, A., Christodoulou, V., Mudřik, Z., Poláková, K. and Plachý, V. 2009. "Rumen fermentation characteristics in pre-weaning calves receiving yeast culture supplements. **Czech Journal of Animal Science.** 54(10): 435–442.

Jeyanathan, J., Martin, C. and Morgavi, D.P. 2016. "Screening of bacterial direct-fed microbials for their antimethanogenic potential *in vitro* and assessment of their effect on ruminal fermentation and microbial profiles in sheep[1]." **Journal Animal Sciences.** 10.2527: 2015-9682.

Jiang, Y., Ogunade, I., Arriola, K., Qi, M. and Vyas, D. 2017. "Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures." **Journal of Dairy Science.** 100(10): 8102-8118.

Jouany, J.P. 2006. "Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows." **Animal Reproduction Science.** 96: 250-264.

Kamra, D.N. 2005. "Rumen microbial ecosystem." **Current Science.** 89:124-135.

Kanmani, P., Kumar, R.S., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V. and Arul, V. 2013. "Probiotics and its functionally valuable products-A Review." **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 53(6): 641-658.

Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R. and Wanapat, M. 2009. "Supplementation of yeast fermented cassava chip as a replacement concentrate on rumen fermentation efficiency and digestibility of nutrients in cattle." **Asian Journal of Animal Sciences.** 3: 18-24.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kitaw, G., Daba, T., Kehaliw, A., Assefa, G., Dejene, M. and Fekadu, D. 2013. "Evaluation of effective microbes (EM) as non-conventional feed supplement to lactating crossbred cows and barn malodor control under Ethiopian condition." **Journal of Renewable Agriculture**. 1(8): 141-146.

Konoplya, E. and Higa, T. 2000. "**EM application in animal husbandry–poultry farming and its action mechanisms.**" In: proceedings of the international conference on EM technology and nature farming. EM Research Organization, Pyongyang, Democratic People's Republic of Korea.

Kwak, W.S., Kim, Y.I., Choi, D.Y. and Lee, Y.H. 2016. "Effect of feeding mixed microbial culture fortified with trace minerals on ruminal fermentation, nutrient digestibility, nitrogen and trace mineral balance in sheep." **Journal of Animal Science and Technology.** 58: 21.

Latif, M.R., Zahran, S.M., Ahmed, M.H., Zeweil, H.S. and Sallam, S.M.A. 2014. "Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* and/or *Aspergillus oryzae* on nutrient utilization and rumen fermentation characteristics of sheep." **Alexandria Journal of Agricultural Sciences Research.** 59(2): 121‑127.

Liu, Q., Wang, C., Huang, Y.X., Dong, K.H., Yang, W.Z. and Wang, H. 2007. "Effects of lanthanum on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers." **Animal Feed Science and Technology.** 142: 121-132.

Lynch, H.A. and Martin, S.A. 2002. "Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation." **Journal of Dairy Science.** 85: 2603-2608.

Malekkhahi, M., Tahmasbi, A.M., Naseriana, A.A., Danesh-Mesgarana, M., Kleenb, J.L., AlZahal, O. and Ghaffari, M.H. 2016. "Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows." **Animal Feed Science and Technology.** 213: 29-43.

McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., Alazzeh, A.Y., Baah, J., Teather, R.M. and Stanford, K. 2011. "Review: the use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle." **Canadian Journal of Animal Science.** 91: 193–211.

Menke, H.H. and Steingass, H. 1988. "Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid." **Animal research and development.** 28: 7-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Moallem, U., Lehrer. H., Livshitz, L., Zachut, M. and Yakoby, S. 2009. "The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility." **Journal of Dairy Science.** 92(1): 343-351.

Moss, A.R., Jouany, J.P. and Newbold, J. 2000. "Methane production by ruminants: its contribution to global warming." **Annales de zootechnie**. 49: 231-253.

Muruz, H. and Gül, M. 2020. "Effects of live yeast on the rumen fermentation parameters and milk performance of Simmental dairy cows during the hot season." **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.** 44: 249-257.

Nagaraja, T.G., and Lechtenberg, K.F. 2007. "Acidosis in feedlot cattle." **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. 23: 33-350.

Narvhus. J.A. 2003. "**Historical and cultural aspects of traditional fermented milk. In: new developments in technology of fermented milk products."** Proceedings of the IDF Symposium, Kolding, Denmark. In press.

Newbold, C.J. and Rode, L.M. 2006. "Dietary additives to control methanogenesis in the rumen." **International Congress Series.** 1293: 138-147.

Nielsen, D.S., Gyu-Sung, C., Hanak, A., Huch, M., Franz, C.M.A.P. and Arneborg, N. 2010. "The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic Listeria monocytogenes single cells." **International Journal of Food Microbiology**. 141: S53-S59.

Nocek, J. 1997. "Bovine acidosis: implication on laminitis." **Journal of Dairy Science.** 80:1005-1028.

Nousiainen, J., Shingfield, K.J. and Huntanen, P. 2004. " Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding." **Journal of Dairy Science.** 87: 386-398.

NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Revised Edition. National Academy of Sciences, Washington, DC. U.S.A.

Oetzel, G.R., Emery, K.M., Kautz, W.P. and Nocek, J.E. 2007. "Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: A field trial." **Journal of Dairy Science.** 90: 2058-2068.

Oeztuerk, H. 2009. "Effects of live and autoclaved yeast cultures on ruminal fermentation *in vitro*." **Journal of Animal and Feed Sciences.** 18: 142-150.

Ohland, C.L. and Macnaughton, W.K. 2010. "Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

function." **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.** 298: 807–819.

Otte, J.M. and Podolsky, D.K. 2004. "Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms." **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.** 286: 613-626.

Paramithiotis, S., Gioulatos, S., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G. 2006. "Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough." **Process Biochemistry.** 41: 2429–2433.

Pedreira, M.D.S., Oliveira, S.G., Primavesi, O., Lima, M.A., Frighetto, R.T.S. and Berchielli, T.T. 2013. "Methane emissions and estimates of ruminal fermentation parameters in beef cattle fed different dietary concentrate levels." **Revista Brasileira de Zootecnia.** 42: 592-598.

Piamphon, N., Wachirapakorn, C., Pornsopin, P., Sotawong, P. and Gunun, P. 2014. "Feed intake, digestibility and blood parameters as influenced by *Aspergillus niger* or *Saccharomyces cerevisiae* fermented Napier grass (*Pennisetum purpureum*) mixed with fresh cassava root in beef cattle." **Khon kaen Agricultural Journal.** 42: 54-60.

Polyorach, S., Wanapat, M., Wachirapakorn, C., Navanukraw, C., Wanapat, S. and Nontaso, N. 2011. "Supplementation of Yeast Fermented Liquid (YFL) and coconut oil on rumen fermentation characteristics, N-balance and urinary purine derivatives in Beef cattle." **Journal of Animal and Veterinary Advances.** 10(16): 2084-2089.

Polyorach, S., Wanapat, M., and Wanapat, S. 2013. "Enrichment of protein content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) by supplementing with yeast for use as animal feed. **Emirates Journal of Food and Agriculture.** 25: 142-149.

Polyorach, S., Wanapat, M. and Cherdthong, A. 2014a. "Influence of Yeast Fermented Cassava Chip Protein (YEFECAP) and roughage to concentrate ratio on ruminal fermentation and microorganisms using *in vitro* gas production technique." **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 2: 36-45.

Polyorach, S., Poungchompu, O., Wanapat, M., Supachat, U., Saihatwong, O. and chaiyayong, G. 2014b. "The improving of soybean meal nutritive value by using yeast and lactic acid bacteria in raw milk." **Khon kaen Agricultural Journal.** 42(1): 362-358.

Polyorach, S., Wanapat, M., Phesatcha, K. and Kang, S. 2015. "Effect of different levels of mangos teen peel powder supplement on the performance of dairy cows fed concentrate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

containing yeast fermented cassava chip protein." **Tropical Animal Health and Production.** 47: 1473–1480.

Polyorach, S., Poungchompu, O., Wanapat, M., Kang, S. and Cherdthong, A. 2016. "Optimal cultivation time for yeast and lactic acid bacteria in fermented milk and effects of fermented soybean meal on rumen degradability using nylon bag technique. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 29(9): 1273-1279.

Polyorach, S., Wanapat, M., Poungchompu, O., Promkot, C., Gunun, P., Kang, S., Cherdthong, A., Gunun, N. and Mapato, C. 2017a. "Effect of Microflora-Treated rice straw on rumen fermentation and digestibility using *in vitro* gas production technique." **Animal Nutrition and Environment.** 1-0088: 578-583.

Polyorach, S., Wanapat, M., Poungchompu, O., Kang, S., Cherdthong, A., Gunun, P. and Gunun, N. 2017b. "The used of microorganism to improved nutritional value of cassava products on chemical composition and digestibility using *in vitro* gas production technique." **Khon kaen Agricultural Journal.** 45(3): 535-542.

Polyorach, S., Wanapat, M., Poungchompu, O., Cherdthong, A., Gunun, P., Gunun, N. and Kang, S. 2018. "Effect of fermentation using different microorganisms on nutritive values of fresh and dry cassava root." **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.** 1683-9919.

Pszczolkowski, V.L., Bryant, R.W., Harlow, B.E., Aiken, G.E., Martin, L.J. and Flythe, M.D. 2016. "Effects of spent craft brewers' yeast on fermentation and methane production by rumen microorganisms." **Advances in Microbiology.** 6: 716-723.

Puniya, A.K., Salem, A.Z.M., Kumar, S., Dagar, S.S., Griffith, G.W., Puniya, M., Ravella, S.R., Kumar, N., Dhewa, T. and Kumar, R. 2015. "Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review." **Journal of Integrative Agriculture.** 14(3): 550–560.

Ørskov, E.R. and McDonald, I. 1979. "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage." **Journal of Agricultural Science.** 92: 499-503

Ørskov, E.R. and Ryle, M. 1990. "Energy Nutrition in Ruminants". **Elsevier Science publishers** : London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Qadis, A.Q., Goya, S., Ikuta, K., Yatsu, M., Kimura, A., Nakanishi, S. and Sato, S. 2014. “Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves.” **Journal Veterinary Medical Science.** 76(6): 877–885.

Qiao, G.H., Shan, A.S., Ma, N.Q., Ma, Q. and Sun, Z.W. 2009. “Effect of supplemental bacillus cultures on rumen fermentation and milk yield in Chinese Holstein cows.” **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.** 94: 429-436.

Raeth-Knight, M.L., Linn, J.G. and Jung, H.G. 2007. “Effect of direct-fed microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows.” **Journal of Dairy Science.** 90: 1802-1809.

Reynolds, C.K., Aikman, P.C., Lupoli, B., Humphries, D.J. and Beever, D.E. 2003. “Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation.” **Journal of Dairy Science.** 86: 1201-1217.

Ridwan, R., Bungsu, W.A., Astuti, W.D. and Rohmatussolihat, R. 2018. “The use of lactic acid bacteria as ruminant probiotic candidates based on *in vitro* rumen fermentation characteristics.” **Bulletin of Animal Science**. 42: 31-36.

Roger, V., Fonty, G. Komisarczuk-Bony, S. and Gouet, P. 1990. “Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminal bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. succinogenes.” **Applied and Environmental Microbiology.** 56: 3081-3087.

Roseler, D.K., Ferguson, J.D., Sniffen, C.J. and Herrema, J. 1993. “Dietary protein degradability effect on plasma and milk urea nitrogen and milk non protein in Holstein cows. **Journal of Dairy Science.** 76: 525-534.

Rossi, F., Luccia, A.D., Vincenti, D. and Cocconcelli, P.S. 2004. “Effects of peptide fractions from *Saccharomyces cerevisiae* culture on growth and metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*.” **Animal Research**. 53: 177-186.

Russell, J.B., Muck, R.E. and Weimer, P.J. 2009. “Quantitative analysis of cellulose degradation and growth of cellulolytic bacteria in the rumen.” **FEMS Microbiology Ecology.** 67: 183-197.

SAS Institute Inc. 1985. **Users Guide: Basics**. SAS Institute; Cary, North Carolina, USA. Senok, A.C., Ismaeel, A.Y. and Botta, G.A. 2005. “Probiotics: facts and myths.” **CMI.** 11: 958-966.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Safalaoh, A. and Smith, GA. 2001. "Effective Microorganisms (EM) as an alternative to antibiotics in broiler diets: Effects on broiler performance, feed utilization and serum cholesterol." In: Senanayake YDA, Sangakkara UR (eds.). **Proceedings of the 6th International Conference** on Kyusei Nature Farming, South Africa.

Sallam, S.M.A., Abdelmalek, M.L.R., Kholif, A.E., Zahran, S.M., Ahmed, M.H., Zeweil, H.S., Attia, M.F.A., Matloup, O.H. and Olafadehan, O.A. 2019. "The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows. **Animal Biotechnology.** 17: 1-7.

Schmidt, J.A., Albright, S. and Tsai, K.P. 2004. "Characterization of *Aspergillus oryzae* fermentation extract effects on the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*, EB188." **Applied Microbiology Biotechnology.** 63: 422-430.

Schneider, B.H. and Flatt, W.P. 1975. "The evaluation of feeding through digestibility experiments." The evaluation of feeds through digestibility experiments. p. 169 Univ. Georgia Press, Athens.

Seo, K., Kim, S.W., Kim, M.H., Upadhaya, S.D., Kam, D.K. and Jong, K.H. 2010. "Direct-fed Microbials for Ruminant Animals." **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 12: 1657-1667.

Shimizu, H., Cheirsilp, B. and Shioya, S. 2005. "Development of co-culture systems of lactic acid bacteria and yeast for bioproduction." **Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria.** 16(1): 2-10.

Silva, M., Jacobus, N.V., Deneke, C. and Gorbach, S.L. 1987. "Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain." **Antimicrobial Agents Chemother.** 31: 1231-1233.

Slater, A.L., Eastridge, M.L., Firmins, J.L. and Bidinger, L.J. 2000. "Effects of starch source and level of forage neutral detergent fiber on performance of dairy cows." **Journal of Dairy Science.** 83: 313

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. **"Principles and Procedures of Statistics. A biometrical approach."** 2nd edition. McGraw-Hill, New York, USA, pp. 20-90.

Stein, D.R., Allen, D.T., Perry, E.B., Bruner, J.C., Gates, K.W., Rehberger, T.G., Mertz, K., Jones, D. and Spicer, L.J. 2006. "Effects of feeding Propionibacterium to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction." **Journal of Dairy Science.** 89: 111-125.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. 1963. “A two-stage technique for the digestion of forage crops.” **Grass and Forage Science.** 18: 104–111.

Totakul, P., Ampapon, T., Foiklang, S., Uriyapongson, S., Sommai, S., Matra, M., Viennasay, B. and Wanapat, M. 2020. “Effect of yeast-fermented de-hulled rice on *in vitro* gas production, nutrient degradability, and rumen fermentation.” **Tropical Animal Health and Production.** 52: 3567–3573.

Uyeno, Y., Shigemori, S. and Shimosato, T. 2015. “Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity.” **Microbes and Environments**. 30: 126-132.

Van Keulen, J. and Young, B.A. 1977. “Evaluation of acid insoluble ash as a neutral marker in ruminant digestibility studies.” **Journal of Dairy Science.** 44:282.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. “Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition.” **Journal of Dairy Science.** 74: 3583–3597.

Walker, G.M. and Stewart, G.G. 2016. “*Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented.” **Beverages.** 2: 30.

Wanapat, M. 1990. “Nutritional aspects of ruminant production in southeast Asia with special reference to Thailand.” Funny Press, Ltd, Bangkok, Thailand.

Wanapat, M. and Pimpa, O. 1999. “Effect of ruminal NH_3-N levels on ruminal fermentation, purine derivatives, digestibility and rice straw intake in swamp buffaloes. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 12: 904-907.

Wanapat, M., Polyorach, S., Chanthakhoun, V. and Sornsongnern, N. 2011. “Yeast-fermented cassava chip protein (YEFECAP) concentrate for lactating dairy cows fed on urea–lime treated rice straw.” **Livestock Science.** 139: 258-263.

Wanapat, M. and Kang, S. 2015. “Cassava chip (*Manihot esculenta* Crantz) as an energy source for ruminant feeding.” **Animal Nutrition.** 1:266-270.

Wattiaux, M.A. and Karg, K.L. 2004. “Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: II. nitrogen balance and manure characteristics.” **Journal of Dairy Science.** 87(10): 3492-3592.

Weinberg, Z. G., Muck, R. E., Weimer, P. J., Chen, Y. and Gamburg, M. 2004. “Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants.” **Applied Biochemistry and Biotechnology.** 118: 1–10.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Weiss, W.P., Wyatt, D.J. and Mckelvey, T. R. 2008. “Effect of feeding propionibacteria on milk production by early lactation dairy cows.” **Journal of Dairy Science**. 91(2): 646-652.

Weinberg, Z. G., Muck, R. E., Weimer, P. J., Chen, Y. and Gamburg, M. 2004. “Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants.” **Applied Biochemistry and Biotechnology.** 118: 1–10.

Wondmeneh, E., Adey, M. and Tadelle, D. 2011. “Effect of effective microorganisms on growth parameters and serum cholesterol levels in broilers.” **African Journal of Agricultural Research**. 6(16): 3841-3846.

Xu, H., Huang, W., Hou, Q., Kwok, L., Sun, A. and Ma, H. 2017. “The effects of probiotics administration on the milk production, milk components and fecal bacteria microbiota of dairy cows.” **Science Bulletin.** 62: 767–774.

Yonatan, K., Solomon, D. and Taye, T. 2011. “Chemical composition and *in-vitro* digestibility of coffee pulp ensiled with effective microorganism in Ethiopia.” **Livestock Research for Rural Development.** 23(7).

Yonatan, K., Demeke, S., Tolemariam, T. and Getachew, Y. 2014. “Effect of effective microorganism (EM) on the nutritive quality of coffee husk silage.” **International Journal of Scientific & Technology Research**. 3: 7.

Yuan, K., Mendonca, .LG., Hulbert, L.E., Mamedova, L.K., Muckey, M.B., Shen, Y., Elrod, C.C. and Bradford, B.J. 2015. “Yeast product supplementation modulated humoral and mucosal immunity and uterine inflammatory signals in transition dairy cows.” **Journal of Dairy Science**. 98: 3236–3246.

Zhao, J., Zhihao, D., Junfeng, L., Lei, C., Yunfeng, B., Yushan, J. and Tao, S. 2019. “Effects of lactic acid bacteria and molasses on fermentation dynamics, structural and nonstructural carbohydrate composition and *in vitro* ruminal fermentation of rice straw silage.” **Asian-Australasian Journal Animal Sciences.** 32(6): 783-791.

Zhu, W., Zhang, B. X., Yao, K. Y., Yoon1, I., Chung1, Y. H., Wang, J. K. and Liu, J. X. 2016. “Effects of supplemental levels of *saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance in dairy cows under heat stress.” **Journal Animal Sciences.** 6: 801-806.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zicarellia, F., Addia, L., Tudiscoa, R., Calabròa, S., Lombardia, P., Cutrignellia, M.I., Moniellob, G., Grossia, M., Tozzic, B., Muscoa, N. and Infascellia, F. 2016. “The influence of diet supplementation with *saccharomyces cerevisiae* or *saccharomyces cerevisiae* plus *Aspergillus oryzae* on milk yield of Cilentana grazing dairy goats.” **Small Rumi Research**. 135: 90–94.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์

1. การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์

ทำการเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์ซึ่งได้แก่ ยีสต์ และจุลินทรีย์รวม

1) การเตรียมน้ำหมักยีสต์ (ดัดแปลงจาก Polyorach *et al.* 2013)

1.1.1 กระตุ้นเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนของ ยีสต์: น้ำตาล: น้ำ เป็น 20 กรัม: 20 กรัม: 100 มิลลิลิตรหลังจากนั้นทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

1.1.2 เตรียมอาหารที่ใช้ในการเตียมเชื้อยีสต์ โดยใช้สัดส่วนของ ยูเรีย: กากน้ำตาล: น้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนดไว้คือ 24 กรัม: 48 กรัม: 100 มิลลิลิตร และทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1.1.3 ทำการผสมเชื้อยีสต์ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อในสัดส่วน 1:1 ทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการหมักไว้เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

1.1.4 เก็บน้ำหมักยีสต์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2) การเตรียมน้ำหมักจุลินทรีย์ (Microbial fermented liquid; MFL)

ในการทดลองครั้งนี้ทำการเตรียม MFL โดยใช้น้ำหมักจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (effective microorganisms; EM) เป็นส่วนประกอบ

1.2.1 กระตุ้นเชื้อ EM โดยใช้สัดส่วนของ EM: น้ำตาล: น้ำ เป็น 20 กรัม: 20 กรัม: 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

1.2.2 เตรียมอาหารที่ใช้ในการเตียมเชื้อ EM โดยใช้สัดส่วนของยูเรีย :กากน้ำตาล :น้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนดไว้ได้แก่ 24 กรัม: 48 กรัม: 100 มิลลิลิตร และทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

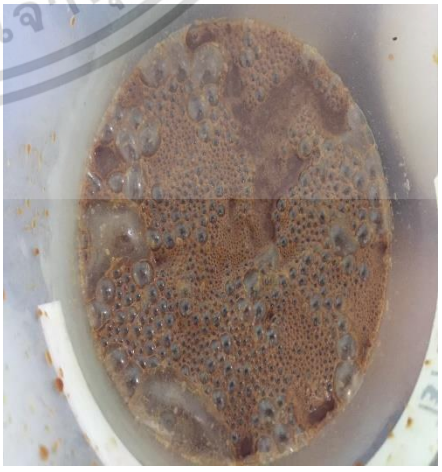
1.2.3 ทำการผสมเชื้อ EM ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อในสัดส่วน 1:1 ทำการกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และหมักไว้เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

1.2.4 เก็บน้ำหมัก EM เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ก 1 แสดงการกระตุ้นเชื้อยีสต์ และตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง

ภาพภาคผนวกที่ ก 2 แสดงการชั่งสัดส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพภาคผนวกที่ ก 3 ผสมยีสต์ที่กระตุ้นแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อตามสัดส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ก 4 แสดงการกระตุ้นเชื้อ EM และตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง

ภาพภาคผนวกที่ ก 5 แสดงการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาพภาคผนวกที่ ก 6 ผสม EM ที่กระตุ้นแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อตามสัดส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การศึกษาจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สโดยวิธี *In vitro* gas production technique

วิธี *In vitro* gas production technique พัฒนาโดย Mark and Steingass (1988) เป็นการวัดปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้นระหว่างการบ่ม (incubation) อาหารด้วยของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) ในระบบปิด เนื่องจากในกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนจะมีการผลิตแก๊สเกิดขึ้นและแก๊สส่วนใหญ่เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สเมทเธน (CH_4) ปริมาตรแก๊สที่วัดได้มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการย่อยได้ของอาหารดังนั้นวิธี *In vitro* gas production technique จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ประเมินคุณภาพอาหารได้

1. อุปกรณ์

1.1 ถังบรรจุแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
1.2 สายนำแก๊ส และอุปกรณ์แยกทางแก๊ส (three way)
1.3 ขวดวัคซีนขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมจุกยางและฝาครอบอะลูมิเนียม
1.4 กระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 60 มิลลิลิตร (สำหรับถ่ายเทของเหลว)
1.5 กระบอกฉีดยาแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร (สำหรับวัดปริมาณแก๊ส)
1.6 เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ความยาว 1 และ 2.5 นิ้ว (สำหรับถ่ายเทของเหลวและถ่ายเทอากาศ)
1.7 เข็มฉีดยาเบอร์ 24 ความยาว 1 นิ้ว (สำหรับวัดปริมาณแก๊ส)
1.8 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hot plate stirrer)
1.9 ขวดรูปชมพู่ที่มีท่อดูด (suction flask) ขนาด 2 ลิตร พร้อมจุกยางที่มีท่อแยกแก๊ส
1.10 ตู้อบ (hot air oven)

2. เตรียมวัตถุดิบอาหารทดลอง

นำตัวอย่างอาหารทดลองที่ผ่านการอบร้อนให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร จากนั้นทำการบรรจุตัวอย่างน้ำหนัก 0.2 กรัม ร่วมกับฟางข้าว 0.3 กรัม ในขวด 50 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมใช้ในการทดลอง *In vitro* gas production technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมของเหลวจากกระเพาะรูเมน

เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนของจากโคนมที่ได้รับการเจาะกระเพาะถาวรจำนวน 2 ตัว โดยทำการล่วงเก็บบริเวณที่เจาะกระเพาะ จากนั้นนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง เพื่อรอนำมาผสมกับน้ำลายเทียม ทำการรักษาสภาวะให้ใกล้เคียงกับสภาวะภายในกระเพาะรูเมน โดยเก็บจนเต็มภาชนะไม่ให้เหลือที่ว่างเพื่อให้อยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน ทำการแช่ภาชนะเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนในภาชนะบรรจุน้ำอุ่น อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส เพื่อควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง

4. เตรียมสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนผสม (rumen inoculum)

ทำการเตรียมสารละลายโดยใช้ของเหลวจากกระเพาะรูเมนและสารละลายดังนี้

4.1 สารละลายแร่ธาตุหลัก (macromineral solution)

1) Na_2HPO_4	5.7 กรัม
2) KH_2PO_4	6.2 กรัม
3) $MgSO_4$	0.6 กรัม
4) เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1 ลิตร

4.2 สารละลายแร่ธาตุรอง (micromineral solution)

1) $CaCl_2 \cdot {}_2H2O$	13.2 กรัม
2) $MnCl_2 \cdot {}_4H_2O$	10.0 กรัม
3) $CoCl_2 \cdot {}_6H_2O$	1.0 กรัม
4) $FeCl_2 \cdot {}_6H_2O$	8.0 กรัม
5) เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มิลลิลิตร

4.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution)

1) $NaHCO_3$	35 กรัม
2) NH_4HCO_3	4 กรัม
3) เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1 ลิตร

4.4 สารละลายรีซาซูริน (resazurin aqueous)

1) Resazurin	0.1 กรัม
2) เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มิลลิลิตร

4.5 สารละลายสำหรับไล่ออกซิเจน (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

1) น้ำกลั่น	71.3 มิลลิลิตร
2) 1M NaOH	3.0 มิลลิลิตร
3) $Na_2S_9 \cdot H_2O$	0.504 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 สัดส่วนสารละลายน้ำลายเทียม (artificial saliva)

1) น้ำกลั่น	712.5 มิลลิลิตร
2) สารละลายแร่ธาตุหลัก	360.0 มิลลิลิตร
3) สารละลายแร่ธาตุรอง	0.12 มิลลิลิตร
4) สารละลายบัฟเฟอร์	360.0 มิลลิลิตร
5) สารละลายรีซาซูริน	1.83 มิลลิลิตร
6) สารละลายสำหรับไล่ออกซิเจน	

5. วิธีการทำ *In vitro* gas production technique

5.1 ทำการชั่งอาหารทดลองที่เป็นอาหารข้น 0.2 กรัม และฟางข้าว 0.3 กรัม ใส่ขวดแก้วใสขนาด 50 มิลลิลิตร

5.2 ทำการเตรียมสารละลายน้ำลายเทียมโดยเติมน้ำกลั่น สารละลายแร่ธาตุหลัก สารละลายแร่ธาตุรอง สารละลายบัฟเฟอร์ ตามสัดส่วนข้างต้นใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 2,000 มิลลิลิตร ที่ต่อกับท่อแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อต้องการไล่ออกซิเจน แล้วนำอุ่นที่อุณหภูมิ 39-40 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่อง heater stirrer กวนอยู่ตลอดเวลา หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายรีซาซูริน (ทำให้เกิดสีฟ้า) เป็นตัวเช็คว่าฟลัชคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีหรือไม่โดยจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพู และจะเปลี่ยนเป็นสีใสแสดงว่าสารละลายดังกล่าวอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน ซึ่งขั้นตอนการเปลี่ยนสีนี้ใช้ตัวเร่งคือแก๊สไข่เน่า และ $NaHPO_4$ โดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที สังเกตเห็นว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพู ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิโดยใช้เครื่อง pH Tester โดยมีอุณหภูมิอยู่ที่ 39-40 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-7 ซึ่งใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมจริงภายในกระเพาะรูเมน

5.3 พอได้ของเหลวใสแล้วทำการเติมส่วนของ rumen fluid ที่เตียมไว้ตามสัดส่วนแล้วฟลัชด้วยคาร์บอนไดออกไซด์อีกประมาณ 15 นาที เพื่อไร่แก๊สออกซิเจนออกอีกครั้งก็สามารถใช้ได้

5.4 ดูดของเหลว 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดแก้วที่ชั่งอาหารทดลองเตรียมไว้โดยจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

5.5 หลังจากนั้นฟรัชแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 1-2 นาที

5.6 ทำการปิดฝาด้วยจุกยางและล็อกด้วยฝาอะลูมิเนียมให้แน่น

5.7 จากนั้นนำเข้าบ่มที่ 39 องศาเซลเซียส แล้วทำการวัดแก๊สตามชั่วโมงที่กำหนดอ่านค่าปริมาณแก๊สที่ได้และจดบันทึกข้อมูลปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้นแต่ละชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การเก็บข้อมูล

ทำการจดบันทึกปริมาตรของแก๊สที่เกิดขึ้นโดยใช้กระบอกฉีดยาแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร ที่เชื่อมต่อเข็มเบอร์ 24 ขนาด 1 นิ้ว โดยทำการวัดผลผลิตแก๊สใน 12 ชั่วโมงแรกทำการบันทึกผลของแก๊สที่เกิดขึ้นทุกๆ 1 ชั่วโมง ต่อมาบันทึกทุกๆ 3 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 24 จากนั้นบันทึกทุกๆ 6 ชั่วโมง และจนถึงชั่วโมงสุดท้ายที่ 72 นำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาหาค่าคงที่ a, b และ c โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป fit curve เพื่อการอธิบายจนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส ตามสมการของ Orskov and McDonald (1979) ดังนี้

$$Y = a + b\,[1-e^{(-ct)}]$$

เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t

a = ส่วนที่ละลายได้ง่าย (มิลลิลิตร)

b = ค่าปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้ (มิลลิลิตร) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงศักยภาพในการย่อยสลายของอาหาร

c = อัตราการเกิดแก๊สมีหน่วยเป็น% / ชม.

e = exponential

t = เวลาการเกิดแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ข 1 แสดงการเตรียมส่วนผสมของตัวอย่างอาหารทดลอง

ภาพภาคผนวกที่ ข 2 แสดงการเตรียมส่วนผสมของตัวอย่างอาหารทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ข 3 ตัวอย่างอาหารทดลองอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ภาพภาคผนวกที่ ข 4 แสดงการชั่งอาหารและบรรจุอาหารทดลองลงในขวด 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ข 5 แสดงวิธีการทำ *In vitro* gas production technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการดูดสารละลายที่มีส่วนผสมของ Rumen fluid และน้ำลายเทียม ปริมาณ 40 ml ลงในขวด 50 ml ที่

ปรับด้วย CO_2 ประมาน 1 - 2 นาที หลังจากนั้นปิดฝาจุกยางและล็อคด้วยฝาอะลูมเนียม

นำเข้าบ่มที่ 39 องศาเซลเซียส และวัดแก๊สตามชั่วโมงที่กำหนด จดบันทึกข้อมูลปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น

ก่อนนำเข้าตู้อบทำการวัดแก๊สที่ 0 ชั่วโมง วัดแก๊สอ่านค่าปริมาตรแก๊สที่ได้ และจดบันทึกข้อมูล

ภาพภาคผนวกที่ ข 5 แสดงวิธีการทำ *In vitro* gas production technique (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เทคนิคทางจุลชีววิทยาในการศึกษาจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

1. การศึกษาเกี่ยวกับ Microscopic direct count (Galyean. 1989)

แบคทีเรีย (Bacteria count)

โปรโตซัว (Protozoa count)

เชื้อรา (Fungal zoospores count)

1.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1.1.1 สารเคมี

- Normal saline (0.85% w/v)
- Formaldehyde (10% v/v)
- น้ำกลั่น

1.1.2 อุปกรณ์

- Haemacytometer ขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และลึก 0.1 มิลลิเมตร
- ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30 มิลลิลตร
- สไลดพร้อม cover glass
- บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลตร
- กระดาษทิชชู
- หลอดทดลองขนาด 20 มิลลิตร
- Micropipette
- กล้องจุลทรรศน์

1.2 การเตรียม Formaldehyde 10% in normal saline (fixing solution)

1.2.1 เตรียม normal saline ให้มีความเข้มข้น 0.85% (w/v)

1.2.2 เตรียม Formaldehyde ให้มีความเข้มข้น 10% (v/v) โดยใช้ normal saline (0.85% w/v) เป็นตัวทำละลาย

1.3 การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา

1.3.1 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำหมักจุลินทรีย์ โดยทำการสุ่มน้ำหมักจุลินทรีย์มา 1 มิลลิลิตร แล้วเติม formaldehyde 10% ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ทันทีหลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ต่อไป

1.3.2 นำตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการนับจำนวนของแบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังรายละเอียดดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย (bacteria count)

1. ทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างอีกครั้งจากเดิม 10 เท่า เป็น 100 เท่า โดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลตร และเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลตร

2. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากหลอดหยดลงบน Hematocytometer แล้วทำการนับโดยนับจำนวน 10 ช่องเล็ก 40 เท่า โดยนับจำนวน 2 ซ้ำ และคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรแบคทีเรียโดยใช้สูตร

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรแบคทีเรีย

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4×10^{6}

โปรโตซัว (protozoa count)

ทำการนับตัวอย่างที่เก็บมาได้เลยโดยไม่ต้องเจือจางอีก โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า โดยนับทั้งหมด 400 ช่องเล็ก (1 ช่องใหญ่) ทำการนับ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรโปรโตซัวโดยใช้สูตร

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรโปรโตซัว

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1×10^{4}

เชื้อรา (Fungal zoospores count)

ทำการนับเช่นเดียวกับโปรโตซัว แต่นับเพียง 25 ช่อง ทำการนับ 2 ซ้ำคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรแบคทีเรียโดยใช้สูตร

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรเชื้อรา

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.5×10^{5}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ประมวลภาพการดำเนินงานทดลอง

ภาพภาคผนวกที่ ง 1 แสดงการเตรียมโคก่อนเข้างานทดลอง

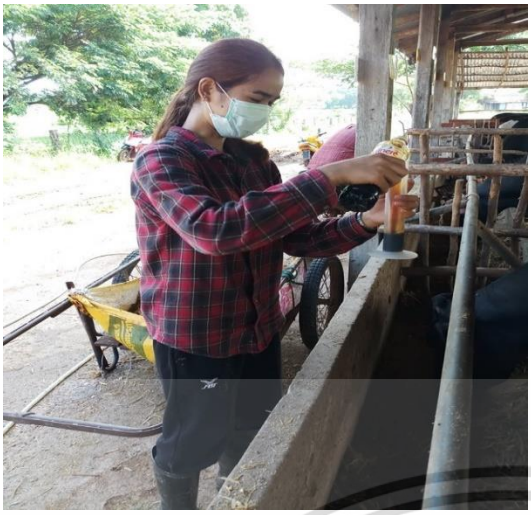
ภาพภาคผนวกที่ ง 2 แสดงการติดเบอร์หูโคก่อนเข้างานทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ง 3 แสดงคอกที่ใช้ในการแยกโคทดลองโดยโคทุกตัวจะได้รับน้ำสะอาดและแร่ธาตุก้อนให้กินตลอดเวลา

ภาพภาคผนวกที่ ง 4 แสดงการชั่งอาหารก่อนให้โคทดลองทุกครั้ง และชั่งอาหารที่เหลือในช่วงเช้าของวันถัดไป เพื่อจดบันทึกปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน

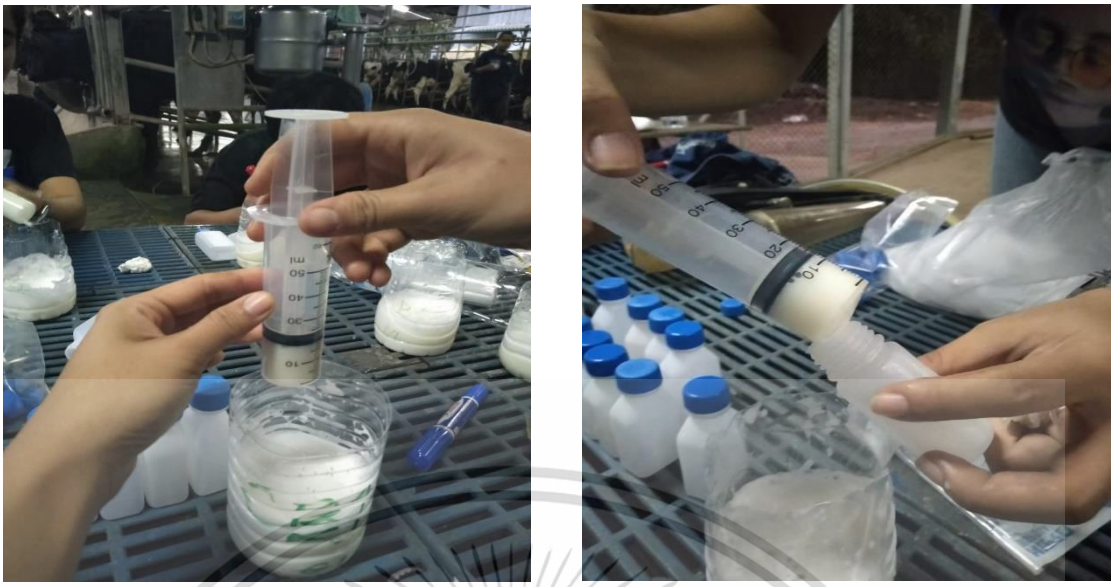
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ ง 5 แสดงการตรวง MFL ตามสัดส่วนและคลุกเคล้าให้เข้ากันกับอาหาร

ภาพภาคผนวกที่ ง 6 แสดงการรีดนมในช่วงเช้าและเย็น และจดบันทึกปริมาณน้ำนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ ง 7 แสดงการเก็บน้ำนมเพื่อส่งตรวจในช่วงเช้าและช่วงเย็น ของการรีดนม

ภาพภาคผนวกที่ ง 8 แสดงการเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อทำการส่งตรวจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ ง 9 แสดงการเก็บตัวอย่างอาหาร และมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว รัศมี นามภักดี
วัน เดือน ปีเกิด	31 มีนาคม 2536
ที่อยู่	4 หมู่ที่ 10 ตำบล นาภู อำเภอ ยางสีสุราช จังหวัดมหาสารคาม 44210
ประวัติการศึกษา	2554 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบางปะหัน 2557 หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว 2563 หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	"Effects of microbial fermented liquid (MFL) supplementation on gas production kinetics and digestibility using *In vitro* gas production technique" 7th ICIST 2018 The Patra Bali Resort and Villas, Bali, Indonesia, November 26-29 2018 (presentation) International Journal of Agricultural Technology.
ทุนที่ได้รับ	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ปีงบประมาณ 2560 รหัสโครงการ 5921150 สัญญาเลขที่ MSD60I0059

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้