

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของหญ้าเนเปียร์

หญ้าเนเปียร์เป็นหญ้าประเภทกอตั้ง มีอายุยืนนานหลายปี ลำต้นมีขนาดใหญ่ แข็งแรง ประกอบด้วยลำต้นใต้ดินสั้นๆ และลำต้นที่ตั้งตรงขึ้นไปสูง 2-6 เมตร โดยแต่ละต้นจะมีจำนวนข้อประมาณ 15-20 ข้อ ใบมีสีเขียวอ่อน ยาว 70-90 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร และมีเส้นกลางใบขนาดใหญ่ กาบใบมีขนาดเล็กๆ นุ่มมือ ลิ้นใบมีขนาดเล็กๆ สีขาวแข็ง ไม่มีซี่ขาวใบ ช่อดอกแบบ spike ยาวรูปทรงกระบอก ดอกย่อยอาจอยู่เดี่ยว หรือรวมกัน 2-3 กลุ่มมีหางยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ช่อดอกมีสีเหลืองยาว 15-22 เซนติเมตร หนา 2-3 เซนติเมตร หญ้าเนเปียร์ธรรมดาดีดน้อยมากเมล็ดมีสีขาวยาวและมักไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงต้องขยายพันธุ์ด้วยส่วนของต้นเพียงอย่างเดียว

หญ้าเนเปียร์เจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส หญ้าเนเปียร์ทนแล้งได้ดี เนื่องจากมีระบบรากลึกแข็งแรงและหยั่งลึกลงไปในดิน ดินที่ปลูกหญ้าเนเปียร์ควรเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีการระบายน้ำได้ดี ไม่ชอบน้ำท่วมขังและไม่ทนทานต่อสภาพน้ำค้างแข็ง (สายัณห์, 2540)

คุณค่าทางโภชนาและการย่อยได้ของหญ้าเนเปียร์

Butterworth (1967 อ้างโดย เฉลิมพล, 2530) กล่าวถึงการย่อยได้ของหญ้าเนเปียร์คือ ในส่วนของ DM 48-71 , CP 41-71 เปอร์เซ็นต์ , CF 46-75 เปอร์เซ็นต์, NFE 40-74 เปอร์เซ็นต์ และ EE 19-73 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบของ TDN อยู่ระหว่าง 40-67 เปอร์เซ็นต์ และของ DCP 0.9-14.8 เปอร์เซ็นต์ หญ้าเนเปียร์มีความน่ากินสูงสัตว์ชอบกิน ในขณะที่หญ้ายังอ่อนอยู่ สัตว์จะกินหมดทั้งใบและต้น แต่เมื่อหญ้าแก่ขึ้นสัตว์จะเลือกกินเฉพาะส่วนที่เป็นใบ ปล่อยส่วนที่เป็นต้นทิ้งไว้

Rodriguez and Blanco (1970) พบว่าหญ้าเนเปียร์ที่ปลูกในเวเนซุเอลา ให้ CP เฉลี่ยในใบและต้นจากการตัดหญ้านี้ทุกๆ 30, 60 และ 90 วัน เท่ากับ 9.36 เปอร์เซ็นต์ ในใบและ 4.38 เปอร์เซ็นต์ ในต้น

ส่วน CF เท่ากับ 31.14 และ 35.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าหญ้านี้มี Ca 0.43-0.48 เปอร์เซ็นต์ และ 0.14-0.23 เปอร์เซ็นต์ ในใบและต้นตามลำดับ

ส่วน CF เท่ากับ 31.14 และ 35.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าหญ้านี้มี Ca 0.43-0.48 เปอร์เซ็นต์ และ 0.14-0.23 เปอร์เซ็นต์ ในใบและต้นตามลำดับ

สายพันธ์ (2531) กล่าวว่า พืชอาหารสัตว์โดยเฉพาะหญ้าเขตร้อน มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวม (Crude protein) ต่ำกว่าและมีสารเยื่อใยสูงกว่าหญ้าเขตหนาว แม้แต่ในหญ้าเขตร้อนด้วยกันเอง แต่ละชนิดก็มีองค์ประกอบของโปรตีนแตกต่างกันไปต่างๆที่ตัดที่อายุเท่ากันดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตาราง 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในหญ้าเขตหนาวและเขตร้อน

Herbage species	Crude protein %		Crude fiber %	
	3-4 weeks	Average	4 weeks	Average
Andropogon spp.	11.0	7.6	26.9	31.0
Chloris gayana	14.9	8.4	27.4	30.1
Cynodon plectostachyus	11.0	7.5	29.5	30.6
Melinis minutiflora	9.8	6.8	32.1	33.7
Panicum maximum	13.5	8.3	28.3	33.8
Paspalum conjugatum	10.7	6.6	29.5	30.2
Pennisetum spp	14.0	9.2	26.0	30.9
Setaria anceps	10.9	6.5	30.8	33.0
Centrosema pubescens (legume)	15.8	16.9	30.3	30.7

ที่มา : สายพันธ์ (2531)

อีกทั้งสัดส่วนระหว่างใบกับลำต้นก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน หญ้าที่มีใบมากย่อมมีโปรตีนมากตามไปด้วย และจากการศึกษาถึงการย่อยได้ในส่วนต่างๆ ของพืช พบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ในส่วนใบ จะสูงกว่าในส่วนของลำต้น (สายพันธ์, 2531) ดังแสดงในตาราง 2 ซึ่งในส่วนของหญ้าเนเปียร์นั้นมีส่วนของเปอร์เซ็นต์ใบเท่ากับ 56.0 เปอร์เซ็นต์ มีการย่อยได้ในส่วนของใบและลำต้นเท่ากับ 67.4 และ 55.6 ตามลำดับ

ตาราง 2 การย่อยได้ในส่วนต่างๆ ของหญ้าที่อายุ 5 สัปดาห์

ชนิดพืช	% ใบ	% การย่อยได้	
		ใบ	ลำต้น
หญ้าม้าเลย	55.8	73.0	62.5
หญ้าเนเปียร์	56.0	67.4	55.6
หญ้าซีดาเรีย	30.8	97.3	51.2
หญ้าแพงโกล่า	24.7	72.1	48.1

ตัดแปลงมาจาก สายัณห์ (2531)

องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์มีระดับร้อยละของ โปรตีน ฟอสฟอรัส และ โพลีแซคคาไรด์ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากการตัดครั้งแรกเท่ากับ 18.46, 0.592 และ 7.34 ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากการตัดครั้งแรกเท่ากับ 4.34, 0.312 และ 4.81 ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 12 หลังจากการตัดครั้งแรกเท่ากับ 4.59, 0.185 และ 1.81 ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 16 หลังจากการตัดครั้งแรกเท่ากับ 3.37, 0.074, และ 2.22 ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 24 หลังจากการตัดครั้งแรกเท่ากับ 1.80, 0.278 และ 2.00 ตามลำดับ ดังตาราง 3

ตาราง 3 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์ ที่ระยะการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (% วัตถุแห้ง)

อายุหลังการตัดครั้งแรก (สัปดาห์)	โปรตีน	ฟอสฟอรัส	โพลีแซคคาไรด์
3	18.46	0.592	7.34
8	4.34	0.312	4.81
12	4.59	0.185	1.81
16	3.37	0.074	2.22
24	1.80	0.278	2.00

ที่มา : สายัณห์ (2540)

ส่วนประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์หมักที่ระยะการตัดแตกต่างกัน ดังนี้คือ

- 1 ตัดที่ความสูง 1 เมตร (ที่อายุ 30 วัน) – chopped
- 2 ตัดที่ความสูง 1 เมตร (ที่อายุ 30 วัน) – unchopped
- 3 ตัดที่ความสูง 1.5 เมตร (ที่อายุ 80 วัน) – chopped

ซึ่งได้แสดงไว้ในตาราง 4

ตาราง 4 ส่วนประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์หมัก

Treatment	Height of grass	Preparation	DM(%)	OM CP EE NFE CF ADF NDF						
				<----- as % of DM ----->						
1	1 m	Chopped	16.9	89.3	11.9	3.9	42.7	30.7	37.7	64.2
2	1 m	Unchopped	16.1	86.9	10.2	3.6	39.1	34.0	40.9	64.3
3	1.5 m	Chopped	16.6	90.0	7.3	3.1	42.6	37.0	43.9	70.2

Key to columns: DM=dry matter; OM=organic matter; CP=crude protein; EE=ether extract; NFE=nitrogen free extract; CF=crude fibre; ADF=acid detergent fibre; NDF=neutral detergent fibre.

ที่มา : Shinoda *et al.* (1999)

โดยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์ในส่วนของเปอร์เซ็นต์ CP of DM พบว่าการตัดที่ความสูง 1 เมตร (ที่อายุ 30 วัน) – chopped มีระดับสูงที่สุด คือ 11.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือตัดที่ความสูง 1 เมตร (ที่อายุ 30 วัน) – unchopped (10.2 เปอร์เซ็นต์) และ ตัดที่ความสูง 1.5 เมตร (ที่อายุ 80 วัน) – chopped (7.3 เปอร์เซ็นต์) ในส่วนของ CF พบว่าการตัดที่ความสูง 1.5 เมตร (ที่อายุ 80 วัน) – chopped มีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด รองลงมาคือ ตัดที่ความสูง 1 เมตร (ที่อายุ 30 วัน) – unchopped และ chopped (37.0, 34.0, 30.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

2.3 พืชหมัก (Silage)

พืชหมัก หมายถึง พืชอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ที่เก็บเกี่ยวในขณะที่มีความชื้นพอเหมาะนำมาหมักในสภาพที่เป็นสภาวะอากาศ เก็บถนอมไว้ในสภาพหมัก เมื่อพืชอาหารสัตว์ในสภาพสดเปลี่ยนเป็นพืชหมักสามารถเก็บไว้ใช้ได้ยาวนานโดยคุณค่าทางอาหารไม่เปลี่ยนแปลง (สายพันธ์, 2540) ซึ่งพืชทุกชนิดรวมทั้งวัชพืชสามารถทำการหมักได้ทั้งสิ้น การที่พืชสดเปลี่ยนสภาพเป็นพืชหมักต้อง

อาศัยจุลินทรีย์เป็นตัวช่วยที่สำคัญ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีอยู่ตามธรรมชาติ และติดไปกับพืชที่นำมาหมัก ซึ่งมีทั้งชนิดที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic) ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic) และอยู่ได้ในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative) จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในพืชที่กำลังหมักจนเกิดสภาพเป็นกรดที่เหมาะสม ช่วยรักษาสภาพของพืชให้เก็บรักษาไว้ได้นานขึ้น

นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์ชนิดที่สำคัญที่สุดที่จะทำให้พืชหมักมีคุณภาพดี คือ *Lactobacillus* ซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก (Lactic acid) และกรดอะซิติก (Acetic acid) ซึ่งปริมาณของกรดทั้ง 2 ชนิดนี้ จะทำให้ความเป็นกรดของพืชหมักสูงขึ้น ถ้า pH ลดลง มีผลทำให้จุลินทรีย์จำพวก *Butyric acid bacteria*, *Coliform bacteria* และ *Fungi* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ซึ่ง *bacteria* และ *Fungi* พวกนี้เป็น *Bacteria* ที่ทำให้เกิดการเน่าเปื่อยและผลิตกรดที่มีกลิ่นเหม็นรุนแรง เช่น *Butyric acid* เมื่อ pH ลดลงเรื่อยๆจนถึง 4 หรือต่ำกว่าจุลินทรีย์ทุกชนิดจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้แม้กระทั่ง *Lactobacillus* นั่นคือได้แปรสภาพสภาพที่พืชหมักได้ที่แล้ว ปฏิกริยาเคมีต่างๆจะหยุดและพืชหมักจะคงสภาพเช่นนี้ตลอดไป

2.3.1 จุลินทรีย์วิทยาของพืชอาหารหมัก (Silage Microbiology)

McDonald *et al.* (1981) รายงานว่าจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย และ รา เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจน โดยจะเกาะติดอยู่ที่บริเวณพื้นผิวของพืชสดเป็นส่วนใหญ่ ในสภาพอับอากาศในไซโล จุลินทรีย์พวกอื่นๆจะเจริญเติบโตขึ้นมาแทนที่ซึ่งได้แก่ *Species Escherichia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* นอกจากนี้ยังมีจำพวกยีสต์ที่อยู่ได้ทั้งสองสภาพ

อย่างไรก็ตามแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (*Lactic acid bacteria*) ซึ่งจัดเป็นจำพวก *Facultative* จะติดอยู่ภายนอกบริเวณพื้นผิวของพืชสดเป็นจำนวนมาก ซึ่ง *Facultative bacteria* นั้นยังสามารถแบ่งได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ *Homofermentative* และ *Heterofermentative* (ตาราง 5) โดยที่พวก *Heterofermentative* เป็นพวกที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะช่วยในการถนอมพืชอาหารหมักให้มีสภาพคงที่ไม่เน่าเปื่อย

ตาราง 5 ชนิดของแบคทีเรียที่ผลิต Lactic acid ที่พบตามผิวของพืชอาหารสด

Homofermentative	Heterofermentative
Lactobacillus plantarum	Lactobacillus brevis
Pediococcus acidilactice	Lactobacillus buchneri
Streptococcus durans	Lactobacillus fermentum
Streptococcus faecalis	Lactobacillus viridescens
Streptococcus lactis	Leuconostoc mesenteroides

ที่มา : McDonald *et al.* (1981)

หลังจากที่เริ่มขบวนการหมักแล้ว แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และจะเข้าย่อยสลายแป้งที่ละลายน้ำได้ในพืช (Water soluble carbohydrate) ซึ่งจะได้กรดอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ได้แก่ Lactic acid ส่งผลให้ความเป็นกรด - ค่าง (pH) ของพืชลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงที่ระดับ pH ประมาณ 3.8 - 4.0 กิจกรรมของจุลินทรีย์ทุกชนิดจะหยุดลงทั้งหมด ได้เป็นพืชอาหารหมักที่เหมาะสม คุณภาพดี สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน แต่ถ้าขบวนการหมักไม่ดีอากาศสามารถซึมเข้าสู่ภายในได้ จะทำให้ระดับ pH ไม่คงที่ แบคทีเรียจำพวก Saccharolytic clostridia ที่ติดมากับอาหารในตอนแรกในรูปของ Spore จะเริ่มทำการแบ่งตัวโดยจะใช้ประโยชน์จากกรดแลคติก และ แป้ง เป็นปัจจัยในการเจริญเติบโตส่งผลให้พืชหมักที่ได้เกิดการเน่าเสีย คุณภาพไม่ดี เก็บรักษาได้ไม่นาน

2.3.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของขบวนการหมัก

ขณะเริ่มต้นการหมัก เซลล์ (Cell) และเอนไซม์ (Enzyme) ของพืชที่นำมาทำการหมัก ยังคงเกิดขบวนการหายใจและทำงานต่อไปเรื่อยๆ จนกระทั่งออกซิเจนหมดไป แป้งที่สะสมในพืชจะถูก ออกซิไดซ์ (oxidize) ได้เป็น CO₂ และ H₂O ในช่วงนี้จะเกิดความร้อนทำให้อุณหภูมิในถังหมักสูงขึ้น ถ้าอัดไม่แน่นพอ มีผลทำให้อากาศซึมเข้าไปได้ จะทำให้อุณหภูมิของถังหมักสูงขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้อาหารที่หมักมีสีน้ำตาลเข้ม (Overheat silage) ซึ่งเป็นอาหารหมักคุณภาพต่ำ ในสภาพสูญญากาศแบคทีเรียพวกที่ผลิต Lactic acid จะเข้าย่อยสลายแป้งที่มี Glucose และ Fructose เป็นองค์ประกอบให้ ได้เป็น Lactic acid ในขณะที่แบคทีเรียพวก Homofermentation จะทำหน้าที่ในการย่อยสลายน้ำตาล hexose และขบวนการ Hydrolysis ของพวก Hemicellulose ให้ได้น้ำตาล pentose ซึ่งจะถูกหมักต่อไปเป็น Lactic acid

สำหรับโปรตีนในพืชที่กำลังเจริญเติบโตจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 75 – 90 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากที่เก็บเกี่ยวพืชแล้ว protease enzyme ในพืชจะเข้าย่อยสลายโปรตีนให้กลายเป็น amino acid ภายในระยะเวลา 12 – 24 ชั่วโมง ในโตรเจนอีกส่วนหนึ่งประมาณร้อยละ 20 – 25 จะถูกเปลี่ยนให้เป็น ammonia อย่างไรก็ตามแบคทีเรียพวกที่ผลิต Lactic acid ก็สามารถเข้าทำการย่อยสลาย amino acid บางตัวได้ เช่น ย่อย arginine ได้เป็น ornithine แต่ในกรณีที่มี Clostridia มักจะทำให้เกิดการเมทาโบไลซ์ (Metabolize) amino acid ในอัตราที่สูงโดยอาศัยขบวนการต่างๆ ดังนี้ คือ deamination, decarboxylation และ reduction ทำให้เกิดสารประกอบพวก amines, NH_3 , keto acid, และ fatty acid (ตาราง 6)

ตาราง 6 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักพืช

(A) Lactic acid bacteria

Homofermentative :

Glucose	→	2 Lactic acid
Fructose	→	2 Lactic acid
Pentose	→	Lactic acid + Acetic acid

Heterofermentative :

Glucose	→	Lactic acid + Ethanol
3 Fructose	→	Lactic acid + 2 Methanol + Acetic acid + CO_2
Pentose	→	Lactic acid + Acetic acid

(B) Clostridia

Saccharolytic :

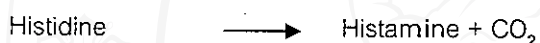


Proteolytic :

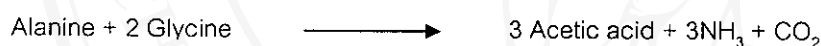
Deamination



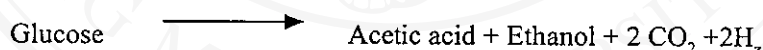
Decarboxylation



Oxidation / Reduction



(C) Enterobacteria



ที่มา: McDonald *et al.*, (1981)

2.3.3 การสูญเสียโภชนะในช่วงการหมัก (Losses of nutrient during ensilage)

McDonald *et al.* (1995) รายงานว่า การสูญเสียโภชนะในระหว่างการหมักมีสาเหตุดังต่อไปนี้

2.3.3.1 การสูญเสียขณะเก็บเกี่ยว (Field losses)

ถ้ามีการเก็บเกี่ยว และ ทำการหมักในวันเดียวจะมีการสูญเสียโภชนะน้อยมาก ถ้ามีการตากพืชนาน 24 ชั่วโมงจะสูญเสียวัตถุแห้งไม่เกินร้อยละ 1 - 2 ถ้าตากแดดนานกว่า 48 ชั่วโมงการสูญเสียวัตถุแห้งจะขึ้นอยู่กับลักษณะอากาศ มีรายงานว่าก่อนทำการหมักถ้านำเอาพืชมาตากแดด

นาน 5 วันจะสูญเสียวัตถุแห้งร้อยละ 6 ตากแดดนาน 8 วันสูญเสียวัตถุแห้งไปร้อยละ 10 ซึ่งโภชนะที่สูญเสียไปมากที่สุดได้แก่คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้

2.3.3.2 การสูญเสียเนื่องจากการหายใจ (Oxidation losses)

เป็นการสูญเสียเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme) ในพืช และจุลินทรีย์ ในการย่อยสลายแป้งในสถานะที่มีออกซิเจนผลที่ได้คือ CO_2 และ H_2O ซึ่งถ้าภายในกองพืชหมักมีการอัดแน่นที่ดีพอ จะมีสัดส่วนของการสูญเสียน้อยมาก ประมาณร้อยละ 1 ซึ่งมักเกิดในบริเวณที่โดนอากาศ คือ ส่วนบน และด้านข้างของกองพืชหมัก การตรวจดูการสูญเสียในส่วนนี้อาจทำให้เข้าใจผิดได้และอาจจะทำให้เกิดการสูญเสียถึงร้อยละ 75

2.3.3.3 การสูญเสียเนื่องจากการหมัก (Fermentation losses)

ในขบวนการหมักจะเกิดขบวนการทางชีวเคมีมากมาย เช่น การเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายง่าย (Soluble carbohydrate) และ โปรตีน ทำให้เกิดการสูญเสียวัตถุแห้งและพลังงานเป็นผลให้การทำงานของแบคทีเรียที่ผลิตกรด Lactic ลดต่ำลง

การสูญเสียวัตถุแห้งเกิดขึ้นต่ำกว่าร้อยละ 5 และมีการสูญเสียพลังงานไปบางส่วน ทั้งนี้เนื่องจากการผลิตสารประกอบที่ให้พลังงานสูง เช่น ethanol แต่ถ้ามีแบคทีเรียพวก Clostridia มาก จะเกิดการสูญเสียที่มากกว่าเนื่องจากการผลิตแก๊สต่าง ๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และ แอมโมเนีย

2.3.3.4 การสูญเสียในส่วนของการไหลที่รั่วไหลออก (Effluent losses)

ในกองพืชหมักจะมีการไหลซึมออกของของเหลว ทำให้เกิดการสูญเสียโภชนะบางส่วนไปกับของเหลว ประกอบด้วย น้ำตาล สารประกอบไนโตรเจน แร่ธาตุ และกรดที่เกิดจากขบวนการหมัก ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีคุณค่าทางโภชนะสูง ถ้านำพืชที่มีวัตถุแห้ง 150 g/kgDM ไปทำพืชหมักจะสูญเสียวัตถุแห้งไปประมาณร้อยละ 10 แต่ถ้านำพืชที่มีวัตถุแห้ง 300 g/kgDM ไปทำพืชหมักจะมีการสูญเสียวัตถุแห้งน้อยมาก

2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพพืชหมัก

2.3.4.1 ปริมาณออกซิเจน

ก๊าซออกซิเจนเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการในขบวนการหมัก การไล่อากาศออกไม่หมด หรือมีอากาศเหลือในหลุมหมักทำให้ขบวนการหายใจของเซลล์พืชยังคงดำเนินต่อไป พืชจะใช้

คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้เป็นแหล่งพลังงาน ทำให้คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ลดลง การผลิตกรดแลกติกเกิดขึ้นน้อยทำให้ได้หญ้าหมักคุณภาพต่ำ ดังนั้นการอัดแน่นจึงเป็นวิธีการที่ดีในการไล่อากาศที่หลงเหลืออยู่ออกไป ซึ่งจากรายงานของ Lancenter and Mcnaughton (1961 อ้างอิงโดย สมสุข,2544) ถึงอิทธิพลของการอัดแน่นต่อคุณภาพของหญ้าหมัก สรุปการทดลองได้ว่า ในกลุ่มที่มีการอัดแน่นมากจะมีอุณหภูมิต่ำ ความหนาแน่นสูง ลดการสูญเสียวัตถุแห้งและไนโตรเจนได้ดี และมีการผลิตกรดแลกติกสูง

ตาราง 7 อิทธิพลของการอัดแน่นของหญ้าต่อคุณภาพของหญ้าหมัก

	ลักษณะของการอัดแน่น		
	หลวม	ปานกลาง	อัดแน่น
ความหนาแน่น (กก./ลบ.ม)	22.7	30.7	38.6
อุณหภูมิ	38	26	25
การสูญเสียวัตถุแห้ง	37.2	28.4	17.4
การย่อยได้ (%)	65.6	69.7	76.3
การผลิตกรดแลกติก (%)	1.43	5.19	10.12
VFA(%)	8.5	6.5	3.1
Total N(%)	3.84	3.73	3.46
Volatile N (% total N)	23.7	29.4	12.2

ที่มา : Lancenter and Mcnaughton (1961 อ้างอิงโดย สมสุข,2544)

2.3.4.2 ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น

ในสภาพที่พืชยังมีชีวิตอยู่พบว่ามีจุลินทรีย์อยู่มากมาย ได้แก่ coliform bacteria, aerobic bacteria, micrococci, streptococci, yeast, mould, actinomycete, และ lactic bacteria แต่จุลินทรีย์พวก anaerobic bacteria มักพบน้อย อย่างไรก็ตามพืชอาหารสัตว์ที่นำมาทำการหมักมักมีจุลินทรีย์ในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป (Muck,1991)

2.3.4.3 ความชื้น

บุญล้อมและคณะ (2543) กล่าวว่า การหมักพืชที่มีความชื้นสูงจะส่งผลเสียดังต่อไปนี้คือทำให้เกิดการสูญเสียโภชนะในรูปของเหลวที่ไหลออกมาค่อนข้างมาก และทำให้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจำพวก clostridium มากขึ้นซึ่งเป็นผลให้มีการสูญเสียโภชนะของพืชหมัก ดังนั้นพืชที่จะนำมาหมักควรมี

ความชื้นประมาณร้อยละ 65 - 75 ถ้าพืชที่นำมาหมักมีความชื้นสูงต้องใช้เวลาในการผลิตกรดแลคติกนาน จนกว่าจะถึงระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ แต่ถ้าความชื้นน้อยเกินไปก็จะทำให้การอัดแน่นเป็นไปได้ยาก

Jaster and Moor (1990) ได้ทำการศึกษาถึงผลของความชื้นที่ระดับร้อยละ 50 60 และ 70 ต่อการผลิตพืชหมัก พบว่าความชื้นที่ระดับร้อยละ 70 มีผลทำให้ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น ความเป็นกรดค้างลดลงอย่างรวดเร็ว

2.3.4.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (Water soluble carbohydrate, WSC)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (WSC) หมายถึง คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ซึ่งประกอบด้วย กลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส แลคโตส แมนโนส ซูโคส มอลโตส ไซโลส และอะราบิโนส เป็นต้น ปริมาณน้ำตาลเหล่านี้จะมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของการตัดพืช ฤดูกาล ภูมิอากาศ ตลอดจนภูมิประเทศ

การทำให้ Lactic acid bacteria มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเพื่อผลิตกรดแลคติกได้มากนั้นจะต้องมีแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้สูง ทั้งนี้เนื่องจากในพืชมีจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะในกลุ่ม enterobacteria ที่มีมากจะมีความสามารถสูง ดังนั้นปริมาณ WSC เริ่มต้นจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญนอกเหนือจากวัตถุแห้งที่สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของพืชหมักได้ Haigh (1990) รายงานว่าพืชที่จะนำมาหมักต้องมีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ไม่น้อยกว่า 37 กรัม/กิโลกรัมวัตถุแห้งของพืช เพราะเป็นสิ่งที่มีความสำคัญในการป้องกันการเจริญเติบโตของ clostridium ในพืชหมัก แต่อย่างไรก็ตามจากรายงานของ Setara (1989) แนะนำว่าหญ้าที่จะทำพืชหมักได้ควรมีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้อย่างต่ำ 100 กรัม/กิโลกรัมวัตถุแห้งของพืช

2.3.4.5 อุณหภูมิ

Wood and Parker (1971) กล่าวว่า อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ ในช่วงแรกของการหมักนั้นพืชยังหายใจอยู่ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์และความร้อนขึ้นในหลุมหมัก ถ้าความร้อนเพิ่มขึ้นอีก 10 องศาเซลเซียสในขณะที่พืชมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 5 - 25 องศาเซลเซียส พืชจะมีการหายใจเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ดังนั้นการควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำก่อนที่จะปิดหลุมหมักจะช่วยลดการสูญเสียน้ำตาลของพืชที่เกิดจากขบวนการหายใจในระหว่างการหมักได้

Muck (1991) รายงานว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะไปเพิ่มความเร็วของขบวนการหมักและทำให้ความเป็นกรดต่างลดลงอย่างรวดเร็วโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกจะเจริญเติบโตได้ดีที่ 25 – 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส

Gibson *et al.* (1958) ได้ทำการเปรียบเทียบกิจกรรมของ clostridium ในพืช พบว่าที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส clostridium มีกิจกรรมสูงกว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิจะมีผลต่อการเร่งการย่อยสลายโปรตีน โดยในช่วงอุณหภูมิ 10 – 40 องศาเซลเซียส กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ และการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิทุก ๆ 20 องศาเซลเซียสจะทำให้การย่อยสลายโปรตีนเพิ่มขึ้น 3 – 4 เท่า

2.3.4.6 Buffering capacity (BC)

เมธา (2529) กล่าวว่า BC เป็นความสามารถของพืชในการควบคุมความเป็นกรดต่าง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อขบวนการทำพืชหมัก ถ้าพืชหมักมี pH อยู่ในช่วง 4 – 6 การควบคุม pH นั้น 70 – 80 % จะเป็นผลของเกลืออินทรีย์ เช่น เกลือออร์โทฟอสเฟต ซัลเฟต ไนไตรด และคลอไรด์ ส่วนอีก 10 – 20 % นั้นขึ้นอยู่กับโปรตีนในพืชเอง

Muck (1991) รายงานว่าหญ้าและข้าวโพดมีค่า Buffering capacity อยู่ในช่วง 250 – 450 มิลลิอิกควาเลนซ์ ของด่างต่อกิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง ในขณะที่พืชตระกูลถั่วมีค่าระหว่าง 350 – 600 มิลลิอิกควาเลนซ์ของด่างต่อกิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง ดังนั้นพืชตระกูลถั่วจึงมีคุณสมบัติที่ยากต่อการทำพืชหมัก หรืออาจกล่าวได้ว่าต้องใช้ น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเพื่อลดความเป็นด่างให้อยู่ในระดับที่ต้องการ โดยปกติแล้วพืชเมื่อร้อนจะไม่พบปัญหานี้มากนัก

2.3.5 ประโยชน์ของการทำพืชหมัก

เมธา (2529) ได้กล่าวถึงประโยชน์ และ ข้อเสียของการทำพืชหมักไว้ดังต่อไปนี้

ประโยชน์

1. เพิ่มความน่ากิน สัตว์จะสามารถกินพืชหมักได้ในปริมาณมาก ยิ่งถ้าให้ร่วมกับเมล็ดธัญพืชจะมีผล ทำให้พืชหมักมีความน่ากิน สัตว์กินอาหารได้เพิ่มขึ้น
2. ถ้าให้ร่วมกับอาหารที่มีความแห้งมากจะช่วยลดความเป็นฝุ่นของอาหารนั้น ทำให้สัตว์กินอาหารได้มากขึ้น
3. ช่วยลดแนวโน้มที่จะทำให้สัตว์เกิด โรคท้องอืด (bloat) โดยเฉพาะถ้าพืชที่นำมาหมักนั้นเป็นพืชตระกูลถั่ว

4. อาจจะเป็นวิธีการลดสารพิษ (detoxifying) ที่มีอยู่ในพืชนั้น ๆ เช่น กรดไซยานิกในมันสำปะหลัง
5. สามารถเก็บถนอมพืชอาหารไว้ได้เป็นเวลานาน ๆ โดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้งที่พืชอาหารสัตว์ขาดแคลน

ข้อเสีย

1. สัตว์ที่กินพืชอาหารหมักเข้าไปแล้วอาจทำให้มูลเหลว (Laxative effect) บางครั้งต้องหลีกเลี่ยงอาหารหมัก
2. ในสภาพอากาศร้อนถ้าสัตว์กินอาหารไม่หมด ทำให้เกิดเชื้อรา และเน่าเสียได้ง่าย
3. จะต้องมีการเปลี่ยนลักษณะทางกายภาพของพืชก่อนที่จะนำมาหมัก เช่น การสับ มิฉะนั้นจะทำให้สัตว์กินได้ยาก

2.3.6 การปรับปรุงคุณภาพหญ้าหมักในเขตร้อน

จากรายงานของ NRC (2001) พบว่ากากน้ำตาลมีคุณค่าทางโภชนาการในส่วนของ DM CP EE NDF ADF และ Ash เท่ากับร้อยละ 74.3 5.8 0.2 0.4 0.2 และ 13.3 ตามลำดับ ในขณะที่ผสมสุก (2544) ได้ทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีในการผลิตพืชหมักในถุงพลาสติก 2 ชั้น ดูดอากาศออกบรรจุถุงละ 20 กิโลกรัม โดยใช้หญ้าที่หมักร่วมกับสารช่วยหมักชนิดต่างๆ ได้แก่ รำละเอียดร้อยละ 16 มันเส้นบด ร้อยละ 16 และกากน้ำตาลร้อยละ 3 4 และ 5 ตามลำดับ พบว่าหญ้าที่หมักร่วมกับกากน้ำตาลร้อยละ 5 มีคุณภาพดีที่สุด เนื่องจากการสูญเสียวัตถุดิบ (DM) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3 - N) น้อยที่สุด (ร้อยละ 4.67 และ 5.02 ตามลำดับ) อีกทั้งยังมี (pH) ที่เหมาะสม (3.99) และมีกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาคุณค่าทางอาหารของหญ้าหมักโดยวิธีวัดปริมาณแก๊ส พบว่าหญ้าที่หมักร่วมกับกากน้ำตาลร้อยละ 5 มีการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุเท่ากับร้อยละ 59.80 และมีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) และพลังงานสุทธิ (NE) สูงกว่ากลุ่มอื่น (3.10 และ 1.79 MJ/kgDM) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

Tjandraatmadja *et al.* (1994) ได้ทำการทดลองปรับปรุงคุณภาพของหญ้าหมักในเขตร้อน ซึ่งทำการศึกษาแบบ 3 ปัจจัยคือ 3 x 3 factorial in CRD โดยปัจจัยที่ 1 เป็นพันธุ์หญ้า (Hamil, Pangola, Setaria) ปัจจัยที่ 2 เป็นอายุตัดหญ้า (4 8 และ 12 สัปดาห์) ปัจจัยที่ 3 เป็นระดับของการเสริมกากน้ำตาล (0 4 และ 8% w/w fresh) โดยทำการพ่นลงในหญ้าที่หั่นให้มีขนาด 1 เซนติเมตร บรรจุในถุงๆละ 500 กรัม ภายหลังจากการหมัก 1, 5, 30 และ 100 วันสุ่มตัวอย่างนำมาวิเคราะห์พบว่า

การฉีดพ่นกากน้ำตาลลงในหญ้าหมัก 4% และ 8 % สามารถปรับปรุงคุณภาพของพืชหมักในเขตร้อนได้อย่างมีคุณภาพสูง แต่การปรับปรุงโดยไม่ใช้กากน้ำตาล ไม่ว่าจะใช้พืชชนิดใดหรืออายุเท่าใด พบว่าคุณภาพของพืชหมักยังไม่ได้มาตรฐาน ทั้งนี้เนื่องมาจากมีเยื่อใยสูง โดยเฉพาะ NDF และ Lignin อีกทั้งมีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้น้อย และมีความชื้นสูงจึงเป็นผลให้จุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria เจริญเติบโตช้า แต่อย่างไรก็ตาม Tjandraatmadja *et al* (1990) รายงานว่ามี การตรวจพบจุลินทรีย์ในหญ้าหมักเขตร้อน โดยเฉพาะ *Lactobacillus plantarum* เป็นส่วนมาก ประมาณ 53% ดังนั้นการปรับปรุงพืชหมักอาจทำได้โดยการเร่งการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีอยู่ตามธรรมชาติโดยการเพิ่มสารช่วยหมักที่เป็นแหล่งอาหารของ จุลินทรีย์ เช่น กากน้ำตาล รำ ข้าวโพด และมันเส้น เป็นต้น (ตาราง 8)

จุฑารัตน์ (2520) ได้ทำการศึกษาค่าทางอาหารและการย่อยได้ของหญ้าขนที่หมักร่วมกับสารช่วยหมักและหมักโดยไม่มีสารช่วยหมัก โดยสับหญ้าให้มีความยาว 2 นิ้ว และเติมสารช่วยหมักต่างๆคือ กลุ่มที่ 1 ไม่มีการเติมสารเสริมช่วยหมัก กลุ่มที่ 2 เสริมกากน้ำตาล 5% กลุ่มที่ 3 เสริมกากสับประรด 2% และกลุ่มที่ 4 เสริมมันเส้นบด 10% พบว่าหญ้าขนที่เสริมกากน้ำตาล 5% และหญ้าขนที่เสริมกากสับประรด 2% มีค่า pH พอเหมาะคือ 4.25 และ 4.15 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดหญ้าขนที่เสริมกากน้ำตาล 5% มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูง กรดบิวทีริกและกรดอะซิติกต่ำถือว่าเป็นหญ้าหมักที่คุณภาพดี (ตาราง 9)

De Lucci *et al.* (1968 อ้างโดย เฉลิมพล, 2530) รายงานจากบราซิลว่าวัวที่กำลังเลี้ยงขุนจะกินหญ้าหมักได้สูงกว่าหญ้าสด และให้น้ำหนักเพิ่มต่อวันดีกว่าเล็กน้อย หญ้าหมักนี้ ถึงแม้จะมีองค์ประกอบของ CP และ DN ต่ำกว่าหญ้าสด แต่ก็ยังมี NFE สูงกว่า

ตาราง 8 ผลของพันธุ์หญ้า การเสริมกากน้ำตาลและอายุของพืชต่อองค์ประกอบทางเคมี และจำนวน lactic acid bacteria ในหญ้าที่หมักแล้ว 100 วัน

Composition (g/kgDM)	Grass species				SG ¹ (week)				Molasses (%w/w)			
	H	P	S	P	0	4	8	P	0	4	8	P
DM (g/kg fresh)	247	225	205	***	191	208	277	***	199	232	246	***
NDF	645	565	678	***	585	636	665	***	678	619	588	***
ADF	424	348	418	***	373	398	420	***	445	384	362	***
Hemicellulose	221	216	257	***	212	239	245	***	234	235	226	ns
Cellulose	374	310	373	***	334	359	367	***	391	342	323	***
Lignin	50	39	46	***	40	42	53	***	54	42	39	***
Ash	102	102	97	ns	114	110	78	***	95	98	1109	***
Water soluble carbohydrate	21.6	33.2	20.5	***	20.5	33.2	***	***	15.7	23.7	35.9	***
Total N	11.4	18.4	11	***	17	14.7	9.1	***	13.2	14.3	13.3	ns
NH ₃ - N (g/kg TN)	80	123	77	***	106	105	67	ns	174	55	51	***
pH	3.9	3.7	3.7	***	3.8	3.8	3.7	ns	4.2	3.6	3.5	***
Lactic acid	25	66	37	***	52	44	32	*	10	49	69	***
Acetic acid	20	22.3	18.7	ns	28.4	16.7	15.8	ns	39.3	10	11.7	***
Prorionic acid	1.4	3	1.3	ns	2.5	2.1	1.1	ns	5.2	0.2	0	***
Butyric acid	8.8	18.8	6.1	ns	20.3	7.3	6.2	ns	28.9	3.6	1.2	ns
Valeric acid	0	1.6	0	ns	0.9	0.7	0	ns	1.6	0	0	ns
Lactic acid bacteria (log c.f.u./g dry matter)	5.65	4.4	5.3	ns	4.51	5.68	5.17	ns	5.81	4.75	4.79	ns

หมายเหตุ : SG¹ : stage of growth H : Hamill, P : Pangola, S : Setaria, ns = non significant

ที่มา : Tjandraatmadja *et al.* (1994)

ตาราง 9 องค์ประกอบทางเคมี และคุณภาพของหญ้าขนที่หมักร่วมกับสารช่วยหมักชนิดต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละของวัตถุแห้ง)	หญ้าขน	หญ้าขน + กากน้ำตาล 5%	หญ้าขน + กากสับประรด 2 %	หญ้าขน + มันเส้นบด 10%
DM	19.14	20.4	19.84	25.95
pH	5.10	4.25	4.15	4.55
CP	6.88	9.6	9.23	6.55
CF	35.99	30.7	32.1	29.14
EE	3.57	5.8	5.87	4.34
NFE	42.67	37.7	40.92	49.46
Ash	11.40	14.15	11.87	10.5
Lactic acid (%)	0.12	1.00	0.80	0.40
Acetic acid (%)	0.36	0.22	0.83	0.3
Butyric acid (5%)	0.35	0.23	0.02	0.41

หมายเหตุ : lactic acid, acetic acid, butyric acid มีหน่วยเป็น % กรดเทียบจากน้ำหนักสดของพืช
ที่มา : จุฑารัตน์ (2520)

วารุณีและคณะ (2541) ได้ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพของหญ้าแฝกหมักที่หมักร่วมกับสารเสริมชนิดต่างๆคือ กลุ่มที่ 1 (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริมยูเรีย 0.5% กลุ่มที่ 3 เสริมกากน้ำตาล 10% กลุ่มที่ 4 เสริมมันเส้นบด 15% กลุ่มที่ 5 เสริมกากน้ำตาล 10% ร่วมกับยูเรีย 0.5 % และกลุ่มที่ 6 เสริม มันเส้นบด 15% ร่วมกับยูเรีย 0.5% โดยใช้หญ้าแฝกที่มีอายุตัดที่ 30 วัน หั่นให้มีขนาด 2 – 3 เซนติเมตร แล้วหมักร่วมกับสารช่วยหมักต่างๆ บรรจุในถุงพลาสติกสีดำน้ำหนัก 20 กิโลกรัมต่อถุง อัดให้แน่นและใส่อากาศออกด้วยแรงคนงาน ปิดปากถุง หมักไว้ 30 วันพบว่าหญ้าหมักสูตรที่ 3,4 และ 5 จัดว่ามีคุณภาพดีเมื่อพิจารณาจากความเป็นกรด เบอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง และปริมาณกรดต่าง (ตาราง 10) ในขณะที่ McDonald *et al.*, (1991) รายงานว่ายูเรียจัดเป็นสารเสริมในกลุ่มเพิ่ม โภชนะมักใช้กับพืชที่มีโปรตีนต่ำ เช่น ข้าวโพด นอกจากนี้ยูเรียยังสามารถยับยั้งการหมักได้อีกด้วยเพราะสามารถแตกตัวเป็นก๊าซแอมโมเนียได้ซึ่งจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ สามารถลดการสลายตัวของโปรตีนระหว่างการหมัก และช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาพืชหมักได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Doyle *et al.*, (1986) ที่รายงานว่าใน ยุโรปและอเมริกานิยมใช้แอมโมเนียในรูปแก๊สและของเหลวในการปรับปรุงคุณภาพของพืชหมักเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ ส่วนใน

ประเทศกำลังพัฒนาการใช้แอมโมเนียในรูปของเหลวและแก๊สไม่ได้รับความนิยม เนื่องจากไม่สะดวกในการขนส่งและเก็บรักษา จึงนิยมใช้แอมโมเนียจากการสลายตัวของปฏิกยูเรีย (46% ในโตรเจน)

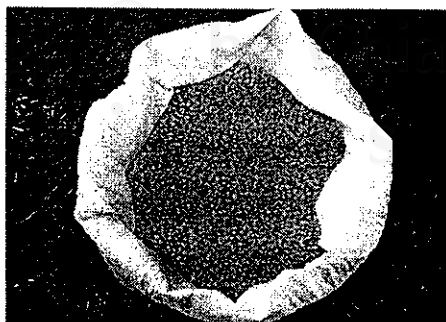
ตาราง 10 คุณภาพของหญ้าแฝกที่อายุตัด 30 วันที่มีร่วมกับสารช่วยหมักชนิดต่างๆ

ค่าที่ศึกษา	ไม่เสริม	+ยูเรีย 0.5%	+กากน้ำตาล 10%	+มันเส้น 15 %	+กากน้ำตาล + ยูเรีย	+มันเส้น + ยูเรีย
pH	5.20	5.80	4.00	3.90	4.30	4.40
วัตถุแห้ง (%)	24.60	26.80	28.10	32.50	34.00	34.90
กรดแลคติก (%)	0.04	0.16	1.27	1.44	1.77	1.30
กรดอะซิติก (%)	0.62	0.80	0.19	0.26	0.23	0.51
กรดบิวทีริก (%)	0.61	0.65	0.06	0.06	0.13	0.33

ที่มา : วารุณีและคณะ (2541)

Yokota *et al.* (1998) ได้ทำการทดลองปรับปรุงคุณภาพของหญ้าเนเปี้ยหมัก โดยหันให้มีขนาด 3 เซนติเมตรแล้วเสริมด้วย กากน้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ ไร่สกัดน้ำมัน (2% crude fat) 15 เปอร์เซ็นต์ และ กากน้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ + ไร่สกัดน้ำมัน 15 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในถุงพลาสติก เมื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพพบว่าการสูญเสียโภชนะเป็น 5.6 , 0.3, และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหญ้าหมักที่เสริมด้วยรำนั้นพบว่าเกิดกรด acetic และ propionic สูง (6.7 และ 1.4 เปอร์เซ็นต์ of DM) แต่กลับมีสัดส่วนของกรด lactic ต่ำจากข้อสรุปดังกล่าว Yokota *et al.* (1998) จึงแนะนำให้มีการใช้รำน่วมกับกากน้ำตาลในการปรับปรุงคุณภาพของหญ้าเนเปี้ยหมัก

จากรายงานของ Allison *et al.* (1993) ที่ทำการเสริม Soybean hulls 20 เปอร์เซ็นต์ ลงใน Corn silage ของอาหารโคเนื้อ พบว่าน้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ Corn silage ที่ไม่มีการเสริม Soybean hulls 60 ปอนด์ และโคกลุ่มที่ได้รับ Corn silage ที่มีสารเสริม Soybean hulls ยังสามารถลดต้นทุนค่าอาหารต่อตัวได้ 8.69 เหรียญสหรัฐ



ภาพ 1 : เปลือกเมล็ดถั่วเหลือง (Soybean hulls)

Firkins and Eastridge (1992) พบว่าการแทนที่สัดส่วนของข้าวโพดหมักด้วยเปลือกเมล็ดถั่วเหลือง (62.5 % of total dietary NDF) สามารถลดอาหารหยาดลง สามารถเพิ่มปริมาณน้ำนมและเปอร์เซ็นต์ไขมันนมซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญมากในการผลิตน้ำนม

สายขิม และคณะ (2535) รายงานว่าการหมักยอคอ้อยที่ผสมด้วยใบกระถินในระดับ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกากน้ำตาลเป็นสารช่วยหมักนั้น ช่วยให้ได้ยอคอ้อยหมักที่มีคุณภาพดีขึ้น

สายขิม และนวลมณี (2535) ได้ศึกษาการหมักต้นและเศษเหลือของข้าวโพดฝักอ่อนเสริมด้วยใบกระถิน โดยใช้ถุงหมักเพื่อใช้เป็นอาหารโคนม พบว่าการเสริมใบกระถินที่ 10, 20 และใบกระถิน 20 + มันเส้น 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้ความน่ากินของพืชหมักลดลง ขณะเดียวกันยังเป็นการช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้ดียิ่งขึ้นด้วย

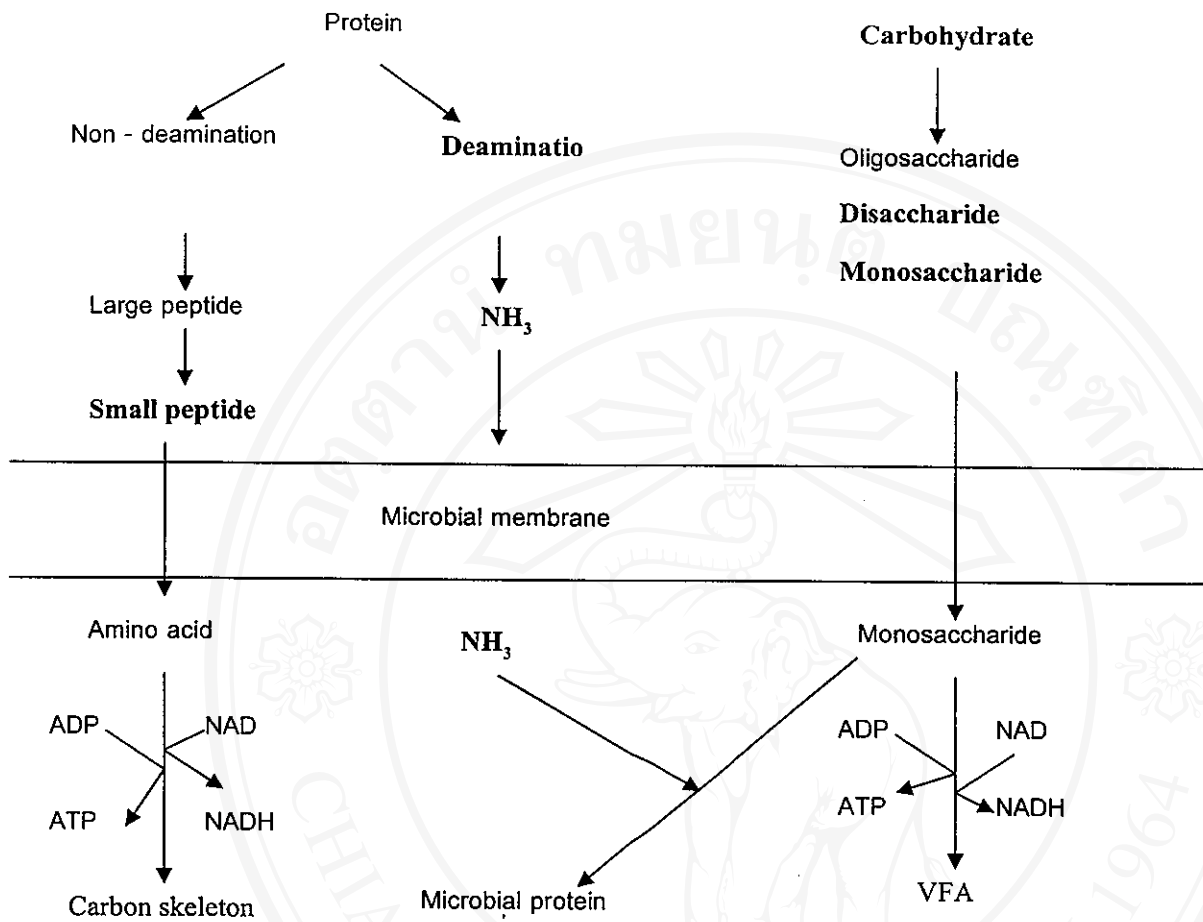
2.4 การย่อยอาหารที่ตำแหน่งต่างๆ ของระบบทางเดินอาหารในโค

การย่อยอาหาร (digestion) หมายถึงขบวนการที่ทำให้อาหารมีขนาดเล็กลงจนพอดีที่ร่างกายจะสามารถดูดซึมได้ (absorb) และนำไปใช้ประโยชน์ได้ (utilize) การย่อยอาหารในโคโดยส่วนใหญ่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร โดยที่อาหารแต่ละชนิดมีการย่อยได้ในทางเดินอาหารแต่ละส่วนไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการย่อยได้ของทางเดินอาหารในแต่ละส่วนนั้น เช่น อาหารที่มีส่วนประกอบของเยื่อใยสูงไม่สามารถถูกย่อยได้ที่กระเพาะแท้ (abomasum) และลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (rumen) ไส้ติ่ง (caecum) และลำไส้ใหญ่ (colon) โดยอาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์

2.4.1 การย่อยอาหารในกระเพาะหมัก

อาหารแต่ละชนิดนั้นมีการย่อยได้ในทางเดินอาหารแต่ละส่วนไม่เท่ากัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับน้ำย่อยที่สัตว์ขับออกมา ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ และธรรมชาติของอาหารนั้นๆ เช่น อาหารที่มีเยื่อใยสูงไม่สามารถย่อยได้ที่กระเพาะแท้และลำไส้เล็ก เพราะเอนไซม์จากตัวสัตว์ไม่สามารถย่อยเยื่อใยได้ แต่จะสามารถย่อยได้บ้างที่กระเพาะรูเมน ไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่โดยอาศัยเอนไซม์จาก จุลินทรีย์เกิดผลผลิตคือ

- กรดไขมันระเหยได้ (short chain fatty acid, SCFA หรือ volatile fatty acid, VFA)
- โปรตีนจุลินทรีย์ (microbial protein)
- ก๊าซมีเทน และ คาร์บอนไดออกไซด์
- ขบวนการย่อยอาหารดังแสดงในภาพ 2



ภาพ 2 : การย่อยสลายโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมัก

ที่มา : คัดแปลงจาก Van Soest (1994)

2.4.1.1 การย่อยคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมัก

การย่อยอาหารที่เกิดขึ้นในกระเพาะส่วนนี้เกิดจากเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในกระเพาะส่วนนี้เท่านั้น เนื่องจากกระเพาะหมักในโคนั้นไม่มีการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหารแต่อย่างใด ขบวนการย่อยและเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมัก แบ่งได้เป็นขั้นตอนดังต่อไปนี้

- การย่อย Polysaccharide ให้เป็น Monosaccharide
- การเปลี่ยน Monosaccharide ให้เป็น Pyruvate
- การเปลี่ยนไพรูเวท (pyruvate) ให้เป็นกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid)
- การสังเคราะห์มีเทน (methane, CH₄)

การย่อยแป้งในกระเพาะหมักเกิดขึ้นโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ เช่น พวกแบคทีเรีย และ โปรโตซัว ได้ผลผลิตคือน้ำตาล (glucose) ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที จึงพบน้ำตาลพวกนี้เป็นจำนวนน้อยในกระเพาะหมัก ผลจากการเมตาบอลิซึมน้ำตาล จุลินทรีย์จะให้ผลผลิตเป็นกรดไขมันระเหยได้ คาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทน ส่วนความเข้มข้นและสัดส่วนของกรดไขมันระเหยได้ที่เกิดขึ้นนั้นจะไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและระยะเวลาในการกินอาหารของโคดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 สัดส่วนของอาหารขึ้นต่ออาหารหยาบต่อการเกิดกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

อาหารหยาบ : อาหารข้น	กรดไขมันระเหยได้ (%)		
	กรดอะซิติก	กรดโพรพิโอนิก	กรดบิวทีริก
100 : 0	71.4	16.0	7.9
75 : 25	68.2	18.1	8.0
50 : 50	65.3	18.4	10.4
40 : 60	59.8	25.9	10.2
10 : 80	53.6	30.6	10.7

ที่มา : Phillipson (1970)

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมัก

1. ชนิดและส่วนประกอบของธัญพืชในอาหารข้นที่โคได้รับ
2. อายุความแก่อ่อนของแป้งในธัญพืช
3. อัตราส่วนของธัญพืชในอาหารข้นที่โคได้รับ
4. ปริมาณอาหารข้นที่โคได้รับที่มีผลต่ออัตราการไหลผ่าน (rate of passage)
5. กรรมวิธีในการแปรรูปอาหาร วัตถุดิบหรือธัญพืชที่นำมาใช้เลี้ยงโค

2.4.1.2 การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก

การสลายตัวของโปรตีนแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอนดังนี้คือ

1. ขบวนการ Proteolysis แยกรอยต่อของโครงสร้าง โปรตีนด้วยวิธี hydrolysis ตรง peptide bond ทำให้ได้ peptide และกรดอะมิโนบางส่วนออกมา
2. ขบวนการสลายตัวของกรดอะมิโน โดยขบวนการ deamination และผลิตภัณฑ์อินทรีย์และแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (เทอดชัย, 2542)

การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก คือ อาหารประเภทโปรตีนประกอบไปด้วยโปรตีนแท้ (true protein) และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (NPN) โปรตีนแท้บางส่วนจะถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เรียกโปรตีนเหล่านี้ว่า rumen degradable protein (RDP) ซึ่งจะถูกลดเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน แต่กรดอะมิโนบางชนิดบางส่วนจะถูกย่อยต่อไปเป็นกรดอินทรีย์ แอมโมเนีย และ คาร์บอนไดออกไซด์ โดยแอมโมเนียที่เกิดขึ้น เปปไทด์ขนาดเล็ก และกรดอะมิโนอิสระจะถูก จุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์สังเคราะห์เป็นโปรตีนจุลินทรีย์ (microbial protein) และโปรตีนบางส่วนที่ทนทานต่อการย่อยจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักทำให้ไม่ถูกย่อยและเคลื่อนที่ผ่านไปยังกระเพาะแท้และลำไส้เล็ก เรียกโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยเหล่านี้ว่า rumen undegradable protein (RUP) ส่วนไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (NPN) เมื่อเข้าไปในกระเพาะหมักจะแตกตัวเป็นแอมโมเนีย ซึ่งจะถูกลดโดยจุลินทรีย์นำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนจุลินทรีย์ ซึ่งระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักสามารถวัดได้โดยวิธี Conway method (Voigt und Steger, 1967) หรือโดยวิธีการกลั่น และระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์โปรตีนจุลินทรีย์จะอยู่ในช่วง 3 – 8 mg/100ml (Satter and Roffler, 1975) เมื่อเซลล์ของจุลินทรีย์และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักเคลื่อนที่ไปยังกระเพาะแท้และลำไส้เล็กจะถูกเอนไซม์ในทางเดินอาหารย่อยและ ดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อไป (McDonald *et al.*, 1995)

กิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันออกไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร แต่อย่างไรก็ตาม pH ภายในกระเพาะหมักอาจมีอิทธิพลมากกว่าโดย pH ที่เหมาะสมต่อการเข้าสลายโปรตีนของ จุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 6-7 ซึ่งสามารถวัดได้โดยการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก (rumen fluid) ในส่วนล่างของกระเพาะ (ventral sac) มาวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัดแบบ pH scan BNC™ ซึ่งมีค่าความถูกต้อง ± 0.1 และกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนของจุลินทรีย์ถูกสังเคราะห์จากแอมโมเนีย ส่วนอีก 20 เปอร์เซ็นต์ใช้กรดอะมิโนโดยตรง ประมาณ 59 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนจากอาหารจะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก ปริมาณไนโตรเจนที่ถูกย่อย 29 เปอร์เซ็นต์จะถูกใช้ประโยชน์ในรูปของกรดอะมิโน อีก 71 เปอร์เซ็นต์

จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนีย อย่างไรก็ตามเรื่องนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะธรรมชาติของอาหารโปรตีนแต่ละชนิด (เมธา, 2533)

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยโปรตีนในกระเพาะหมัก

1. ความสามารถในการละลายโปรตีน (protein solubility) โดยโปรตีนที่ละลายได้มากมีโอกาที่จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้มาก
2. วิธีการให้อาหารเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักถ้าโคได้รับอาหารในปริมาณที่มากระยะเวลาที่อาหารอยู่ในกระเพาะหมัก (retention time) ก็จะลดลง มีผลทำให้อาหารเคลื่อนที่ไปยังทางเดินอาหารส่วนอื่นๆ (rate of passage) เร็วขึ้นจุลินทรีย์มีโอกาสดูดโปรตีนได้ลดลง ทำให้โปรตีนรอดพ้นจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของชิ้นอาหารก็มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่อาหารจะคงอยู่ในกระเพาะหมัก โดยอาหารที่มีขนาดใหญ่ หรืออาหารที่ไม่ได้สับจะมีระยะเวลาที่อาหารจะคงอยู่ในกระเพาะหมักมากกว่าอาหารที่มีขนาดเล็ก
3. ปัจจัยจากตัวสัตว์สำหรับสัตว์ชนิดต่างๆกัน เช่น โคและแกะ โดยโคจะมีค่า retention time สูงกว่าแกะ (1.73 -3.7 วัน และ 0.2-2.2 วัน) เมื่อมี retention time สูง โอกาสที่โคจะเคี้ยวเอื้องก็มีสูงกว่าแกะ และทำให้ชิ้นอาหารมีขนาดเล็กกว่าจึงเป็นการเพิ่มโอกาสที่จุลินทรีย์จะเข้าทำการย่อยสลายอาหารได้มากขึ้นด้วย (เทอดชัย, 2542)

2.4.1.3 การย่อยและการดูดซึมในลำไส้

โปรตีนที่เข้าไปในลำไส้เล็ก ได้แก่ โปรตีนจากอาหารที่รอดพ้นจากการย่อยในกระเพาะหมัก (RUP) โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) และโปรตีนจากทางเดินอาหาร (endogenous protein) การย่อยโปรตีนในลำไส้เล็กคล้ายกับในสัตว์กระเพาะเดี่ยว คือโปรตีนจะถูกเอนไซม์จากตับอ่อนและลำไส้เล็กเข้าย่อยโปรตีนได้เป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์สายสั้น ๆ ซึ่งจะถูกดูดซึมโดยลำไส้เล็ก และภายในผนังลำไส้เล็กจะมีเอนไซม์เปปติเดส (peptidase) ย่อยเปปไทด์ให้เป็นกรดอะมิโน และดูดซึมไปยัง portal blood ต่อไป กรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ คือ ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน หรือมีการ oxidation ต่อไปให้เป็นพลังงานในรูปแบบ ATP ส่วนพวกแอมโมเนียหรือไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen) เมื่อถูกดูดซึมจะถูกเปลี่ยนให้เป็นยูเรีย (urea) โดย Ornithine cycle และ ยูเรียส่วนใหญ่เข้าไปรวมกับ Urea N pool ในของเหลวใน

ร่างกายซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกนำกลับมาใช้ใหม่ผ่านทางน้ำลาย และส่วนมากจะถูกขับออกไปพร้อมกับปัสสาวะ ดังนั้นไนโตรเจนที่เข้าไปในลำไส้เล็กถ้าหากมีสัดส่วนของโปรตีนแท้หรือกรดอะมิโนไม่ว่าจะเป็นโปรตีนแท้ที่รอดพ้นจากการสลายตัวในกระเพาะรูเมน (RUP) หรือโปรตีนจาก จุลินทรีย์ในปริมาณสูงก็จะทำให้สัตว์ได้รับกรดอะมิโนผ่านทางลำไส้เล็กได้สูงขึ้น แต่ถ้าเป็นส่วนของโปรตีนที่ไม่ใช่ไนโตรเจนหรือแอม โมเนียร่างกายสัตว์ก็มีโอกาสได้รับกรดอะมิโนน้อย เนื่องจากไนโตรเจนที่เข้าไปในลำไส้เล็กไม่เกิดประโยชน์แก่ร่างกายมากเท่าใด (เทอดชัย,2542)

โปรตีนที่เข้าไปในลำไส้ใหญ่ ได้แก่ โปรตีนในอาหารที่ไม่ถูกย่อยโดยลำไส้เล็ก โปรตีนจากจุลินทรีย์และโปรตีนจากทางเดินอาหาร (endogenous protein) ที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก นอกจากนี้ยังมีน้ำย่อยต่าง ๆ จากลำไส้เล็กและตับอ่อน การย่อยโปรตีนในลำไส้ใหญ่คล้ายกับในกระเพาะหมัก คือ ถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายและผลิตผลผลิตส่วนใหญ่เป็นแอม โมเนีย ส่วนหนึ่งจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อใช้ประโยชน์ในร่างกายอีก และส่วนหนึ่งถูกนำไปสังเคราะห์โปรตีนของ จุลินทรีย์และโปรตีนที่เกิดขึ้นภายในลำไส้ใหญ่นี้ไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ และจะถูกขับออกนอกร่างกายไปพร้อมกับมูล (เทอดชัย,2542)

2.4.1.4 ประโยชน์จากการทราบตำแหน่งการย่อยของอาหาร

เนื่องจากการย่อยอาหารที่ตำแหน่งต่างๆ เกิดผลต่างกัน เช่น การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็น microbial protein ซึ่งมีคุณภาพดี เนื่องจากมีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์ (Schwab, 1995) ดังนั้นถ้าโปรตีนที่สัตว์ เลี้ยวเอื้องกินเข้าไปไม่มีคุณภาพไม่ดี หรือเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen, NPN) การย่อยสลายในกระเพาะหมักจะมีประโยชน์มาก แต่ถ้าโปรตีนที่กินเข้าไปมีคุณภาพสูง การย่อยสลายในกระเพาะหมักอาจไม่มีประโยชน์มากนัก เพราะการสลายตัวของโปรตีนไปเป็นแอม โมเนียในกระเพาะหมักจะเกิดการสูญเสีย เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถนำแอม โมเนียไปใช้ได้ทั้งหมด และ microbial protein ที่เกิดขึ้นอาจมีสัดส่วนของกรดอะมิโนน้อยกว่าโปรตีนเดิมที่สัตว์กินเข้าไป ดังนั้นถ้าโปรตีนจำพวกนี้ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ในตัวสัตว์ที่กระเพาะแท้ และลำไส้เล็กก็จะได้ประโยชน์มากกว่า เพราะได้กรดอะมิโนที่มีสัดส่วนที่เหมาะสมซึ่งสัตว์สามารถดูดซึมไปใช้ได้โดยตรง (บุญล้อม, 2541)

ส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายในกระเพาะหมักถ้าอยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสมจะเกิดประโยชน์มาก เนื่องจากจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานให้กับจุลินทรีย์ อีกทั้งยังเป็นโครงสร้างคาร์บอนในการทำปฏิกิริยากับแอม โมเนียเพื่อนำไปสังเคราะห์ microbial protein อย่างไรก็ตามผลจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมักก็มีการสูญเสียพลังงานส่วนหนึ่งไปในรูปของแก๊สมีเทนและ

คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของ gross energy ที่สัตว์ได้รับ ดังนั้นในกรณีของอาหารหยาบที่มีเยื่อใยสูงที่ไม่สามารถย่อยที่ลำไส้เล็กได้ การย่อยในกระเพาะหมักจึงมีประโยชน์มากกว่า เพราะจะได้เป็น monosaccharide ซึ่งสัตว์สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง ดังนั้นจึงควรให้อาหารคาร์โบไฮเดรตที่มีการย่อยสลายได้ดีในกระเพาะหมักเท่านั้น

2.5 การศึกษาการย่อยได้ในโค (Digestibility studies in cattle)

การศึกษาการย่อยได้ (Digestibility studies) มีความหมายกว้างๆคือ การวัดปริมาณโภชนะหรืออาหารที่สูญหายไปในทางเดินอาหารส่วนต่างๆ ของโคโดยมีวัตถุประสงค์หลักของการศึกษาคือ เพื่อประเมินความสามารถหรือประสิทธิภาพของโคในการนำเอาโภชนะหรืออาหารชนิดนั้นไปใช้ประโยชน์ และเพื่อศึกษาถึงปริมาณโภชนะที่สามารถย่อยได้ในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารว่ามีมากน้อยเพียงใด (เทอดชัย, 2540)

การประเมินคุณค่าทางอาหารที่เป็นพื้นฐานคือ วิธีการวิเคราะห์แบบ proximate analysis (AOAC., 2000) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันมานาน สามารถบอกองค์ประกอบทางเคมีได้ในระดับหนึ่ง แต่มีข้อจำกัดเรื่องการวิเคราะห์องค์ประกอบที่เป็นเยื่อใย จึงมีการพัฒนาการวิเคราะห์เยื่อใยขึ้นเรียกว่า detergent method (Van soest, 1982) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีนี้ก็ยังไม่สามารถบอกการย่อยได้ในตัวสัตว์ ตลอดจนการนำโภชนะต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้จริง ดังนั้นจึงมีการทดลองหาค่าการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) ได้แก่การประเมินค่าการย่อยได้และพลังงานด้วยวิธีวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น และการทดลองในตัวสัตว์โดยตรง (*in vivo*) ได้แก่การศึกษาการย่อยได้โดยวิธีการแบบดั้งเดิมเพื่อหาการย่อยได้แบบปรากฏ และการใช้สารบ่งชี้

2.5.1 การประเมินค่าการย่อยได้และพลังงานโดยวิธีวัดปริมาณแก๊ส (gas production technique)

การศึกษาการย่อยได้โดยวิธีวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นเป็นอีกวิธีที่ได้รับความนิยม โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่ออาหารถูกบ่ม (incubate) ในกระเพาะหมักจะได้ผลผลิตคือก๊าซมีเทน (CH_4) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid, VFA) ซึ่งมีสหสัมพันธ์กับการย่อยได้ของอาหาร (Menke *et al.*, 1979) ซึ่งลักษณะของการเกิดแก๊สในกระเพาะหมักแบ่งออกเป็น 3 ช่วงเวลาดังนี้

1. ระยะ initial phase เป็นระยะที่แก๊สเกิดขึ้นอย่างช้าๆ เนื่องจากอาหารส่วนที่ไม่ละลายทันทีจะถูกจุลินทรีย์เข้าย่อยสลายอย่างช้าๆ ด้วยขบวนการ hydration และ colonization

2. ระยะ exponential phase เป็นระยะที่แก๊สจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องจากอาหารส่วนที่ละลายได้ทันทีถูกจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเข้าย่อยสลายอย่างรวดเร็ว
3. ระยะ asymptotic phase เป็นระยะที่อาหารที่ไม่ละลายในทันทีจะถูกย่อย แต่จะถูกย่อยได้น้อยและขบวนการเกิดขึ้นได้ช้า

Menke and Steingass (1988) ได้พัฒนาวิธีการ *in vitro* gas production technique ขึ้นมาโดยยึดหลักที่คล้ายกับวิธีการที่เสนอโดย Tilley and Terry (1963) แต่มีความแตกต่างกันในรายละเอียดคือเป็นการวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นจากการบ่มตัวอย่างอาหาร แทนที่การวัดปริมาณวัตถุแห้ง และอินทรีย์วัตถุที่หายไป โดยนำค่าแก๊สที่วัดได้มาทำนายค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility, OMD) และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) และค่าพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (net energy for lactation, NE_L) วิธีการนี้สามารถทำได้สะดวกและรวดเร็ว สามารถทำได้ทีละหลายๆ ตัวอย่าง และให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษามากกว่า

2.5.2 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในสัตว์ (*in vivo* digestibility) โดยวิธีการแบบดั้งเดิม (conventional method)

หลักการโดยทั่วไปของการศึกษาโดยวิธีการนี้คือ โคททดลองต้องมีอายุและขนาดน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน สุขภาพดี ไม่ตื่นตกใจง่าย ควรใช้โคททดลองมากกว่า 1 ตัว ทั้งนี้แม้ว่าจะจะเป็นสัตว์ชนิดเดียวกัน อายุและเพศเดียวกัน ก็อาจมีความสามารถในการย่อยอาหารที่แตกต่างกัน การมีจำนวนเข้ามาจะทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องมากขึ้น แต่อาจสิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายมาก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าควรใช้สัตว์ทดลองอย่างน้อย 4 ตัว (บุญล้อม, 2540) วิธีการศึกษาการย่อยได้แบบนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วงคือ

1. ระยะปรับตัว (preliminary period) เป็นระยะเวลาที่ให้สัตว์ทดลองและจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักปรับตัวให้เข้ากับอาหารที่ทำการทดลอง และเพื่อขับอาหารเดิมที่สัตว์ได้รับออกจากทางเดินอาหารให้หมด สำหรับโคระยะนี้ควรใช้เวลาประมาณ 10 – 14 วัน
2. ระยะเก็บข้อมูล (collection period) เป็นระยะเวลาที่เก็บและบันทึกปริมาณอาหารที่สัตว์กิน และมูลที่ขับออกมาโดยวิธีการสุ่ม และเก็บตัวอย่างที่สุ่มมา 5 – 10 เปอร์เซ็นต์ไว้เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เพื่อนำไปคำนวณค่าการย่อยได้โดยทั่วไประยะนี้ใช้เวลาประมาณ 7 – 10 วัน หากจำกัดปริมาณอาหารที่ให้ (restrict feeding) และ 10 – 14 วันหากมีการให้อาหารแบบเต็มที่ (*ad lib*)

หลังจากเสร็จจากขั้นตอนการเก็บตัวอย่างในช่วง collection period แล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณ โภชนะที่มีในอาหารที่ศึกษาและในมูลที่โคขับออกมาเพื่อนำไปคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ที่เสนอโดยบุญล้อม (2540)

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ (\%)} = \left\{ \frac{\text{โภชนะที่กินได้} - \text{โภชนะที่ขับออก}}{\text{โภชนะที่กิน}} \right\} \times 100$$

2.5.3 การศึกษาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (*in vivo*) โดยวิธีการใช้สารบ่งชี้ (indicator method)

การหาค่าการย่อยได้แบบดั้งเดิมบางครั้งอาจทำให้ได้ข้อมูลที่คลาดเคลื่อนเนื่องจากต้องทราบปริมาณอาหารที่กินและมูลที่ขับออกมาทั้งหมด ซึ่งในระหว่างการทดลองการบันทึกปริมาณมูลที่ขับออกมาทั้งหมดนั้นเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก วิธีการใช้สารบ่งชี้ (indicator or marker) ผสมกับอาหารที่ทำการศึกษาและใช้ปริมาณสารบ่งชี้ดังกล่าวเป็นตัวแปลในการคำนวณหาค่าการย่อยได้ ก็เป็นวิธีที่ช่วยแก้ไขปัญหานี้ได้ ซึ่งวิธีการหาค่าการย่อยได้โดยใช้สารบ่งชี้้นั้นคล้ายคลึงกับการหาค่าการย่อยได้แบบดั้งเดิม

2.5.3.1 คุณสมบัติของสารบ่งชี้ (properties of marker)

โดยทั่วไปสารที่สามารถนำมาเป็นสารบ่งชี้ต้องมีคุณสมบัติคือ ต้องเป็นสารที่ไม่ถูกย่อยสลาย ไม่ถูกดูดซึมหรือมีผลต่อระบบทางเดินอาหารและต้องไม่มีผลต่อประชากรของจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารของโคเมื่อผ่านทางเดินอาหารจะต้องเป็นเนื้อเดียวกับอาหารที่กำลังศึกษา มีอัตราการไหลผ่านที่ใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะในกระเพาะหมักซึ่งเป็นแหล่งที่มีความแปรปรวนของอัตราการไหลผ่านเป็นอย่างมาก ที่สำคัญคือต้องสามารถตรวจพบได้ง่ายเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณในอาหารหรือตัวอย่างทดลอง (Marais, 2000) และเมื่อผสมอาหารให้โคกินแล้วต้องสามารถขับออกมาได้ทั้งหมด (Rymer, 2000)

2.5.3.2 ประเภทของสารบ่งชี้ (type of markers)

โดยทั่วไปสารบ่งชี้ที่ใช้ในการศึกษาการย่อยได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

ก) **Internal indicator** เป็นสาร หรือสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยอาจอยู่ในอาหารที่สัตว์กินหรือเป็นส่วนหนึ่งของพืชอาหารสัตว์ มีราคาถูกเหมาะสมสำหรับศึกษาสัตว์ป่า หรือสัตว์เลี้ยงที่ปล่อยแปลงซึ่งยากต่อการให้กินสารบ่งชี้ที่ผสมในอาหาร สารบ่งชี้ประเภทนี้ที่สำคัญได้แก่ลิกันิน

(lignin) ซึ่งพบว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายพันธะ polymerized phenolic compound ของลิกนินได้ (Marais, 2000) แต่อย่างไรก็ตามลิกนินเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนองค์ประกอบทางเคมีของมันอาจมีความหลากหลายทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับชนิดของพืชส่งผลให้ปริมาณที่กลับคืน (recovery rate) อาจไม่คงที่ (เทอดชัย, 2542) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร สารสีในพืช (plant chromogen) ซึ่งพบว่าสารชนิดนี้ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ส่วนใหญ่ได้แก่ซิลิกา (silica) ซึ่งนิยมในการใช้หาค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ในไก่และในโค (Marais, 2000) แต่การใช้เถ้าที่ไม่ละลายในกรดเป็นสารบ่งชี้ อาจเกิดความคลาดเคลื่อนถ้าอาหารที่ศึกษานั้นมีการปนเปื้อนด้วยดิน หรือ ทราย

ข) **External indicator** คือสารเคมีที่ผสมลงไปในการทดลอง โดยปกติการใช้ชนิดนี้กับสัตว์นิยมให้ทางปาก หรือทางช่องเปิดบริเวณทางเดินอาหารต่างๆ ของสัตว์ (rumen fistula or intestine cannular) หรือให้โดยมีอุปกรณ์ควบคุมอัตราอัตโนมัติ (Marais, 2000) อาจมีการให้เป็นแบบครั้ง หรือเป็นจังหวะ (single pulse dose) หรือให้แบบต่อเนื่องตลอดช่วงการทดลอง ทั้งนี้เพื่อให้ปริมาณของสารบ่งชี้ใน digesta มีความสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน ช่วงเวลาที่ให้สัตว์ปรับตัวเพื่อให้มีปริมาณสารบ่งชี้ที่ขับออกมากับมูลอย่างสม่ำเสมอใช้เวลา 6 และ 8 วันในแกะและโคตามลำดับ (Marais, 2000) ซึ่งสารบ่งชี้ประเภทนี้ที่นิยมได้แก่ chromium EDTA หรือ Polyethylene glycol ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ชนิด soluble markers ที่นิยมใช้กันมาก สารประกอบที่นิยมใช้กันมากอีกชนิดหนึ่งได้แก่ สารประกอบประเภท metal oxide และ salts ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำได้แก่ โครเมียมออกไซด์ (Cr_2O_3) ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้เล็กน้อยในอัลคาไลน์และกรด นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการวัดปริมาณมูลของสัตว์ทดลองที่ขับออกมา สารอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันมากและใช้ในการในการศึกษาครั้งนี้ คือ ไททาเนียมออกไซด์ (TiO_2) ซึ่งมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกว่าสารบ่งชี้ทุกชนิด เนื่องจากมีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำและกรดเจือจางไม่ถูกดูดซึมโดยพืช ในแกะพบว่าไม่มีผลกระทบใดๆแม้ว่าจะได้รับไททาเนียมออกไซด์ 2 - 3 กรัมต่อวัน นอกจากนี้ยังสามารถถูกขับออกมากับมูลได้เกือบหมด (98% recovery rate) วิธีตรวจหาไททาเนียมออกไซด์ทำได้โดยการใช้ spectrophotometer หลังจากเกิดปฏิกิริยาoxidationกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide) (Brandt *et al.*, 1983) ซึ่งสามารถคำนวณหาการย่อยได้ของโภชนะโดยวิธีการใช้สารบ่งชี้ตามสมการที่เสนอโดย เทอดชัย (2540) ดังนี้

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ (\%)} = 100 - 100 \times \left\{ \frac{\% \text{ สารบ่งชี้ในอาหาร}}{\% \text{ สารบ่งชี้ในมูล}} \times \frac{\% \text{ โภชนะในมูล}}{\% \text{ โภชนะในอาหาร}} \right\}$$