รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 53 – 24 - 07

รายงานการวิจัย

การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลัง โดยใช้จุลินทรีย์

(Increasing Protein Content in Cassva Pulp and Cassava Peel Using Microorganisms)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 53 – 24 - 07

รายงานการวิจัย

การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลัง โดยใช้จุลินทรีย์

(Increasing Protein Content in Cassva Pulp and Cassava Peel Using Microorganisms)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2556

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังโดยใช้กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ และศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ทดแทนอาหารข้น ต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโค

การทดลองที่ 1 การผลิต Reducing sugar โดยการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง ด้วย *Aspergillus oryzae* จัดแผนการทดลองแบบ 8 × 11 factorial in CRD ปัจจัย A เป็นสูตรในการหมัก 8 สูตร ที่ได้จากการผสมตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด คือ มันเส้น (CSC) กากมันสำปะหลัง (CSPu) และเปลือกมันสำปะหลัง (CSPe) สูตร 1 = (CSPu 100%), สูตร 2 = (CSPe 100%), สูตร3 = (CSC 100%), สูตร4 = (CSPu 75% + CSC25 %), สูตร 5= (CSPe 75% + CSC 25%), สูตร 6 = (CSPu 50% + CSC 50%), สูตร 7 = (CSPe 50% + CSC50 %), สูตร 8 = (CSPu 37.5% + CSPe 37.5% + (CSC 25%) และปัจจัย B เป็นระยะเวลาในการหมักซึ่งแบ่งเป็น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วัน พบว่า ปริมาณ Reducing sugar ของทุกสูตรได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 3 เป็นต้นไป ซึ่งในวันที่ 3 พบว่า สูตร 1 มีปริมาณ Reducing sugar สูงสุด ตามด้วย สูตร 8 และ สูตร 4 ในขณะที่สูตร 3 มีปริมาณ Reducing sugar ต่ำสุด จึงสามารถสรุปได้ว่า ระยะเวลาของการหมักที่เหมาะสมที่สุด คือ วันที่ 3 และสูตรที่ดีที่สุด 3 สูตร คือ สูตร 1 สูตร 8 และ สูตร 4

การทดลองที่ 2 และ 3 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมของการหมักผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโดยใช้เชื้อราและยีสต์ การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย การทดลองที่ 2; ศึกษาระดับ Crude protein และยูเรียที่เหลือ จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* จัดแผนการทดลองแบบ 4 × 6 factorial in CRD โดยปัจจัย A เป็นสูตรตัวอย่างที่มีปริมาณ Reducing sugar สูงที่สุดที่คัดเลือกมาจากการทดลองที่ 1 ทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่ สูตร 1 = (CSPu 100%), สูตร 2 = (CSPe 100%), สูตร 3 = (CSPu 75% + CSC 25%) และ สูตร 4 = (CSPu 37.5% + CSC 25% + CSPe 37.5%) ปัจจัย B เป็นปริมาณยูเรียที่เติมลงในตัวอย่าง มี 6 ระดับคือ 0, 1.25 ,2.50, 5.00, 7.50 และ 10.00 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง พบว่าใน สูตรที่ 4 มีโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุดตามด้วย สูตรที่ 1 ในขณะที่ สูตรที่ 3 มีโปรตีนต่ำที่สุด โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 2 และพบว่าปริมาณโปรตีนนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้น ส่วนระดับยูเรียที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง นั้นพบว่าสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทุกสูตร การทดลองที่ 3 ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเพิ่มเติมจากการทดลองที่ 2 โดยเพิ่มปริมาณตัวอย่างจาก 40 กรัม เป็น 1,000 กรัม โดยจัดการทดลองแบบ 3 × 4 factorial in CRD คัดเลือก 3 สูตร (ตามปัจจัย A) ได้แก่สูตร 1 = (CSPu 100%), สูตร 2 = (CSPe 100%), สูตร 3 = (CSPu 37.5% + CSC 25% +

CSPe 37.5%) และมีการเติมยูเรีย 4 ระดับ (ตามปัจจัย B) คือ 0, 4.0, 5.0 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง พบว่าในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้ง 3 สูตรมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันและพบว่าปริมาณโปรตีนนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้น ในขณะที่ปริมาณยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทุกสูตร จากการทดลองจึงสรุปได้ว่ากระบวนการหมักผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังด้วยราและยีสต์สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ได้ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ก่อนหมักต้องมีปริมาณแป้งมากพอสำหรับการผลิต reducing sugar โดยรา และยีสต์จะใช้ประโยชน์จากน้ำตาลเพื่อการเจริญของยีสต์ ทำให้มีปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังมีโปรตีนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม การเจริญของยีสต์นั้นต้องการทั้งแหล่งของคาร์บอนและแหล่งของไนโตรเจน ฉะนั้นการเติมยูเรียลงในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักสามารถเพิ่มโปรตีนได้มากขึ้น ถึงแม้จะยังมียูเรียเหลืออยู่เนื่องจากยีสต์ใช้ได้ไม่หมด

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นต่อการหมักย่อยภายในกระเพาะหมักโดยใช้โคเจาะกระเพาะลูกผสม (พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) จำนวนทั้งหมด 3 ตัว จัดการทดลองแบบ 3 x 3 Latin Squares ประกอบด้วย 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่ การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่า การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (กรดอะซีติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริค) และจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Cellulolytic Bacteria, Proteolytic Bacteria และ Protozoa) แต่ การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ระดับ pH สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ชั่วโมงที่ 3 หลังการกินอาหาร การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปริมาณ BUN สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ชั่วโมงที่ 6 หลังการกินอาหาร

Abstract

The present research studied on increasing protein in cassava products using microbes and the effect of fermented cassava products as a replacement for concentrate on fermentation in the rumen of fistulated cattle.

The first experiment aimed to determine the concentration of reducing sugar in the cassava products after incubating with *A. oryzae*. The experimental design was a 8 x 11 Factorial in CRD arrangement. Eight formula were then tested, (1) 100% cassava pulp (CSPu), (2) 100% cassava peel (CSPe), (3) 100% cassava chip (CSC), (4) 75% CSPu + 25% CSC, (5) 25% CSC + 75% CSPe, (6) 50% CSPu + 50% CSC, (7) 50% CSC + 50% CSPe and (8) 25% CSC + 37.5% CSPu + 37.5% CSPe (factor A) and were incubated at 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 days (factor B). The results showed that reducing sugar of all formulas at day 3 fermentation increased markedly, with formula 1 being the highest followed by formula 8 and 4, whereas formula 3 was the lowest. It can be concluded from the present study that the best fermentation period was 3 days and formula 1, 8 and 4 were the best for formulation.

Experiment 2 and 3 aimed to determine a suitable method of fermenting cassava products using fungi and yeasts. Experiment II was designed to determine the crude protein (CP) and urea contents of cassava products after incubating with *A. oryzae* and *Saccharomyces cereviseae* plus urea: small scale. The 4 x 6 Factorial in CRD arrangement was used with factor A, four formula (1) 100% CSPu, (2) 100% CSPe, (3) 75% CSPu + 25% CSC and (4) 37.5% CSPu + 25% CSC + 37.5% CSPe, selected from Experiment I, and factor B, urea addition levels; 0, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50 and 10.00% of DM. The results revealed that the highest CP content was observed in formula 4, followed by formula 1 while the lowest was found in formula 2 and 3. The CP content significantly increased with increasing levels of urea addition. Experiment III used 3 x 4 factorial in CRD, with factor A was formula 1 (100% CSPu), formula 2 (100% CSPe) and formula 3 (37.5% CSPu + 25% CSC + 37.5% CSPe) and factor B was 4 urea addition levels; 0, 4.0, 5.0 and 6.0% of DM. The results showed that CP content significantly increased with increasing level of urea addition. It can be concluded from these experiments that CP content can be enriched in cassava products through the fermentation process obtained from fungi and yeasts.

Experiment IV aimed to determine the effect of fermented cassava products as a replacement for concentrate in rumen fistulated cattle on rumen fermentation. Three Crossbred Holstein Friesian cows fitted with cannula were assigned to three treatments in a 3 x 3 Latin square. The treatments consisted of 0, 20 and 40% fermented cassava peel as a replacement for concentrate. The ammonia N, acetate, propionate, butyrate and acetate: propionate ratio, and microbes in ruminal fluids were unaffected by the treatments. However, replacement of 40% fermented cassava peel showed higher pH at 3 h post-feeding than the control while replacement of 20 and 40% fermented cassava peel at 6 h post-feeding showed higher BUN than the control.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

The first experiment aimed to determine the concentration of reducing sugar in the cassava products after incubating with *A. oryzae*. The experimental design was a 8 x 11 Factorial in CRD arrangement. Eight formula were then tested, (1) 100% cassava pulp (CSPu), (2) 100% cassava peel (CSPe), (3) 100% cassava chip (CSC), (4) 75% CSPu + 25% CSC, (5) 25% CSC + 75% CSPe, (6) 50% CSPu + 50% CSC, (7) 50% CSC + 50% CSPe and (8) 25% CSC + 37.5% CSPu + 37.5% CSPe (factor A) and were incubated at 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 days (factor B). The results showed that reducing sugar of all formulas at day 3 fermentation increased markedly, with formula 1 being the highest followed by formula 8 and 4, whereas formula 3 was the lowest. It can be concluded from the present study that the best fermentation period was 3 days and formula 1, 8 and 4 were the best for formulation.

Experiment 2 and 3 aimed to determine a suitable method of fermenting cassava products using fungi and yeasts. Experiment II was designed to determine the crude protein (CP) and urea contents of cassava products after incubating with *A. oryzae* and *Saccharomyces cereviseae* plus urea: small scale. The 4 x 6 Factorial in CRD arrangement was used with factor A, four formula (1) 100% CSPu, (2) 100% CSPe, (3) 75% CSPu + 25% CSC and (4) 37.5% CSPu + 25% CSC + 37.5% CSPe, selected from Experiment I, and factor B, urea addition levels; 0, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50 and 10.00% of DM. The results revealed that the highest CP content was observed in formula 4, followed by formula 1 while the lowest was found in formula 2 and 3. The CP content significantly increased with increasing levels of urea addition. Experiment III used 3 x 4 factorial in CRD, with factor A was formula 1 (100% CSPu), formula 2 (100% CSPe) and formula 3 (37.5% CSPu + 25% CSC + 37.5% CSPe) and factor B was 4 urea addition levels; 0, 4.0, 5.0 and 6.0% of DM. The results showed that CP content significantly increased with increasing level of urea addition. It can be concluded from these experiments that CP content can be enriched in cassava products through the fermentation process obtained from fungi and yeasts.

Experiment IV aimed to determine the effect of fermented cassava products as a replacement for concentrate in rumen fistulated cattle on rumen fermentation. Three Crossbred Holstein Friesian cows fitted with cannula were assigned to three treatments in a 3 x 3 Latin square. The treatments consisted of 0, 20 and 40% fermented cassava peel as a replacement for concentrate. The ammonia N, acetate, propionate, butyrate and acetate: propionate ratio, and microbes in ruminal fluids were unaffected by the treatments. However, replacement of 40% fermented cassava peel showed higher pH at 3 h post-feeding than the control while replacement of 20 and 40% fermented cassava peel at 6 h post-feeding showed higher BUN than the control.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) .....ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) .....ค
สารบัญ .....จ
สารบัญตาราง .....ซ
สารบัญภาพ .....ญ
บทที่
1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2
2.1 มันสำปะหลัง 2
2.2 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง 3
2.3 โปรตีนเซลล์เดียว หรือ single cell protein (SCP).....5
2.4 วิธีการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน 12
2.5 การเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง 14
3 ศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae*.....19
3.1 คำนำ 19
3.2 วัตถุประสงค์ 19
3.3 อุปกรณ์และวิธีการ 19
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 21
3.5 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง 21
3.6 สรุปผลการทดลอง 24
4 การศึกษาระดับ Crude protein และยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังโดยการใช้ *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Laboratory Scale).....25
4.1 คำนำ. 25
4.2 วัตถุประสงค์. 25
4.3 อุปกรณ์และวิธีการ 26
4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 26
4.5 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง 27
4.6 สรุปผลการทดลอง 30

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5 การศึกษาระดับ Crude protein และปริมาณยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Small Scale) **31**

5.1 คำนำ 31

5.2 วัตถุประสงค์ 31

5.3 อุปกรณ์และวิธีการ 32

5.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 32

5.5 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง 33

5.6 สรุปผลการทดลอง 34

6 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อนหมักและหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* 36

6.1 คำนำ 36

6.2 วัตถุประสงค์ 36

6.3 อุปกรณ์และวิธีการ 37

6.4 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง 38

6.5 สรุปผลการทดลอง 39

7 ผลการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก 40

7.1 คำนำ 40

7.2 วัตถุประสงค์ 40

7.3 อุปกรณ์และวิธีการ 40

7.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 42

7.5 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง 43

7.6 สรุปผลการทดลอง 59

เอกสารอ้างอิง 60

ประวัติผู้วิจัย 67

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง 2
2.2 แสดงปริมาณผลผลิตและการค้ามันสำปะหลัง 4
2.3 ส่วนประกอบทางโภชนาการของ SCP บางชนิด 6
2.4 องค์ประกอบเคมีของมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ 16
2.5 ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ต่อระบบนิเวศ ในกระเพาะหมัก 17
3.1 แสดงส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันในแต่ละสูตร 20
3.2 แสดงผล Reducing sugar ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1-8 และระยะเวลา ในการหมัก วันที่ 0-10 23
4.1 แสดงผลระดับ Crude protein ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2, 4 และ 8 ที่มีการเสริม Urea ที่ระดับ 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์.....27
4.2 แสดงผลระดับ Urea ที่เหลือ ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1 , 2, 4 และ 8 ที่มีการเสริม Urea ที่ระดับ 0, 1.25, 2.5, 5 , 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์.....28
5.1 แสดงผลระดับ Crude protein ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2 และ 8 และ การเสริม Urea ที่ 0, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์.....33
5.2 แสดงผลระดับ Urea ที่เหลือ ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2 และ 8 และการเสริม Urea ที่ 0 , 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์.....34
6.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อน และหลังการหมัก 38
7.1 การจัดกลุ่มทดลองโคเจาะกระเพาะ 41
7.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว(Mean ± SD) 45
7.3 คุณค่าทางพลังงานเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว 46
7.4 การย่อยสลายของวัตถุแห้งในกระเพาะหมัก 47
7.5 การย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก 47
7.6 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อการเปลี่ยนแปลง ของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) และยูเรีย ในกระแสเลือด (BUN) ภายในกระเพาะหมักที่เวลาต่าง ๆ หลังการให้อาหาร 51
7.7 ผลการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นต่อปริมาณการกินได้ 54
7.8 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อความเข้มข้นของ กรดไขมันระเหย 56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

7.9 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก 58

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการการผลิต single cell protein.....12

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันพบว่าการเลี้ยงโคในประเทศไทยประสบกับปัญหาต้นทุนการผลิตมีแนวโน้มสูงขึ้น เนื่องจากราคาน้ำมันยังคงสูงขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้วัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน ซึ่งจะเห็นได้จากต้นทุนการผลิตน้ำนมดิบโดยเฉลี่ยของปี 2553 (ม.ค. – มิ.ย.) เป็นกิโลกรัมละ 13.27 บาท เปรียบเทียบกับช่วงเวลาเดียวกันของปีก่อน พบว่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 3.46 ตามต้นทุนอาหารสัตว์ที่ปรับเพิ่มขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2553) ส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคต้องปรับตัวเพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยมุ่งเน้นที่การใช้วัตถุดิบที่มีปริมาณมากและราคาถูกในท้องถิ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกมากในพื้นที่ภาคตะวันออก เฉียงเหนือ และปัจจุบันมันสำปะหลังได้กลายมาเป็นส่วนประกอบหลักในอาหารโคแม้ว่ามันสำปะหลังมีโปรตีนต่ำ แต่ก็มีปริมาณแป้งสูง และความสามารถในการย่อยสลายในกระเพาะหมักมีอัตราสูง นอกจากนี้มันสำปะหลังยังมีอัตราการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักสูงกว่าข้าวโพด (พีรพจน์ และกฤตพล 2546) จึงได้มีการใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบสำคัญในการช่วยลดต้นทุนในด้านการผลิต อย่างไรก็ตาม แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง ได้แก่ แป้งมันสำปะหลังมันเส้น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลัง เป็นต้น จะให้พลังงานเพียงพอ แต่ยังมีคุณค่าทางโปรตีนต่ำ จึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ protein - enriched feedstuffsโดยทำได้หลายวิธี เช่น ตากให้แห้งโดยแสงแดด (Odukwe, 1994) โดยการอบ การใช้สารเคมี (Jackson, 1997) การแช่ในน้ำ การทำให้สุก (Okeke et. Al. 1985) การให้ความชื้น (Badbury, 2004) และวิธีการหมักโดยการเสริมจุลินทรีย์เป็นการเพิ่มศักยภาพทางด้านโภชนะของมันสำปะหลัง และผลพลอยได้จากมันสำปะหลังโดย Mikami et al. (1982) รายงานการศึกษาโดยใช้วิธีการ liquid substrate fermentation และใช้ acidophilic fungi 2 สายพันธุ์ คือ *Trichoderma harzianum* และ *Cephalosporium eichhorniae* ผลการศึกษาโดยใช้ submerged fermentations สามารถเพิ่มโปรตีนได้ถึง 37.6 เปอร์เซ็นต์ (dry matter basis) เปรียบเทียบ 2.4 เปอร์เซ็นต์ในมันสำปะหลังตากแห้งที่ไม่ได้หมักด้วยราดังนั้นจึงได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังโดยใช้กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ และศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการ หมักด้วยจุลินทรีย์ทดแทนอาหารข้น ต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก (rumen) เพื่อนำไปพัฒนาเป็นอาหารโคที่มีคุณค่าทางอาหารสูงแต่มีราคาต้นทุนต่ำ

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันพบว่าการผลิตโคในประเทศไทยประสบกับปัญหาต้นทุนการผลิตมีแนวโน้มสูงขึ้น เนื่องจากราคาน้ำมันยังคงสูงขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้วัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ ถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน ส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคต้องปรับตัวเพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยมุ่งเน้นที่การใช้วัตถุดิบที่มีมาก และราคาถูกในท้องถิ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกมากในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือแม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง มันเส้น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลัง จะให้พลังงานเพียงพอ แต่ยังมีคุณค่าทางอาหารต่ำ จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ protein-enriched feedstuffs เพื่อนำไปพัฒนาเป็นอาหารโคที่มีคุณค่าทางอาหารสูงแต่มีราคาต้นทุนต่ำ

2.1 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เก็บสะสมอาหารไว้ที่รากในรูปของแป้งความสามารถในการสร้างและสะสมแป้งที่รากจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับพันธุ์อายุการเก็บเกี่ยว ปริมาณน้ำฝน โดยทั่วไปหัวมันสำปะหลังที่มีอายุ 12 เดือนที่ได้รับปริมาณน้ำฝนเพียงพอและไม่มีฝนตกชุกขณะเก็บเกี่ยวจะมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
น้ำ	60.21 - 75.32
เปลือก	4.08 - 14.08
เนื้อ (แป้ง)	25.87 - 41.88
ไซยาไนด์ (ppm)	2.85 - 39.27

ที่มา : กล้าณรงค์ และคณะ (2542)

จากองค์ประกอบของหัวมันสด พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่นอกจากน้ำแล้วก็คือ แป้ง ดังนั้นมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานกับสัตว์ได้ดีอย่างไรก็ตามในหัวมันสดจะมีไซยาไนด์ (กรดไฮโดรไซยานิคอิสระ) ในปริมาณแตกต่างกันไป ตั้งแต่ 2.85 มิลลิกรัม ถึง 39.27

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของหัวมันสด ซึ่งกรดไฮโดรไซยานิคนี้เป็นอันตรายต่อสัตว์ แต่จะถูกทำลายเมื่อถูกความร้อน เช่น การตากแดด เผา ต้ม หรือความร้อนจากการอัดเม็ด ดังนั้นผลิตภัณฑ์มันเส้นหรือมันอัดเม็ดซึ่งผ่านการตากแดด และอัดเม็ดจึงปลอดภัยจากพิษของกรดไฮโดรไซยานิคเมื่อนำไปเลี้ยงสัตว์

2.2 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง

2.2.1 มันเส้น (cassava chip)

ในอดีตก่อนที่จะมีโรงงานผลิตแป้งมันนั้นมันเส้นเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากมันสำปะหลัง โดยที่ประเทศไทยส่งมันเส้นที่ผลิตได้กว่า 90 เปอร์เซ็นต์ไปขายเพื่อเป็นอาหารสัตว์ในต่างประเทศ การที่จะได้มันเส้นที่ดีนั้นต้องเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังในฤดูแล้ง และเมื่อขุดหัวมันสำปะหลังแล้วต้องตัดหัวแต่ละหัวแยกออกจากเหง้าหรือส่วนโคนออกอย่าให้เหลือ เพราะจะทำให้ย่อยยาก จากนั้นทำความสะอาดหัวมันสำปะหลังโดยการเคาะดินที่ติดมาให้หมด ซึ่งสามารถเอาเปลือกนอกของหัวมันออกได้ จากนั้นสับหัวมันขนาดชิ้นพอเหมาะ การสับนี้สามารถสับด้วยมือหรือเครื่องจักรก็ได้ แล้วตากให้แห้งซึ่งจะต้องแห้งสนิทจึงจะสามารถนำมันสำปะหลังที่ตากแห้งแล้วนั้นเข้าเครื่องบดหรือเครื่องผสมอาหาร โดยพบว่ามีความนิยมใช้มันเส้นเป็นแหล่งพลังงานในสูตรอาหารโค เนื่องจากมันเส้น หรือมันสำปะหลังมีคาร์โบไฮเดรตสูงเป็นแหล่งพลังงานที่ดีของโค และมีราคาต่ำ การใช้มันสำปะหลังในการเลี้ยงสัตว์เพื่อลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง อาหารโคเนื้อและโคนมใช้ได้ 35-50 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (ศูนย์ข้อมูลการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์, 2550) แม้มันเส้นจะมีโปรตีนน้อยแต่มันเส้นก็มีปลอดภัย จากสารพิษอะฟลาทอกซิน ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพและการให้ผลผลิตของสัตว์

2.2.2 กากมันสำปะหลัง (Cassava pulp)

กากมันสำปะหลังเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ถ้าใช้หัวมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้กากมันสำปะหลัง 7 เปอร์เซ็นต์ และ จากรายงานของสถิติการเกษตรปี 2555 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่ามีปริมาณผลผลิตของหัวมันสำปะหลังสดในปี 2555 มีปริมาณ 26.6 ล้านตัน/ปี ดังนั้นจะมีกากมันสำปะหลังจากกระบวนการผลิตปริมาณประมาณ 1.9 ล้านตัน/ปี กากมันสำปะหลังเป็นส่วนที่เหลือจากการสกัดแป้งออก แต่ยังคงมีส่วนที่เป็นแป้งเหลืออยู่ประมาณ 64.6 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง มีโปรตีนประมาณ 1.8 เปอร์เซ็นต์เยื่อใย 5.0 เปอร์เซ็นต์ไขมัน 0.2 เปอร์เซ็นต์และสัตว์สามารถย่อย และใช้ประโยชน์ได้ถึง 74 เปอร์เซ็นต์ (สมเจต, 2530) จากรายงานของ ชวนิศนดากร (2500) รายงานว่า กากมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารสุกร พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตดี แต่ถ้าใช้ในสูตรอาหารสูงกว่า 40 เปอร์เซ็นต์จะทำให้อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวลดลง

2.2.3 เปลือกมันสำปะหลัง (Cassava peel)

เปลือกมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการเกษตร (Agro industrial by – products) ที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งมีกระบวนการผลิตเริ่มตั้งแต่การนำหัวมันสดเข้าเครื่องชั่งน้ำหนัก วัดเปอร์เซ็นต์ของแป้งที่มีในหัวมัน การทำความสะอาดและจัดเตรียมหัวมัน นำหัวมันสดเข้าสู่เครื่องร่อนเพื่อแยกเอาดินออก จากนั้นลำเลียงเข้าสู่เครื่องล้างเพื่อทำความสะอาดหัวมันอีกครั้ง แล้วจึงนำเข้าสู่เครื่องสับและขูดเปลือก เพื่อให้หัวมันมีขนาดเล็กลงและแยกเอาเปลือกออกแล้วเข้าสู่เครื่องบด ส่วนที่ขูดเปลือกออกคือ ส่วนที่ห่อหุ้มหัวมันสำปะหลัง มีสีน้ำตาล มีความหนาประมาณ 1-2 mm. เป็นผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม ในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ถ้าใช้หัวมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้เปลือกมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์และ จากรายงานของสถิติการเกษตรปี 2555 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่ามีปริมาณผลผลิตของหัวมันสำปะหลังสดในปี 2555 มีปริมาณ 26.6 ล้านตัน/ปี ดังนั้นจะมีเปลือกมันสำปะหลังจากกระบวนการผลิตปริมาณประมาณ 798,000 ตัน/ปี เปลือกมันสำปะหลังเมื่อผ่านกระบวนการผลิตแป้งมันจากโรงงานยังคงมีแป้งอยู่ประมาณ 62.5-71.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง พลังงานรวม (GE) 1.65–2.96 MJ/kg พลังงานย่อยได้ (DE) 1.03 MJ/kg ซึ่งถือว่ามีปริมาณมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารโคได้

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณผลผลิตและการค้ามันสำปะหลัง

รายการ	ปี		
	2553	2554	2555
เนื้อที่เก็บเกี่ยว(ล้านไร่)	7.4	7.1	7.9
ผลผลิต(ล้านตัน)	22.0	21.9	26.6
ส่งออก			
มันเส้น ปริมาณ(ล้านตัน)	4.1	3.7	4.6
มูลค่า(ล้านบาท)	25,192	29,252	33,239
มันอัดเม็ด ปริมาณ(ตัน)	156,069	36,694	84,215
มูลค่า(ล้านบาท)	785	283	577
แป้งมัน ปริมาณ(ล้านตัน)	1.7	2.3	2.2
มูลค่า(ล้านบาท)	24,552	28,238	30,796

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร (2556)

2.3 โปรตีนเซลล์เดียว หรือ single cell protein (SCP)

single cell protein หรือ โปรตีนเซลล์เดียว ถูกบัญญัติขึ้นโดยศาสตราจารย์ Wilson ในปี ค.ศ. 1966 คือโปรตีนจากจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ สาหร่าย บางชนิด ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เดียว (unicellular cell) แต่ SCP รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีหลายเซลล์ (multicellular cell) ได้แก่ สาหร่าย และราSCP ในอาหารสัตว์ได้รับความสนใจศึกษาอย่างกว้างขวางในช่วงคริสต์ทศวรรษที่ 1960–1970 แต่มาในช่วงหลังความสนใจศึกษาค้นคว้าได้ลดลงมาระดับหนึ่ง เนื่องจากไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ และเทคโนโลยีในการสังเคราะห์กรดอะมิโนก้าวหน้ามากขึ้น ทำให้ช่วยประหยัดโปรตีนจากแหล่งธรรมชาติได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามแนวโน้มการเพิ่มความต้องการของโปรตีนสำหรับมนุษย์และสัตว์เลี้ยงยังมีอยู่เรื่อย ๆ ในอนาคตจึงอาจต้องหันกลับมาใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารเพิ่มขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ดังนั้นนักโภชนศาสตร์สัตว์จึงควรมีความรู้พื้นฐานของการใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอาหารสัตว์ไว้สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมมีดังนี้ ดุษณี (2538)

1. เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูกซึ่งเป็นวัตถุดิบที่หาได้ในท้องถิ่นนั้น ๆ
2. เจริญได้ดีในอาหารที่มีองค์ประกอบไม่ซับซ้อน มีความต้องการวิตามินและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญต่าง ๆ น้อยหรือไม่ต้องการเลยและให้ผลผลิตสูง
3. เมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานานจะคงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี ไม่กลายพันธุ์
4. การแยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ทำได้ง่าย
5. มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น ๆ และใช้กระบวนการหมักง่าย ๆ ในการเจริญในถังหมัก
6. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยาและสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้
7. ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
8. หลังจากผ่านกระบวนการเลี้ยงแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
9. ไม่เป็นพิษและเกิดอาการภูมิแพ้ ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว รวมทั้งปลอดภัยต่อการบริโภค
10. ให้ปริมาณโปรตีนสูง โดยเฉพาะโปรตีนจะต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า

สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่คุณสมบัติเข้าข่ายที่จะใช้ในการผลิต SCP มีสาหร่าย ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ตารางที่2.3 แสดงส่วนประกอบทางโภชนาการหลัก ๆ ของ SCP บางชนิด จะเห็นได้ว่า SCP โดยรวมมีโปรตีนหยาบสูงกว่ากากถั่วเหลือง คือ รา ยีสต์ และสาหร่าย มีโปรตีนอยู่ระหว่าง 53–56 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ SCP จากแบคทีเรียมีโปรตีนอยู่ 74 เปอร์เซ็นต์มีไขมันอยู่ในช่วง 1–5 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยใกล้เคียงกับกากถั่วเหลือง มีแคลเซียมต่ำ และฟอสฟอรัสสูงกว่ากากถั่วเหลือง คุณภาพของโปรตีน การย่อยได้และสมดุลกรดอมิโนของ SCP ผันแปรไปอย่างกว้างขวางกับชนิดของจุลินทรีย์ และแม้แต่ในจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันคุณค่าของโปรตีนก็ยังผันแปรไปกับทั้งสกุล (genus) และชนิด (species) อีกด้วย

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบทางโภชนาการของ SCP บางชนิด

ส่วนประกอบ / ชื่อการค้า	ชนิดของ SCP				กากถั่วเหลือง
	สาหร่าย Scenedesmussp.	รา “Pekilo”	ยีสต์ “Liquipron”	แบคทีเรีย “Pruteen”	
ส่วนประกอบประมาณ, เปอร์เซ็นต์ ของสิ่งแห้ง					
โปรตีน	54.8	55.9	53.5	74.0	43.8
ไขมัน	4.7	1.1	2.4	2.62	1.5
เยื่อใย	7.0	8.8	3.2	0.38	8.0
เถ้า	n.a.	5.6	11.6	11.2	-
แร่ธาตุ, เปอร์เซ็นต์ ของสิ่งแห้ง					
แคลเซียม	1.93	0.07	0.03	0.04	0.32
ฟอสฟอรัส	2.22	0.20	2.92	2.62	0.65
กรดอมิโน, เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน					
ไลซีน	4.08	5.85	4.47	4.81	6.46
เมทไธโอนีน	1.23	1.48	0.86	1.85	1.39
ซิสไตน์	0.30	0.84	0.73	0.59	1.60
ทรีโอนีน	2.70	4.60	3.00	3.18	3.95
ทริบโตเฟน	-	1.31	0.85	0.67	1.39

ที่มา : Waterworth (1990)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3.1 สาหร่าย (algae)

สาหร่ายเป็นชื่อเรียกสิ่งมีชีวิตหลายชนิดในอาณาจักรโครมาลวีโอลาตาเอกซ์คาวาตาไรซาเรียมีลักษณะคล้ายพืชแต่ไม่มีส่วนที่เป็นรากลำต้นและใบที่แท้จริง มีขนาดตั้งแต่เล็กมากมีเซลล์เดียวไปจนถึงขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจเป็นเส้นสายหรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูงก็มีการแบ่งพวกสาหร่ายแบ่งตามรูปร่างลักษณะภายนอกหรือดูตามสี จึงมีสาหร่ายสีเขียว เขียวแกมน้ำเงิน น้ำตาล และสีแดง สาหร่ายเซลล์เดียวสืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์ สาหร่ายหลายเซลล์สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ หรือสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศแหล่งที่อยู่ของสาหร่ายมีต่าง ๆ กันส่วนใหญ่อยู่ในน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายพบว่าไม่สูงมากนัก คาร์โบไฮเดรต ที่มีอยู่จัดว่าย่อยได้ยากในมนุษย์ มีโปรตีนน้อยแต่สิ่งที่ได้จากสาหร่าย คือ แร่ธาตุและวิตามินหลายชนิด นอกจากเป็นอาหารมนุษย์ เช่น สาหร่ายอบกรอบ ในปัจจุบันนำมาประกอบเป็นอาหารสัตว์ ผลิตปุ๋ย และยา

ในทางทฤษฎีสาหร่ายอาจเพาะเลี้ยงโดยเกือบจะไม่ต้องเติม substrate ประเภทคาร์บอนเพิ่มเติมจากที่ได้รับในแหล่งน้ำเลย สาหร่ายมีศักยภาพในการผลิตโปรตีนต่อหน่วยพื้นที่ได้สูงกว่าถั่วเหลืองถึง 10 เท่า แต่ความลำบากในการเก็บเกี่ยวเป็นอุปสรรคสำคัญในการผลิต SCP เพื่อใช้ในเชิงการค้า สาหร่ายที่ได้รับการสนใจศึกษาในแง่การผลิต SCP มีสาหร่ายสีเขียว (green algae) เช่น *Scenedesmus acutus* และ *Chlorella pyrendinosa* เป็นต้น และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Arthrospira platensis* และ *Spirulina maxima* โดยใช้น้ำเสียจากคอกสัตว์หรือจากการผลิตก๊าซมีเทน (biogas) และน้ำเสียอื่นเป็นแหล่งธาตุอาหาร

สาหร่ายสีเขียวมีรสขมและมีความน่ากินต่ำ และมีผนังเซลล์ที่ทนทานต่อการย่อยของเอนไซม์ของสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง จึงมีโปรตีนที่ย่อยได้ต่ำ คือ 66-72 เปอร์เซ็นต์ ในสุกรมีคุณค่าทางชีวะ (BV) ต่ำ และมีพลังงานที่ย่อยได้ 1.57 Mcal DE/กก. การนึ่งภายใต้ความดันหรือใช้เอนไซม์ช่วยย่อยก่อนอาจเพิ่มอัตราการย่อยได้ และคุณค่าทางชีวะขึ้นมาได้เล็กน้อย ดังนั้นระบบการใช้ SCP จากสาหร่ายสีเขียวในสุกรจึงจำกัดไว้ที่ระดับไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสุกรรุ่น-ขุน (Pond and Maner,1984) ส่วนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมี NPN กลุ่มกรดนิวคลีอิกอยู่ประมาณ 9.9 เปอร์เซ็นต์ จากโปรตีนหยาบ 50-61 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวย่อยได้ประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ และมีคุณค่าทางชีวะ 68 เปอร์เซ็นต์ (Pond and Maner, 1984) เมื่อนำไปเลี้ยงสัตว์ในระดับ 10-15 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารไม่ปรากฏความผิดปกติหรือผลเสียหายในเลือดหรือเนื้อเยื่อ สาหร่ายกลุ่มนี้มีโลหะหนักตกค้างอยู่ค่อนข้างสูง แต่ไม่ปรากฏผลโลหะหนักเหล่านี้ในเนื้อเยื่อของสัตว์ที่กินอาหารที่มีสาหร่ายอยู่ ยกเว้นระดับของอาร์เซนิค (As) ในตับไก่ที่เพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มกินสาหร่าย

2.3.2 รา (fungi)

ราเป็นจุลินทรีย์ เป็นเซลล์ยูแคริโอตที่อยู่ในอาณาจักรเห็ดรา มีโครโมโซมเพียงชุดเดียวมีผนังเซลล์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยไคตินไม่มีคลอโรฟิลล์ ดำรงชีพแบบ saprophyte คือ หลั่งเอนไซม์ออกนอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และซับซ้อนให้ได้เป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุดแล้วจึงดูดซับเข้าไปภายในเซลล์ เชื้อรามีความหลากหลายมาก พบทั้งที่สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ เส้นใย (hypha) และ ดอกเห็ด (mushroom) เส้นใยเมื่อรวมกลุ่มจำนวนมาก เรียกว่า mycelium เส้นใยแบ่งได้ 2 ลักษณะ คือเส้นใยแบบมีผนังกั้น (septate hypha) สามารถเห็นนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม เป็นช่องๆได้อย่างชัดเจน และเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้น (nonseptate hypha หรือ coenocytic hypha) นิวเคลียส และไซโตพลาสซึมจะอยู่กันอย่างกระจัดกระจาย

ราส่วนใหญ่มีการดำรงชีพทั้งที่เป็นอิสระหรือ saprophyte และก่อให้เกิดโรคกับพืชและสัตว์ ราแบ่งตามแหล่งกำเนิด อาจมีทั้งที่เป็นราบกพบทั่วไปในดิน (terrestrial fungi) ราน้ำ (aquatic fungi) ทั้งราน้ำจืด (fresh water fungi) และราน้ำเค็ม (marine fungi) ราที่เจริญอยู่ตามแหล่งธรรมชาติเหล่านี้มีหลายชนิดที่สามารถนำมาเลี้ยงให้เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและมีคุณสมบัติเป็นโปรตีน SCP ได้

SCP จากราที่ผลิตในเชิงการค้าผลิตขึ้นครั้งแรกในประเทศฟินแลนด์ โดยเพาะเลี้ยงรา *Parcilomyces variottii* ในอุตสาหกรรมกรรมการผลิตเยื่อกระดาษ SCP ที่ได้เรียกว่า Pekilo protein ซึ่งมีสีครีม ไม่มีกลิ่น-รส มีความน่ากินสูง และสามารถใช้ในอาหารสุกรได้ในระดับสูง ส่วนประกอบทางโภชนาการของ Pekilo protein แสดงไว้ในตารางที่ 2.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีโปรตีนสูง และมีโปรตีนที่ย่อยได้ประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์สมดุลกรดอมิโนคล้ายคลึงกับกากถั่วเหลืองมากแต่อาจมีซิสไตน์ต่ำกว่าเล็กน้อย (Pond and Maner, 1984) จากการทดสอบใช้เลี้ยงลูกสุกรหย่านมก่อนกำหนด สุกรเล็ก สุกรรุ่น-ขุน พบว่า Pekilo protein สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว ในอาหารสุกรที่ทดสอบทุกช่วงอายุ (Pond and Maner, 1984) สำหรับสุกรพ่อแม่พันธุ์แม้ไม่มีข้อมูลจากงานทดลอง Pond and Maner (1984) ระบุว่าสามารถใช้ Pekilo protein เป็นแหล่งโปรตีนหลักได้โดยไม่มีผลเสียหายต่อสมรรถนะการผลิต

2.3.3 ยีสต์ (yeast)

ยีสต์คือรากลุ่มหนึ่งที่ส่วนใหญ่เป็นเซลล์เดี่ยว มีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลม รี สามเหลี่ยม เป็นต้น ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยวิธีการแตกหน่อ พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน ในน้ำ ในส่วนต่าง ๆ ของพืช บางชนิดพบอยู่กับแมลง และในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แต่แหล่งที่พบยีสต์อยู่บ่อย ๆ คือแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ที่มีรสหวานยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณถึงกับมีผู้กล่าวว่า ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ รายงานแรกเกี่ยวกับการใช้ยีสต์ คือการผลิตเบียร์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Heineken เมื่อประมาณ 6,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช คนไทยรู้จักใช้ประโยชน์จากยีสต์มาเป็นเวลานาน เช่นในการทำอาหารหมักบางชนิด ได้แก่ ข้าวหมาก อุ สาโท และกระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การผลิตเอทิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นพลังงาน การทำขนมปัง และเป็นโปรตีนเซลล์เดียว

ยีสต์ตระกูล Saccharomyces เป็นยีสต์ที่รู้จักกันมานานในอุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ ขนมปัง และใช้เป็นอาหารสัตว์ ในระยะหลังได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงยีสต์ตระกูลอื่น ๆ เช่น *Candida lipolytica, C. boidinii* และ *Pichia agonobii* โดยใช้ไฮโดรคาร์บอนจากอุตสาหกรรมปิโตรเลียมผสมกับไนโตรเจน เช่น จากแอมโมเนีย และแร่ธาตุที่จำเป็น ตลอดจนเพาะเลี้ยง *Candida utilis* จากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ SCP จากยีสต์ที่ผลิตโดยวิธีการต่าง ๆ อาจมีคุณค่าใน

การให้โปรตีนต่างกันบ้าง แต่ลักษณะเด่นที่เหมือนกันคือ SCP จากยีสต์ขาดเมทไธโอนีน และซิสไตน์

การศึกษาการใช้ SCP จากยีสต์ในอาหารสุกรให้ผลค่อนข้างแปรปรวนขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ที่ทดสอบและแหล่งอาหารของยีสต์นั้น ๆ (Pond and Maner,1984) พบว่า ยีสต์ที่เพาะเลี้ยงใน n-paraffin สามารถใช้ได้ที่ระดับ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารสำหรับสุกรขนาด 9-155 กิโลกรัม โดยไม่เกิดผลเสียหายต่อสมรรถนะการผลิต ในขณะที่ (Beck and Handwerker, 1974 และ Frydrych, et al., 1983) รายงานว่ายีสต์ที่เลี้ยงในไฮโดรคาร์บอนหรือ methanol หรือ sulphite liquor ในระดับ 6-6.1 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารสุกรรุ่น ทำให้สมรรถนะการเติบโตด้อยกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีโปรตีนจากพืชผสมกับจากสัตว์เป็นหลัก แต่ข้อด้อยดังกล่าวสามารถปรับปรุงให้ดีเท่าเทียมกับกลุ่มควบคุมได้โดยการเสริมไลซีน เมทไธโอนีน และไอโซลูซีน ลงในอาหาร SCP จากยีสต์

2.3.4 แบคทีเรีย (bacteria)

แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทหนึ่ง มีขนาดเล็ก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียวและมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมาก และโดยทั่วไปแบคทีเรียแบ่งได้หลายรูปแบบ

- แบ่งตามรูปร่าง แบ่งได้หลายแบบทั้งกลม (cocci) แบบท่อน (bacilli, rod) แบบเกลียว (spiral) ซึ่งแต่ละแบบก็จะมีการจัดเรียงเซลล์ต่างกัน
- แบ่งตามการย้อมติดสีแกรม (Gram's stain) มีได้สองลักษณะคือพวกที่ติดสีแกรมบวก (Gram positive) และที่ติดสีแกรมลบ (Gram negative) แต่บางชนิดสามารถติดสีทั้งสองเรียกว่า Gram variable ซึ่งเกี่ยวข้องกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย
- แบ่งตามความต้องการใช้อ๊อกซิเจน ซึ่งมีหลายแบบคือ aerobic bacteria, anaerobic bacteria, facultativeaerobic bacteria, microaerofilic bacteria เป็นต้น
- แบ่งกลุ่มแบคทีเรียตามแหล่งอาหารและพลังงานได้เป็น
    1) ออโตโทรป (autothroph) แหล่งคาร์บอนสำหรับสร้างสารอินทรีย์มาจาก CO_2 ได้แก่แบคทีเรียที่สังเคราะห์ด้วยแสงได้
    2) เฮเทอโรโทรป (heterothroph) แหล่งคาร์บอนมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่แบคทีเรียที่ดูดซับสารอาหารเป็นแหล่งพลังงานทั่วไป
    3) โฟโตโทรป (photothroph) ได้พลังงานเริ่มต้นจากแสง
    4) คีโมโทรป (chemothroph) ได้พลังงานเริ่มต้นจากสารเคมี

แบคทีเรียบางชนิดอยู่รอดในสภาพที่เลวร้ายหรือไม่เหมาะสมต่อการเจริญได้โดยการสร้างเอ็นโดสปอร์ (endospore) เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสม เอ็นโดสปอร์จะดูดซับน้ำและเจริญเป็นแบคทีเรียใหม่ เอ็นโดสปอร์ทำลายยาก บางชนิดอยู่ได้ถึง 100 ปี SCP จากแบคทีเรียมีโปรตีนสูงที่สุด

ในจำนวน SCP ทั้งหลาย รวบรวมอยู่ในตารางที่ 2.3 บริษัท Imperial Chemical Industry (ICI) ของประเทศอังกฤษผลิต SCP ในเชิงการค้าว่า Pruteen โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Methylophilus methylotrophus* ในอาหารที่มีเมทธานอล และไนโตรเจนจากแอมโมเนีย Pruteen ที่ได้มีโปรตีนหยาบ 72-79 เปอร์เซ็นต์ ในจำนวนนี้จะเป็นกรดนิวคลีอิคอยู่ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนและพลังงานใน Pruteen มีระดับการย่อยได้สูง คือ 90-95 เปอร์เซ็นต์ และ 80-95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กรดอมิโนที่จำเป็นมีอยู่สูง โดยเฉพาะ ไลซีน ทรีโอนีน ทริบโตเฟน และกรดอมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบ อัตราการใช้ประโยชน์ได้ของไลซีนและทรีโอนีน สูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์ และเมทไธโอนีน 97 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของฟอสโฟลิพิดส์ กรดนิวคลีอิค และกรดฟอสฟอริคสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์แคลเซียมและเกลือมีอยู่ในระดับต่ำPruteen จึงเหมาะสมที่จะใช้ในการปรับสมดุลของแร่ธาตุในอาหารเป็นอันมาก ส่วนวิตามินเกือบทุกชนิดมีน้อยยกเว้นไบโอติน 2.9 มก./กก. ซึ่งอุดมสมบูรณ์ที่สุดในจำนวนแหล่งไบโอตินธรรมชาติทั้งหลาย (Waterworth, 1990) จากการสำรวจรายงานการวิจัยการใช้ Pruteen ในอาหารสุกร Waterworth (1990) กล่าวว่า SCP จากแบคทีเรียชนิดนี้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง สามารถใช้แทนผลิตภัณฑ์นม ในอาหารสุกรอ่อนและสุกรหย่านมได้ทั้งหมด

2.3.5 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ได้แบ่งวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ไฮโดรคาร์บอนและคาร์โบไฮเดรต (Gaden, 1974)

1. ไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีอยู่ทั้งในสภาพของเหลว เช่น เมธานอล เอธานอล พาราฟิน และไฮโดรคาร์บอนในสภาพแก๊ส เช่น มีเธน บิวเทน โพรเพน อีเทน เป็นต้น จุดเริ่มต้นที่สนใจใช้สารประเภทนี้เป็นวัตถุดิบเริ่มโดยบริษัท British Pretrolium (BP), Kaneegafuchi Chemical Industry Company Ltd., Dainippon Ink, Chemical Company Ltd. ต่างก็สนใจที่จะใช้สารประกอบn-alkane ของปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบเพราะมีปริมาณมาก ราคาถูก และมีความบริสุทธิ์สูง แต่ช่วงนั้นอยู่ในวิกฤตการณ์น้ำมัน จึงทำให้ความสนใจในการนำสารพวกนี้มาใช้เป็นวัตถุดิบเปลี่ยนไป

2. คาร์โบไฮเดรตได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลสรวมถึงของเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมซึ่งได้จากแหล่งต่าง ๆ เช่น

1) กากน้ำตาล (molass)

2) น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ (Spent sulfite waste liquor)

3) น้ำทิ้งจากโรงงงานมันฝรั่ง (Potato waste water)

4) น้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเนย (whey)

5) น้ำตาลโมเลกุลใหญ่แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือแป้งและเซลลูโลสโดยวัตถุดิบพวกนี้ต้องผ่านกระบวนการทางเคมีหรือเอนไซม์เพื่อย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนหลังจากนั้นจึงนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์

6) เมล็ดธัญพืชจะมีแป้งเป็นส่วนใหญ่โปรตีนมีเล็กน้อยและมักขาดกรดอะโมโนที่จำเป็น เช่น ข้าวสาลีขาดไลซีนและทริปโตเฟนพืชตระกูลถั่วขาดเมทไทโอนีนไลซีนทริปโตเฟน ดังนั้นการนำมาเป็นวัตถุดิบผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจึงเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร

7) มันสำปะหลัง มีแป้งเป็นส่วนใหญ่ มีโปรตีนเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ในหัวมันสำปะหลัง มีราคาถูก หาง่าย มีทุกฤดูกาล

8) เซลลูโลสเป็นสารอินทรีย์ที่เป็นสารประกอบของพืชทุกชนิด ประมาณว่ามีของเหลือใช้จากการเกษตรสูงถึง 200 ล้านตันต่อปี และขยะจากที่อยู่อาศัยพบว่า 40-50 เปอร์เซ็นต์ของขยะเป็นเซลลูโลส

2.3.6 แนวโน้มการใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอนาคต

โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง และสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลานาน การใช้ประโยชน์หลักของโปรตีนเซลล์เดียว คือเป็นอาหารสัตว์ โดยจะเป็นการทดแทนการใช้วัตถุดิบ ที่มีโปรตีนสูง เช่น อาหารถั่วเหลือง หรืออาหารปลาป่น การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวค่อนข้างเสียค่าใช้จ่ายสูง กระบวนการผลิตส่วนใหญ่ต้องกระทำภายในสภาวะปราศจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ อุปกรณ์ที่ใช้นอกเหนือจากการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารสัตว์แล้ว การใช้โปรตีนเซลล์เดียวเพื่อเป็นอาหารของมนุษย์ก็มีแนวโน้มที่ดี เช่น *Spirulina, candida utilis, Kluyveromyces fragilis, Saccharomyces carisbergensis, S.cerevisiae* และ *Fusarium graminearum* สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญในอนาคต นอกจากนี้สารที่ได้จากการย่อยสลายของเซลล์เหล่านี้ก็ยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารต่าง ๆ ได้ด้วย การที่โปรตีนเซลล์เดียวจะมีบทบาทสำคัญในวงการอาหารหรือไม่ขึ้นอยู่กับการพัฒนากระบวนการผลิตให้ดีขึ้น โดยอาศัยวิศวกรรรมเคมีมาใช้ในการพัฒนากระบวนการหมักทางอุตสาหกรรม การลดต้นทุนการผลิต และการพัฒนาคุณภาพของโปรตีน เซลล์เดียวโดยการปรับปรุงสายเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโดยวิธีพันธุวิศวกรรมหรือวิธีเอ็นเอเทคโนโลยี ตัวอย่างเช่น การปรับปรุงรหัสพันธุกรรมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพขิงเอนไซม์นิวคลีเอส (nuclease) ในการลดปริมาณกรดนิวคลีอิกในเซลล์ หรือการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เซลล์ผลิตกรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้น เป็นต้น ซึ่งในอนาคตอันใกล้นี้เป็นที่คาดกันว่า ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าสูงที่ได้จากโปรตีนจุลินทรีย์ จะมีการนำมาใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น (ดุษณี, 2538)

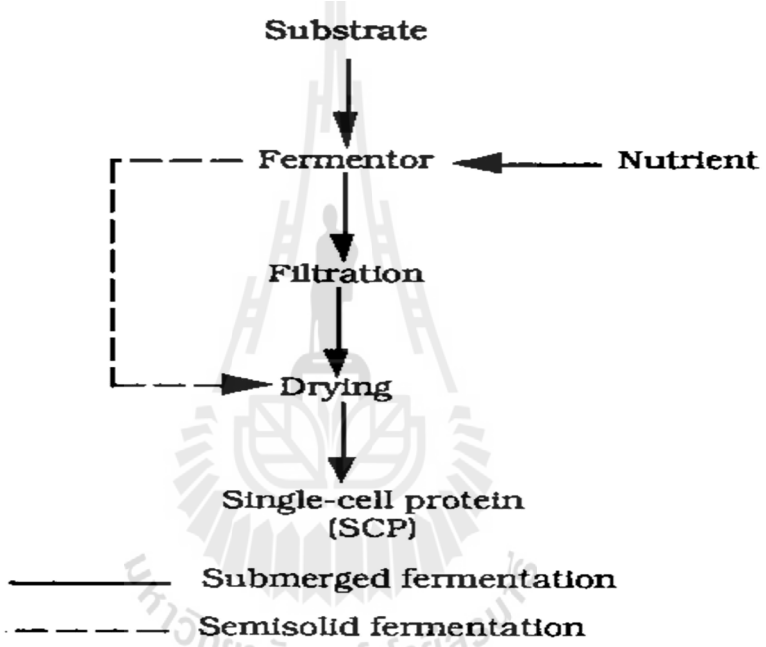
2.3.7 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว

ปัญหาของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวอยู่ตรงที่ความปลอดภัย คุณค่าทางอาหารและการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากว่าอาหารที่ทำจากโปรตีนเซลล์เดียวนั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เคยปรากฏว่ามีการใช้หรือการยอมรับในรูปของอาหารมาก่อน ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารมนุษย์ก็ตาม ควรมีการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าไม่เป็นพิษหรือเป็นอันตรายต่อการบริโภค ซึ่งในการบริโภคสำหรับมนุษย์นั้น ปริมาณกรดนิวคลีอิกที่มีอยู่ในโปรตีนเซลล์เดียวมากกว่าการใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่าโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิต

ได้จากเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เจริญในกากน้ำตาล *S. uvarum* ที่เลี้ยงใน beer wort, *Candida utilis* ที่เจริญในกากน้ำตาลหรือน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษ และ *Kluyveromyces* ที่เลี้ยงในหางนม เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่ปลอดภัยต่อการบริโภคสำหรับมนุษย์และสัตว์

2.4 วิธีการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน

วิธีการหมักมันสำปะหลังและผลพลอยได้จากมันสำปะหลังที่นิยมมีอยู่ 2 วิธี คือ liquid substrate หรือ submerged fermentation technique และ solid substrate fermentation technique



ภาพที่ 2.1 กระบวนการการผลิต single cell protein
ที่มา : Waterworth (1990)

2.4.1 การหมักแบบ Liquid substrate fermentation technique

ซึ่ง Balagopalan et al. (2002) อธิบายว่า submerged fermentation technique เป็นวิธีการหนึ่งที่ น้ำจะอยู่ในสถานะอิสระตลอดเวลา ในขณะที่อาหารจะอยู่ในรูปคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอื่น ๆ และอยู่ในสถานะแขวนลอย หรือละลาย กระบวนการหมักจะสมบูรณ์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งได้แก่ สภาวะที่ปลอดเชื้อเมื่อเสริมจุลินทรีย์ และจะคุ้มทุนเมื่อทำในระดับอุตสาหกรรม นอกจากความต้องการสภาวะปลอดเชื้อเมื่อดำเนินการหมักแบบ submerged fermentation จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ หรือกรดเสริมในแป้งเมื่อใช้ยีสต์เป็น microbial inoculums นอกจากนี้ยังต้องใช้การ centrifugation/ultra-filtration ก่อนการแยกเก็บเซลล์ยีสต์ (Balagopalan et al., 2002) รายงานการใช้วิธีการ submerged fermentation ในการหมักมันสำปะหลังในประเทศ

คานาดา โดยการใช้อุณหภูมิสูงร่วมกับราที่ทนความร้อน เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนมันสำปะหลังเป็นอาหารหมักโปรตีนสูง Mikami et al. (1982) รายงานการศึกษาโดยใช้วิธีการ liquid substrate fermentation และใช้ acidophilic fungi 2 สายพันธุ์ คือ *Trichoderma harzianum* และ *Cephalosporium eichhorniae* ผลการศึกษาโดยใช้ submerged fermentations สามารถเพิ่มโปรตีนได้ถึง 37.6 เปอร์เซ็นต์ (dry matter basis) เปรียบเทียบ 2.4 เปอร์เซ็นต์ในมันสำปะหลังตากแห้งที่ไม่ได้หมักด้วยรา

2.4.2 การหมักแบบ Solid substrate fermentation technique

วิธีการ Solid substrate fermentation (SSF) คือ bio-system ที่ประกอบด้วย solid, porous, waterabsorbing matrix ซึ่งสามารถย่อยสลาย หรือไม่ย่อยสลาย อาศัยน้ำทำปฏิกิริยากับ solid/gas interface ในส่วนผสมของอากาศที่มีออกซิเจนกับแก๊สอื่น ๆ ไหลเวียนอย่างอิสระภายใต้สภาวะความดันต่ำภายใน fermenting substrate/mash (Raimbault, 1998) นอกจากนี้ solid/gas interface ต้องมีสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็วรา ยีสต์ หรือแบคทีเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ หรืออาหารเลี้ยงเชื้อผสม ในขณะเดียวกัน solid matrix ต้องมีการเคลื่อนไหวเบา ๆ และต้องไม่ปนเปื้อนสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และต้องมีคุณสมบัติดูดซับโภชนะต่าง ๆ เช่น คาร์โบไฮเดรท โปรตีน และแร่ธาตุ (Raimbault, 1998) วิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย และเป็นวิธีที่ประหยัดต้นทุนในการผลิตเนื่องจากเซลล์ของจุลินทรีย์ จะติดอยู่กับ Substrate ซึ่งไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกรอง หรือปั่นเหวี่ยง เพื่อคัดแยกเอาเซลล์ของจุลินทรีย์

2.4.3 การหมักแบบอาศัยการเจริญเติบโตแบบเกื้อกูล

ได้มีการศึกษา และค้นคว้าในการที่พยายามนำกากของเสีย หรือวัสดุที่เหลือใช้จากการเกษตร และโรงงาน ซึ่งส่วนมากเป็นสารคาร์โบไฮเดรต อุตสาหกรรมที่ไม่ใช้น้ำตาล เช่น กากของเสียที่ประกอบด้วยแป้งวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหลือทิ้ง และเหลือใช้จากกระบวนการแปรรูปมาเปลี่ยนให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า สำหรับการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ต่อไป โดยอาศัยลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ 2 ชนิด โดยเรียกการเจริญเติบโตลักษณะนี้ว่า การเจริญเติบโตแบบเกื้อกูล (Symbiotic Growth) เช่น

Swidish Symba Process เป็นกระบวนการที่ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล โดยใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส เช่น *Endomycopsis fibuligera* จะปล่อยเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ต่อจากนั้นเชื้อ *Candida utilis* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ซึ่งเชื้อ *C. utilis* ซึ่งมีอัตราการเจริญสูงกว่า *E. fibuligera* ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายจะเป็นเซลล์ของ *C. utilis*ประมาณ 90-94 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตสุดท้ายซึ่งเรียกว่ายีสต์ซิมบา (Symba yeast) อันประกอบด้วย *C. utilis* เป็นหลัก และมี *E. fibuligera* ในประมาณเล็กน้อย ประเทศสวีเดนเป็นประเทศแรกที่เริ่มใช้กระบวนการนี้ โดยใช้ของเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันฝรั่ง ของเสียจะอยู่ในรูปน้ำเสีย ซึ่งประกอบด้วยของแข็ง 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแป้ง โดยมีค่า

BOD เริ่มต้น 10,000-20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสามารถของระบบคือ ได้เซลล์ยีสต์ 250-300 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และค่า BOD หลังจากผ่านกระบวนการซิมบา จะลดลงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (Jar, 1969) กระบวนการซิมบามีรายละเอียดการผลิต ดังนี้

1. ถังบัฟเฟอร์ (Buffer tank) ซึ่งรองรับน้ำ หรือกากของเสียจากโรงงาน จะมีการแยกวัตถุที่มีขนาดใหญ่ออกก่อน แล้วทำให้มีสภาพเป็นของเหลวโดยมีที่เป็นแป้งประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ถังบัฟเฟอร์จะทำให้ของเหลวเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และประกอบด้วยของอาหารที่เหมือนกันโดยตลอด เพื่อเป็นการปรับสภาวะ และอัตราการไหลเข้าสู่ขั้นต่อไป

2. ของเหลวจากถังบัฟเฟอร์จะไหลผ่านเข้าสู่ระบบให้ความร้อน จุดประสงค์เพื่อเป็นการฆ่าเชื้ออื่นก่อนโดยวิธีสเตอร์ริไรซ์ (Sterilization) ต่อจากนั้นจะผ่าน Heat exchanger ซึ่งจะเป็นตัวถ่ายเทความร้อนได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์

3. นำของเหลวเข้าสู่ถังหมักเริ่มต้น เพื่อให้เชื้อ *E. fibuligera* เจริญซึ่งในช่วงนี้จะมีการเติมไนโตรเจน และฟอสฟอรัสลงไปด้วย เพื่อช่วยในการเจริญเริ่มต้นของเซลล์ยีสต์

4. เมื่อมีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตามต้องการ ก็จะถ่ายลงสู่ถังที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อให้เชื้อ *C. utilis* เจริญเรียกถังนี้ว่า ถังซิมไบโอติค (Symbiotic fermentor) ซึ่งเป็นที่ *C. utilis* จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ในขณะที่มีการเติมอากาศตลอดเวลา โดยที่อากาศจะถูกกรองให้ปราศจากเชื้อก่อนนำมาใช้

5. หอกลั่นทำความเย็น (Cooling tower) ใช้ลดความร้อนในช่วงที่ *C. utilis* เจริญเติบโต เพราะจะเกิดความร้อนขึ้น

6. เมื่อครบเวลาอันเหมาะสมก็จะนำเข้าสู่ขั้นตอนการแยกแล้วแต่วัตถุดิบที่ใช้เป็นสับสเตรทและความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเช่นการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์โดยวิธีให้ของเหลวไหลผ่านเครื่องกรองหยาบและเครื่องกรองละเอียดในขณะเดียวกันก็ล้างทำความสะอาดเซลล์ยีสต์ด้วยเมื่อกรองละเอียดแล้วผลผลิตที่ได้ยังมีน้ำปนอยู่จึงนำไปผ่านเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อทำให้ยีสต์เข้มข้นขึ้นเป็นของเหลวหนืด ๆ

7. นำของเหลวหนืดไปเข้าเครื่องอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum drier)

8. เก็บเข้าไซโล เพื่อบรรจุภาชนะที่เหมาะสมต่อไป

2.5 การเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง

Zvauya and Muzondo (1994) ทำการศึกษาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ *A. oryzae* ใน solid state fermentation ในระหว่างเริ่มกระบวนการหมักทำการเพิ่มระดับ pH ให้เป็น 5หลังจาก 10 ชั่วโมง ค่อย ๆ ลดระดับ pH ลงเหลือ 3.1 ในช่วงแรก yeasts และ lactic acid bacteria จะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจะลดลง เมื่อผ่านระยะเวลาของการหมัก 50 ชั่วโมง องค์ประกอบโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก <2 เปอร์เซ็นต์เป็น 19 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่องค์ประกอบของแป้งลดลงจาก 80 g/100g substrate เป็น 4 g/100 g substrate.

Yuthavong and Gibbons (1994) รายงานว่าการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้การเจริญของ *C. eichhorniae*ใน solid state process สูงสุด ในงานทดลองดังกล่าวใช้ซังข้าวโพดผสมเพื่อเป็นการระบายอากาศภายในภาชนะหมัก หลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ผลผลิตโปรตีนเพิ่มเป็น 12-19 เปอร์เซ็นต์นอกจากนี้ Reade and Gregory (1975) พบว่าการใช่ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH ไม่ต้องทำให้ปลอดเชื้อ ใช้กระบวนการต้นทุนต่ำในการเปลี่ยนมันสำปะหลังโดยใช้ *Aspergillus fumigatus* ใน submerged fermentation ผลสรุปได้ว่า *Aspergillus* sp. เป็นราที่ให้ผลผลิตโปรตีนดีที่สุด (Tani, Vongsuvanleri and Kumnuanta, 1986)

Daubresse, Ntibashirwa, Gheysen and Meyer (1987) ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยกระบวนการ solid state fermentation นำมันสำปะหลังตากแห้งมาบดให้มีขนาดเส้นผ่านสูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร เพิ่มความชื้นให้เป็น 40 เปอร์เซ็นต์หลังการอบไอน้ำทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 40°C ผสมสารละลายอาหาร (100 g dry matter : 3.4 g urea, 1.5 g KH_2PO_4, 0.8 g $MgSO_4.7H_2O$, และ 22.7 g citric acid) ที่มี *Rhizopus oryzae* เป็น inoculum นำส่วนผสมมันสำปะหลัง สารละลายอาหารและ inoculum ไปเกลี่ยเป็นชั้นบาง ๆ (2-3 cm) บนถาด นำไปใส่ในตู้ที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์เป็นระยะเวลา 65 ชั่วโมง พบว่าโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 1 เปอร์เซ็นต์ก่อนการหมักเป็น 10.7 เปอร์เซ็นต์หลังการหมัก ทำนองเดียวกัน Soccol, Marin, Raimbault, and Lebeault. (1994) ศึกษากระบวนการ solid state fermentation ในมันสำปะหลังโดยใช้ *Rhizopus* spp. พบว่าองค์ประกอบโปรตีนเพิ่มจาก 1.75 เปอร์เซ็นต์เป็น 11.3 เปอร์เซ็นต์

Charoensiri et al. (1990) ได้ทำการศึกษาโดยการใช้ราที่พบในดิน *Cephalosporium eichhorniae* 152 มาเพิ่มโปรตีนในอาหารสัตว์ ราชนิดนี้มีความสามารถในการทนต่อความร้อน และความเป็นกรด เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45°C และ pH 3.8 ทั้งยังสามารถใช้ในการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง Zvauya and Muzondo (1994) ทำการทดลองใช้ระดับความชื้นเริ่มต้นที่ 400, 450, 500 และ 600 g/kg อุณหภูมิในการบ่ม 30, 35, 40 และ 45°C และจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้ 2×10^6, 2×10^7และ 2×10^8 spores/g ชนิดของราที่ใช้ ได้แก่ *Aspergillus* spp ชนิด *A. niger*, *A. oryzae* and *A. hennbergii* สรุปผลการทดลองสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของราเพื่อเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง คือ ความชื้นเริ่มต้นที่ 550 g/kg อุณหภูมิ 40°C และจำนวนสปอร์ของรา 2×10^7 spores/g substrate

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบเคมีของมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์

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

หมายเหตุ : [abc]ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

YMFCC, Yeast-Malate Fermented Cassava Chip;

T1, unfermented and un-inoculated CSR;

T2, CSR fermented with *A. fumigates + L. delbrueckii* and *L. coryneformis*;

T3, CSR fermented with *A. niger + L. delbrueckii* and *L. coryneformis*;

T4, CSR fermented with *A. flavus + L. delbrueckii*and *L. coryneformis*;

T5, CSR fermented with *S. cerevisiae + L. delbrueckii* and *L. coryneformis*

จากตารางที่ 2.4 พบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้น สามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ โดยที่ Oboh and Akindahunsi., (2003)., Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan., (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับเนื่องจาก จุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นโปรตีนในร่างกายของจุลินทรีย์ แต่ในขณะเดียวกันปริมาณ Crude

fibreในมันสำปะหลังที่หมักโดยไม่เสริมจุลินทรีย์นั้นต่ำกว่าการหมักโดยการเสริมจุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับ เนื่องจากการหมักแบบธรรมดานั้นมีจุลินทรีย์ ที่อาศัยในธรรมชาติอยู่หลายชนิดทำให้สามารถย่อยเยื่อใยในมันสำปะหลังได้ดีกว่า

2.5.1 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังหมักในอาหารโค

ตารางที่ 2.5 ผลของการใช้มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ต่อระบบนิเวศในกระเพาะหมัก

Reference	Type of fermeted	Ruminal pH	NH_3-N (ng/dl)	Blood urea nitrogen	Total VFA
Khampa et al, (2009a)	concentrate at 14 เปอร์เซ็นต์ CP	6.6[b]	17.2[b]	8.6[b]	102.4[b]
	yeast-malate fermented cassava	6.9[a]	21.4[a]	13.4[a]	117.6[a]
Khampa et al, (2009b)	concentrate at 14 เปอร์เซ็นต์ CP	6.7[b]	17.6[b]	9.4[b]	-
	yeast fermented cassava	6.9[a]	20.8[a]	12.1[a]	-
Polyorach et al, (2010)	YEFECAP replacement, เปอร์เซ็นต์				
	0	6.4[d]	17	16.3[a]	87.0[b]
	33	6.5[c]	16.7	14.2[b]	100.3[ab]
	67	6.6[b]	16.2	13.7[b]	101.8[ab]
	100	6.7[a]	16.9	13.3[b]	112.0[a]

หมายเหตุ : [a,b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(YEFECAP) = yeast-fermented cassava chip

จากตารางที่ 2.5 พบว่า การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยยีสต์นั้น ทำให้ค่า pH ในกระเพาะหมักอยู่ในสภาวะที่เกือบเป็นกลาง ซึ่งต่างจากอาหารที่ไม่ได้เสริมมันสำปะหลังที่หมักด้วยยีสต์ที่มีค่า pH ต่ำกว่าซึ่งเสี่ยงกับสภาวะการเป็นกรดในกระเพาะที่จะทำให้เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกระเพาะอาหารได้ นอกจากนั้นค่า NH_3-N ยังมีสูงกว่าด้วยเช่นกัน ซึ่ง NH_3-N นี้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์ VFA ได้ แต่อย่างไรก็ตาม การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้น มีปริมาณของ Urea

nitrogen ในเลือดสูงซึ่งอาจทำให้เป็นพิษต่อร่างกาย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ถึงการใช้มันสำปะหลังหมัก เพื่อเป็นส่วนประกอบในอาหารโค และสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป

บทที่ 3
ศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae*

3.1 คำนำ

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในการผลิตอาหารโค โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง ได้แก่ มันเส้น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลัง เป็นต้น แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังจะให้พลังงานเพียงพอ แต่คุณค่าทางอาหารยังต่ำ ในปัจจุบันพบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ โดยจากการศึกษาของ Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al.(2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่เสริมจุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมัก ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งเป็นแหล่งพลังงานเพื่อสังเคราะห์เป็นเซลล์โปรตีน โดยอาศัยกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่ง *Aspergillus oryzae* จะผลิตเอนไซม์อะไมเลสและทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (Reducing sugar) และ *Saccharomyces cerevisiae* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตทำให้ได้โปรตีนเซลล์เดียว การที่ราสามารถย่อยแป้งและเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลได้มากเท่าไร นั่นแสดงว่ายีสต์จะสามารถใช้น้ำตาลในการเจริญทำให้ได้โปรตีนเซลล์เดียวมากขึ้นเท่านั้น ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) โดยการใช้ *Aspergillus oryzae*

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) โดยการใช้ *Aspergillus oryzae*

3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.3.1 ขั้นตอนการหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและการเตรียมวัตถุดิบ

ในการทดลองครั้งนี้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่นำมาใช้ประกอบด้วย

- มันเส้น (หรือ มันเส้น), กากมันสำปะหลัง ซึ่งนำมาจากโรงงานอาหารสัตว์ฟาร์ม-

มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

-เปลือกมันสำปะหลัง (ที่ผ่านการตากแห้งประมาณ 72 ชั่วโมง) ซึ่งนำมาจากบริษัทอุตสาหกรรมแป้งโคราชจำกัด

3.3.1.1 นำตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ มันเส้น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลังมาสุ่มชั่งน้ำหนักปริมาณ 2-3 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันในแต่ละสูตร

วัตถุดิบ	**สูตร**							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
กากมันสำปะหลัง	100	-	-	75	-	50	-	37.5
มันเส้น	-	-	100	25	25	50	50	25
เปลือกมันสำปะหลัง	-	100	-	-	75	-	50	37.5

3.3.1.2 นำตัวอย่างที่ชั่งไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างที่ผ่านการอบมาชั่งน้ำหนัก

3.3.1.3 นำน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้จากข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2 มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังแต่ละชนิด

3.3.1.4 นำตัวอย่างทั้ง3 ชนิด อย่างละประมาณ 10 กิโลกรัม มาบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด1 มิลลิเมตร และนำตัวอย่างที่ผ่านการบดไปใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองขั้นต่อไป

3.3.2 ขั้นตอนการหมัก

ขั้นตอนนี้เป็นการนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ตามขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ มาทำการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* ซึ่งจัดการทดลองเป็น แบบ 8 × 11 factorial in completely randomized design ดังนี้

กำหนดให้ ปัจจัย A เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 8 สูตร ที่ได้จากการผสมตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.1

กำหนดให้ ปัจจัย B เป็นระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ซึ่งแบ่งเป็น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วันตามลำดับ

3.3.2.1 นำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบบรรจุลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ ขวดละ 40 กรัม ตามสูตรในปัจจัย A แล้วเติมน้ำเพื่อปรับความชื้นให้ได้ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของแต่ละตัวอย่าง (โดยแต่ละ ทรีตเมนต์ทำเป็น 3 ซ้ำ)

3.3.2.2 นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการปรับความชื้นไปฆ่าเชื้อโดยการนึ่ง

ในหม้อนึ่งความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.3.2.3 เติม *Aspergillus oryzae* ที่มีความเข้มข้น 3.25×10^{6} เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ต่อ 1 ขวด ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแล้ว และทำการหมักโดยตั้งขวดตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดในปัจจัย B

3.3.2.4 นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการกระบวนการหมัก แล้วไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อ

3.3.2.5 นำตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการการหยุดการเจริญเติบโตที่ได้แต่ละสูตร มาแยกบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หา Reducing sugar ต่อไป

3.3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์หา Reducing sugar

3.3.3.1 สุ่มตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการหมักมาชั่งสูตรละ 1 กรัม แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

3.3.3.2 เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละสูตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo fisher scientific) ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวใสมาสูตรละ 1 มิลลิลิตร

3.3.3.3 นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่เก็บได้ในข้อ 3.3.3.2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น (Thermo electron compotion) ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

3.3.3.4 นำค่าที่ได้ในข้อ 3.3.3.3 ไปคำนวณหา Reducing sugar (Miller, 1959) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

3.5 ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) โดยการใช้ *Aspergillus oryzae* ทั้งหมด 8 สูตร และระยะเวลาการหมักที่แตกต่างกันตั้งแต่ 0 - 10 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.2 พบว่า ปริมาณ Reducing sugar ในวันที่ 0 ของทุกสูตรซึ่งเป็นกลุ่มที่ยังไม่ได้ผ่านการหมักมีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด คือ 7.35 mg/g (3.72-13.42 mg/g) ในขณะเดียวกัน ปริมาณ Reducing sugar ของทุกสูตรได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนของการหมักในวันที่ 3 เป็นต้นไป พบว่า ปริมาณ Reducing sugar ของวันที่ 3 ของการหมัก

สูตร 1 (กากมันสำปะหลัง 100%) มีปริมาณ Reducing sugar สูงสุด 181.14 mg/g ตามด้วย สูตร 8 (กากมันสำปะหลัง 37.5% + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5% + มันเส้น25%) 124.27 mg/g และ สูตร 4 (กากมันสำปะหลัง 75% + มันเส้น 25%) 119.24 mg/g ในขณะที่สูตร 3 (มันเส้น 100%) มีปริมาณ Reducing sugar ต่ำสุด 35.10 mg/g โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณ Reducing sugar ของวันที่ 0 – 10 ของการหมักคือสูตร 1 มีปริมาณ Reducing sugar สูงสุด (139.00 mg/g) ตามด้วย สูตร 8 (118.96 mg/g) และ สูตร 4 (91.41 mg/g) ในขณะที่ สูตร 3 มีปริมาณ Reducing sugar ต่ำสุด (32.41 mg/g) ถึงแม้ว่า สูตรที่ 3 นั้นจะมีปริมาณแป้งมากที่สุดแต่พบว่าเมื่อแป้งได้รับความร้อนสูงจากการนึ่งทำให้เกิดกระบวนการเจลาติไนเซชั่น แป้งที่สุกมีลักษณะเหนียวและหนืด ส่งผลให้ราสามารถเจริญได้แค่บริเวณผิวด้านนอกที่สัมผัสกับอากาศเท่านั้นไม่สามารถสร้างเส้นใยให้กระจายทั่วขวดได้ จึงสามารถสรุปได้ว่า ระยะเวลาของการหมักที่เหมาะสมที่สุด คือ วันที่ 3 และสูตรที่ดีที่สุด 3 สูตร คือ สูตร 1 (กากมันสำปะหลัง 100%), สูตร 8 (กากมันสำปะหลัง 37.5% + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5% + มันเส้น 25%) และ สูตร 4 (กากมันสำปะหลัง 75% + มันเส้น 25%) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Raimbault (1998) ที่ศึกษาการเพิ่มขึ้นของ Reducing sugar จากการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังด้วยรา โดยใช้หลักการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (กลูโคส) โดยการทำให้แป้งมันสำปะหลังกลายเป็นแหล่งของคาร์บอน ได้ผลที่คล้ายกับการรายงานก่อนหน้านี้ที่ Iyayi andLosel (2001a), Pothiraj andEyini (2007) และ Ofuya and Nwajiuba (1990) แสดงให้เห็นว่ากระบวนการหมักแบบ solid state สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ reducing sugar

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.2 แสดงผล Reducing sugar ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1-8 และระยะเวลาในการหมัก วันที่ 0-10

สูตร	Reducing sugar mg/g											
	วันที่เริ่มหมักด้วยรา											
	d0	d1	d2	d3	d4	d5	d6	d7	d8	d9	d10	mean
1	6.48^{c,w}	66.00^{a,v}	85.57^{b,v}	181.14^{a,u}	172.80^{a,u}	167.18^{a,u}	178.91^{a,u}	168.51^{a,u}	169.21^{a,u}	172.30^{a,u}	160.95^{a,u}	139.00^{a}
2	3.72^{d,y}	25.69^{b,x}	61.58^{cd,w}	75.33^{d,v}	91.81^{d,u}	87.06^{b,uv}	81.40^{e,uv}	76.57^{c,v}	53.85^{de,w}	58.57^{de,w}	62.24^{d,w}	61.62^{e}
3	13.42^{a,w}	28.75^{b,v}	33.70^{f,uv}	35.10^{e,uv}	35.72^{e,uv}	40.02^{c,u}	36.39^{f,uv}	31.72^{d,uv}	31.02^{f,v}	33.82^{e,uv}	36.88^{e,uv}	32.41^{f}
4	9.37^{b,x}	63.65^{a,w}	63.65^{cd,w}	119.24^{b,u}	116.26^{c,u}	106.84^{b,uv}	112.71^{c,u}	106.92^{b,uv}	108.33^{c,uv}	97.92^{c,v}	110.03^{c,uv}	91.41^{c}
5	4.75^{cd,y}	29.28^{b,x}	69.02^{c,w}	88.92^{cd,v}	89.50^{d,v}	103.91^{b,uv}	93.59^{d,v}	104.49^{b,uv}	102.26^{c,uv}	104.36^{c,uv}	114.69^{c,u}	82.25^{d}
6	9.54^{b,y}	34.32^{b,x}	44.40^{ef,x}	89.91^{c,uv}	76.28^{d,vw}	94.25^{b,u}	74.59^{e,vw}	68.39^{c,w}	70.46^{d,w}	65.58^{d,w}	72.31^{d,w}	63.64^{e}
7	5.70^{cd,z}	34.90^{b,y}	53.61^{de,x}	80.25^{cd,u}	76.86^{d,uv}	80.49^{b,u}	75.58^{e,uvw}	67.90^{c,uvwx}	63.06^{de,vwx}	70.34^{d,uvw}	60.67^{d,wx}	60.85^{e}
8	5.86^{c,y}	58.93^{a,x}	106.10^{a,w}	124.27^{b,vw}	136.58^{b,v}	144.67^{a,uv}	145.66^{b,uv}	158.80^{a,u}	145.33^{b,uv}	142.73^{b,uv}	139.68^{b,uv}	118.96^{b}
mean	7.35^{z}	41.52^{y}	64.70^{x}	99.27^{uv}	99.47^{uv}	103.05^{u}	99.85^{uv}	97.91^{uvw}	92.94^{w}	93.20^{w}	94.68^{vw}	
A = 0.0001	B = 0.001	A*B = 0.0001										

หมายเหตุ : สูตร 1=กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 2=เปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 3=มันเส้น 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 4=กากมันสำปะหลัง 75 เปอร์เซ็นต์+มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, สูตร 5=เปลือกมันสำปะหลัง 75 เปอร์เซ็นต์+มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, สูตร 6=กากมันสำปะหลัง 50เปอร์เซ็นต์+มันเส้น 50 เปอร์เซ็นต์, สูตร 7=เปลือกมันสำปะหลัง 50 เปอร์เซ็นต์+มันเส้น 50 เปอร์เซ็นต์, สูตร 8=กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์+ เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, A คือ สูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง, B คือ ระยะเวลาการหมัก, A*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังกับระยะเวลาการหมัก

^{abcdef}ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001), ^{uvwxyz}ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.001)

3.6 สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาการผลิต Reducing sugar จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae* ทั้งหมด 8 สูตร พบว่า ปริมาณ Reducing sugar ของวันที่ 3 ของการหมัก สูตร 1 (กากมันสำปะหลัง 100%) มีปริมาณ Reducing sugar สูงสุด 181.14 mg/g ซึ่งการมี reducing sugar สูง อาจทำให้ยีสต์ที่จะเติมลงไปสามารถเจริญได้ดี และได้โปรตีนเซลล์เดียวจำนวนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
การศึกษาระดับ Crude protein และยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังโดยการใช้ *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Laboratory Scale)

4.1 คำนำ

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในการผลิตอาหารโคแม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังจะให้พลังงานเพียงพอ แต่ยังมีโปรตีนต่ำ ในปัจจุบันพบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ เนื่อง จากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นโปรตีน โดยอาศัยกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่ง *Aspergillus oryzae* จะผลิตเอนไซม์อะไมเลส และทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (Reducing sugar) และ *Saccharomyces cerevisiae* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตกลายเป็นโปรตีนเซลล์เดียว โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ อาหาร อากาศ น้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ซึ่งปัจจัยด้านอาหารประกอบด้วย คาร์บอน ไนโตรเจน และแร่ธาตุ เนื่องจาก Reducing sugar เป็นแหล่งคาร์บอน จึงจำเป็นต้องมีการเติมยูเรียเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน ลงไปในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง เพื่อนำไปเป็นแหล่งอาหารของ *Saccharomyces cerevisiae* ดังนั้นการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาระดับ Crude protein และยูเรียที่เหลือจากกระบวน การหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* การศึกษาปริมาณ Crude protein ที่เพิ่มขึ้นนั้นเพื่อนำไปใช้ทดแทนเป็นอาหารข้นในโคและศึกษาปริมาณยูเรียที่เหลือ เพื่อนำมาคัดเลือกระดับการเสริมยูเรียที่เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงโค เนื่องจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถใช้ประโยชน์จากยูเรียได้ แต่หากยูเรียมีปริมาณมากเกินไปก็จะทำให้เกิดอันตรายต่อโคได้

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาระดับ Crude protein และยูเรียที่เหลือ จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

4.3.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ และศึกษาระดับ Crude protein

ในการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาการเพิ่มโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังโดยการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีการเติมยูเรีย 6 ระดับโดยจัดการทดลองเป็นแบบ 4 × 6 Factorial in completely randomized design ดังนี้

กำหนดให้ ปัจจัย A เป็นสูตรตัวอย่างที่มีปริมาณ Reducing sugar สูงที่สุดที่คัดเลือกมาจากการทดลองที่1ทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1, 2, 4 และ 8

กำหนดให้ ปัจจัย B เป็นปริมาณยูเรียที่เติมลงในตัวอย่าง มี 6 ระดับคือ 0, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

4.3.1.1 เตรียมวัตถุดิบตามวิธีการทดลองที่ 1 จนถึงขั้นตอนการหมักตัวอย่างด้วย *Aspergillus oryzae* โดยเลือกทำ 4 สูตร (ตามปัจจัย A) ได้แก่ สูตรที่ 1, 2, 4 และ 8 (โดยแต่ละทรีทเมนต์ทำเป็น 3 ซ้ำ)

4.3.1.2 เตรียม *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวโดยเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติมลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขวดละ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง ในวันที่ 3 ของการหมัก พร้อมกับเติมยูเรียในแต่ละระดับ

4.3.1.3 เติมน้ำกลั่นลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขวดละ 30 มิลลิลิตร แล้วนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติมน้ำกลั่นแล้วไปหมัก โดยนำไปเขย่าในเครื่อง Shaker ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

4.3.1.4 นำตัวอย่างที่ได้จากการหมัก และผ่านการเขย่า ไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของรา และยีสต์แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร

4.3.1.5 นำตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการบดมาหาน้ำหนักวัตถุแห้งของตัวอย่าง (Dry matter, DM) จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาโปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyzer และหายูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมัก ตามวิธีของ Knorst, Neubert, and Wohlrab (1996)

4.4 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

4.5 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตารางที่ 4.1 แสดงผลระดับ Crude protein ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2, 4 และ 8 ที่มีการเสริม Urea ที่ระดับ 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์

สูตร	ระดับ Crude protein (%)						
	Urea 0 เปอร์เซ็นต์	Urea 1.25 เปอร์เซ็นต์	Urea 2.5 เปอร์เซ็นต์	Urea 5 เปอร์เซ็นต์	Urea 7.5 เปอร์เซ็นต์	Urea 10 เปอร์เซ็นต์	Mean±SE
1	6.02^{b,z}	11.14^{c,y}	17.99^{b,x}	27.41^{a,w}	38.29^{b,v}	49.85^{b,u}	25.11^{b}±0.29
2	6.70^{a,z}	10.68^{c,y}	16.53^{c,x}	27.05^{a,w}	37.64^{b,v}	47.63^{c,u}	24.37^{c}±0.17
4	6.66^{a,z}	11.53^{b,y}	16.53^{c,x}	25.35^{a,w}	37.25^{b,v}	45.54^{d,u}	23.81^{c}±0.23
8	6.81^{a,z}	12.30^{a,y}	20.86^{a,x}	28.30^{a,w}	41.86^{a,v}	51.34^{a,u}	26.91^{a}±0.85
Mean	6.54^{z}±0.18	11.41^{y}±0.21	17.98^{x}±0.20	27.03^{w}±1.21	38.76^{v}±0.45	48.59^{u}±0.46	

A = 0.001 B = 0.001 A*B = 0.001

หมายเหตุ : สูตร1 = กากมันสำปะหลัง100เปอร์เซ็นต์, สูตร 2 = เปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ , สูตร 4 = กากมันสำปะหลัง 75 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, สูตร 8 = กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, A คือ สูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง, B คือ เปอร์เซ็นต์ Urea ที่เติม, A*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังกับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

^{abcd}ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

^{uvwxyz}ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ตารางที่ 4.2แสดงผลระดับ Urea ที่เหลือ ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2, 4 และ 8 ที่มีการเสริม Urea ที่ระดับ 0, 1.25, 2.5, 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์

สูตร	ระดับ Urea ที่เหลือ (%)						
	Urea 0 เปอร์เซ็นต์	Urea 1.25 เปอร์เซ็นต์	Urea 2.5 เปอร์เซ็นต์	Urea 5 เปอร์เซ็นต์	Urea 7.5 เปอร์เซ็นต์	Urea 10 เปอร์เซ็นต์	Mean±SE
1	$0.25^{a,z}$	$0.79^{c,y}$	$1.67^{c,x}$	$3.13^{c,w}$	$4.66^{b,v}$	$5.77^{b,u}$	2.71^{b}±0.29
2	$0.28^{a,z}$	$0.85^{b,y}$	$1.77^{b,x}$	$3.29^{b,w}$	$4.66^{b,v}$	$6.20^{a,u}$	2.84^{a}±0.32
4	$0.17^{b,z}$	$1.06^{a,y}$	$1.93^{a,x}$	$3.61^{a,w}$	$4.78^{ab,v}$	$5.54^{c,u}$	2.85^{a}±0.26
8	$0.29^{a,z}$	$0.79^{c,y}$	$1.73^{bc,x}$	$2.61^{d,w}$	$4.81^{a,v}$	$5.55^{c,u}$	2.63^{c}±0.22
Mean	0.25^{z}±0.42	0.88^{y}±0.42	1.78^{x}±0.22	3.16^{w}±0.45	4.73^{v}±0.42	5.76^{u}±0.50	
A = 0.001	B = 0.001		A*B = 0.001				

หมายเหตุ : สูตร 1 = กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 2 =เ ปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 4 = กากมันสำปะหลัง 75 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, สูตร 8 = กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, A คือ สูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง, B คือ เปอร์เซ็นต์ Urea ที่เติม, A*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังกับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

^{uvwxyz}ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

^{abcd}ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S.cerevisiae* ในตารางที่ 4.1 พบว่าใน สูตรที่ 8 (กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์) มีโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 26.91 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วย สูตรที่ 1 (กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์) 25.11 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่สูตรที่ 4 (กากมันสำปะหลัง 75 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์) มีโปรตีนต่ำที่สุด คือ 23.81 เปอร์เซ็นต์โดยค่าเฉลี่ยโปรตีนหยาบนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ สูตรที่ 2 (เปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์) 24.37 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าปริมาณโปรตีนนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้น

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ยูเรียที่ตกค้างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ในตารางที่ 4.2 พบว่าใน สูตรที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์ยูเรียที่ตกค้างสูงโดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ สูตรที่ 2 ตามด้วยสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 8 ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทุกสูตรการเพิ่มขึ้นของโปรตีนอาจเกิดจากการหลั่งเอนไซม์ของจุลินทรีย์ในระหว่างที่เกิดกระบวนการหมักจากยูเรียที่ตกค้างจากการหมัก และ การเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เรียกว่าโปรตีนเซลล์เดียว ทำให้พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้อย่างชัดเจน สอดคล้องกันกับ Iyayi and Losel (2001) ที่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักโดย *A. niger* หรือ *S. cerevisiae* นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่ารา เช่นเดียวกันกับ Wainright (1992) ได้ปรับปรุงปริมาณโปรตีนโดยการหมักธัญพืช และได้รายงานว่า การหมักข้าวโพดบดโดย *S. cerevisiae* และ *Candida tropicalis* ช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนของผลิตภัณฑ์ และสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนให้สูงขึ้นโดยการเพิ่มสารสกัดจากมอลต์ทำนองเดียวกัน Essers (1994) แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มโปรตีนของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโดยราและยีสต์ และพบว่าราและยีสต์สามารถเติบโตได้ดีโดยไม่ต้องมีการเติมไนโตรเจน แต่พบว่าปริมาณผลผลิตโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อมีการเติมแหล่งไนโตรเจน ซึ่งหมายความว่าไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์มีไม่มากพอที่จุลินทรีย์ จะสามารถเจริญเติบโตและใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในปริมาณมาก

การศึกษาในปัจจุบันพบว่ายูเรียทำงานเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของราและยีสต์ ผลที่ได้รับจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมยูเรียลงในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังก่อนการหมักช่วยเพิ่มการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และนำไปสู่การเพิ่มจำนวนเซลล์และการเกิดมวลโปรตีนมากขึ้น ซึ่ง Antai and Mbongo (1994) ได้รายงานผลที่สอดคล้องกันเมื่อศึกษาในเปลือกมันสำปะหลัง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกันกับ Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) ที่พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นจะเปลี่ยนแป้งเป็นแหล่งพลังงานเพื่อสังเคราะห์เป็นเซลล์โปรตีนซึ่งสอดคล้องกับ Zvauya and Muzondo (1993) ที่ทำการศึกษาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ *A. oryzae* ใน Solid state fermentation ในระหว่างเริ่มกระบวนการหมักทำการเพิ่มระดับ pH ให้เป็น 5 หลังจาก 10 ชั่วโมง ค่อยๆ ลดระดับ pH ลงเหลือ 3.1 ในช่วงแรก Yeasts และ Lactic acid bacteria จะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจะลดลง เมื่อผ่านระยะเวลาของการหมัก 50 ชั่วโมง องค์ประกอบโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก <2 เปอร์เซ็นต์เป็น 19 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่องค์ประกอบของแป้งลดลงจาก 80g/100g Substrate เป็น 4g/100g substrateและสอดคล้องกันกับ Yuthavong and Gibbons (1994) ที่รายงานว่าการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้การเจริญของ *C. eichhorniae* ใน Solid state process สูงสุด ในงาน

ทดลองดังกล่าวใช้ซังข้าวโพดผสมลงไปเพื่อเป็นการระบายอากาศภายในภาชนะหมัก หลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ผลผลิตโปรตีนเพิ่มเป็น 12-19 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Reade and Gregory (1975) พบว่าการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH ไม่ต้องทำให้ปลอดเชื้อ ใช้กระบวนการต้นทุนต่ำในการปรับปรุงคุณภาพมันสำปะหลังโดยใช้ *Aspergillus fumigatus* ใน submerged fermentation. ผลสรุปได้ว่า *Aspergillus* sp. เป็นราที่ให้ผลผลิตโปรตีนดีที่สุด (Tani, Vongsuvanleri, and Kumnuanta, 1986)

4.6 สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* พบว่าใน สูตรที่ 8 (กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันสับมือ 25 เปอร์เซ็นต์) มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 26.91 เปอร์เซ็นต์ และ ผลการศึกษาปริมาณยูเรียที่ตกค้างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S.cerevisiae* พบว่าใน สูตรที่ 4 มีปริมาณยูเรียที่ตกค้างเฉลี่ยสูงที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ สูตรที่ 2โดยปริมาณยูเรียที่ตกค้างนั้นสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
การศึกษาระดับ Crude protein และปริมาณยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Small Scale)

5.1 คำนำ

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในการผลิตอาหารโค แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังจะให้พลังงานเพียงพอแต่ยังมีโปรตีนต่ำในปัจจุบันพบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นโปรตีนโดยอาศัยกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้แก่อาหารอากาศน้ำอุณหภูมิความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ซึ่งปัจจัยด้านอาหารประกอบด้วย คาร์บอน ไนโตรเจน และแร่ธาตุ เนื่องจาก Reducing sugar เป็นแหล่งคาร์บอนจึงจำเป็นต้องมีการเติมยูเรียเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับจุลินทรีย์น โดย Reade and Gregory (1975) พบว่าการใช่ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH ไม่ต้องทำให้ปลอดเชื้อ ใช้กระบวนการต้นทุนต่ำในการปรับปรุงคุณภาพมันสำปะหลังโดยใช้ *Aspergillus fumigatus*ใน Submerged fermentation ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาระดับ Crude proteinและปริมาณยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้นกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยการศึกษาปริมาณ Crude protein เพื่อนำไปใช้ทดแทนเป็นอาหารอาหารข้นในโค และศึกษาปริมาณยูเรียที่เหลือเพื่อนำมาคัดเลือกระดับการเสริมยูเรียที่เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงโค เนื่องจากจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถใช้ประโยชน์จากยูเรียได้ แต่หากยูเรียปริมาณมากเกินไปก็จะทำให้เกิดอันตรายต่อโคได้

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาระดับ Crude protein และปริมาณยูเรียที่เหลือ จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (มันเส้น กากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลัง) ด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

5.3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

ในการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเพิ่มเติมจากการทดลองที่ 2 โดยการเพิ่มปริมาณของสัดส่วนตัวอย่างเป็น 1,000 กรัม (จากเดิม 40 กรัม) ทำการทดลองโดยการนำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบบรรจุลงในขวดพลาสติกที่มีฝาปิด (ปริมาตร 5 ลิตร) เลือก 3 สูตรที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดจากการทดลองที่ 2 (ตามปัจจัย A) ได้แก่สูตรที่ 1, 2 และ 8 และมีการเติมยูเรีย 4 ระดับ(ตามปัจจัย A) คือ 0, 4.0, 5.0 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง โดยจัดการทดลองเป็น แบบ 3 × 4 factorial in completely randomized design (แต่ละทรีตเมนต์ทำเป็น 3 ซ้ำ)

ขั้นตอนการหมัก และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเป็นไปเช่นเดียวกันกับในบทที่ 4 หัวข้อ ที่ 4.3 เพียงแต่ ไม่มีการนำไปเขย่าในเครื่อง Shaker เนื่องจากขวดทดลองมีขนาดใหญ่เกินไปผู้ทดลองจึงตั้งขวดทดลองทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

5.4 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1998) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan’s Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.5 ผลการทดลอง

ตารางที่ 5.1 แสดงผลระดับ Crude protein ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2 และ 8 และการเสริม Urea ที่0,4,5 และ 6 เปอร์เซ็นต์

สูตร	ระดับ Crude protein				
	Urea 0 เปอร์เซ็นต์	Urea 4 เปอร์เซ็นต์	Urea 5 เปอร์เซ็นต์	Urea 6 เปอร์เซ็นต์	Mean±SE
1	$5.02^{b,x}$	$22.78^{a,w}$	$27.51^{b,v}$	$30.88^{a,u}$	21.55±0.30
2	$7.51^{a,x}$	$23.97^{a,w}$	$26.38^{c,v}$	$28.76^{c,u}$	21.65±0.31
8	$5.24^{b,w}$	$23.39^{a,v}$	$29.28^{a,u}$	$29.42^{b,u}$	21.83±0.32
Mean	5.92^{x}±0.20	23.38^{w}±0.64	27.72^{v}±0.21	29.69^{u}±0.16	
A = 0.454	B = 0.001		A*B = 0.001		

หมายเหตุ : สูตร 1 = กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 2 = เปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 8 = กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, A คือ สูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง, B คือ เปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม,A*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังกับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

^{abc}ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

^{uvwx}ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 5.2 แสดงผลระดับ Urea ที่เหลือ ของตัวอย่างมันสำปะหลัง สูตรที่ 1, 2 และ 8 และการเสริม Urea ที่ 0, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์

สูตร	ระดับ Urea ที่เหลือ				
	Urea 0 เปอร์เซ็นต์	Urea 4 เปอร์เซ็นต์	Urea 5 เปอร์เซ็นต์	Urea 6 เปอร์เซ็นต์	Mean±SE
1	$0.07^{b,x}$	$2.52^{a,w}$	$2.93^{ab,v}$	$3.32^{b,u}$	2.21±0.06
2	$0.17^{a,x}$	$2.20^{b,w}$	$3.05^{a,v}$	$3.84^{a,u}$	2.31±0.02
8	$0.18^{a,x}$	$2.26^{b,w}$	$2.72^{b,v}$	$3.76^{a,u}$	2.32±0.05
Mean	0.14^{x}±0.01	2.32^{w}±0.04	2.90^{v}±0.09	3.64^{u}±0.61	
A = 0.092 B = 0.001 A*B = 0.001					

หมายเหตุ : สูตร 1 = กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 2 = เปลือกมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์, สูตร 8 = กากมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + เปลือกมันสำปะหลัง 37.5 เปอร์เซ็นต์ + มันเส้น 25 เปอร์เซ็นต์, A คือ สูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง, B คือ เปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม, A*B คือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังกับเปอร์เซ็นต์ Urea ที่เสริม

^{ab}ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

^{uvwx}ที่อยู่ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ในตารางที่ 5.1 พบว่าในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้ง 3 สูตรมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันและพบว่าปริมาณโปรตีนนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้น ผลการศึกษาปริมาณยูเรียที่ตกค้างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* ในตารางที่ 5.2 พบว่า ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง ทั้ง 3 สูตรมีปริมาณยูเรียที่ตกค้างไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ปริมาณยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักทุกสูตรซึ่งปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้น อาจเกิดจากการการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ การหลั่งเอนไซม์ของจุลินทรีย์ในระหว่างที่เกิดกระบวนการหมักและจากยูเรียที่ตกค้าง ดังนั้นจึงทำให้เห็นการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้อย่างชัดเจนเช่นเดียวกันกับ Essers (1994) แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มโปรตีนของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโดยเชื้อราและยีสต์ เชื้อราและยีสต์สามารถเติบโตได้ดีโดยไม่ต้องมีการเติมไนโตรเจน พบว่าปริมาณผลผลิตโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อมีการเติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งหมายความว่าไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์มีไม่มากพอที่จุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโต และใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในปริมาณมาก การศึกษาปัจจุบันพบว่ายูเรียทำงานเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา และยีสต์ ผลที่ได้รับจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมยูเรียลงในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังก่อนการหมักช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และนำไปสู่การเพิ่มจำนวนเซลล์ และการเกิดมวล

โปรตีนมากขึ้นและสอดคล้องกันกับ Yuthavong and Gibbons (1994) ที่รายงานว่าการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้การเจริญของ *C. eichhorniae*ใน Solid state process สูงสุด ในงานทดลองดังกล่าวใช้ซังข้าวโพดผสมเพื่อเป็นการระบายอากาศภายในภาชนะหมัก หลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ผลผลิตโปรตีนเพิ่มเป็น 12-19 %เช่นเดียวกันกับ Iyayi and Losel (2001) ที่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักโดย *A. niger* หรือ *S. cerevisiae* ยีสต์แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่ารา ซึ่ง Antai and Mbongo (1994) ได้รายงานผลที่สอดคล้องกันเมื่อศึกษาในเปลือกมันสำปะหลังนอกจากนี้ยังสอดคล้องกันกับ Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับเนื่องจาก จุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นโปรตีนในร่างกายของจุลินทรีย์และสอดคล้องกันกับ Zvauya and Muzondo (1993) ที่ทำการศึกษาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ *A. oryzae* ใน Solid state fermentation ในระหว่างเริ่มกระบวนการหมักทำการเพิ่มระดับ pH ให้เป็น 5 หลังจาก 10 ชั่วโมง ค่อยๆ ลดระดับ pH ลงเหลือ 3.1 ในช่วงแรก yeasts และlactic acid bacteria จะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจะลดลง เมื่อผ่านระยะเวลาของการหมัก 50 ชั่วโมง องค์ประกอบโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก <2%เป็น 19%ในขณะที่องค์ประกอบของแป้งลดลงจาก 80 g/100g substrate เป็น 4 g/100g substrate เช่นเดียวกันกับ Wainright (1992) ได้ปรับปรุงปริมาณโปรตีนโดยการหมักธัญพืช และได้รายงานว่าการหมักข้าวโพดบดโดยยีสต์ *S. cerevisiae* และ *Candida tropicalis* ช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนของผลิตภัณฑ์และสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนให้สูงขึ้นโดยการเพิ่มสารสกัดจากมอลต์นอกจากนี้ Reade and Gregory (1975) พบว่าการใช่ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมระดับ pH ไม่ต้องทำให้ปลอดเชื้อ ใช้กระบวนการต้นทุนต่ำในการปรับปรุงคุณภาพมันสำปะหลังโดยใช้ *Aspergillus fumigatus*ใน submerged fermentation ผลสรุปได้ว่า *Aspergillus* sp. เป็นราที่ให้ผลผลิตโปรตีนดีที่สุด (Tani, Vongsuvanleri, and Kumnuanta, 1986)

5.6 สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* พบว่าในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้ง 3 สูตรมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน และพบว่าปริมาณโปรตีนนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามระดับของการเติมยูเรียที่สูงขึ้นและผลการศึกษาปริมาณยูเรียที่ตกค้างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. oryzae* และ *S. cerevisiae* พบว่า ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้ง 3 สูตรมีปริมาณยูเรียที่ตกค้างไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ปริมาณยูเรียที่ตกค้างนั้นยังสูงขึ้นตามระดับของยูเรียที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

บทที่ 6
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อนหมักและหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

6.1 คำนำ

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในการผลิตอาหารโค แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังจะให้พลังงานเพียงพอ แต่คุณค่าทางอาหารยังต่ำ ในปัจจุบันพบว่ามันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีได้ โดยจากการศึกษาของ Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับเนื่องจาก จุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังไปเป็นแหล่งพลังงานเพื่อสังเคราะห์เป็นโปรตีนภายในเซลล์ซึ่ง*Aspergillus oryzae* เป็นราที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส และทำการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (Reducing sugar) และ *Saccharomyces cerevisiae* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตได้ผลผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวโดยปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ อาหาร อากาศ น้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ซึ่งปัจจัยด้านอาหารประกอบด้วยคาร์บอนไนโตรเจนและแร่ธาตุเนื่องจากReducing sugar เป็นแหล่งคาร์บอนจึงจำเป็นต้องมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไปในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลังเพื่อนำไปเป็นแหล่งอาหารของ *Saccharomyces cerevisiae* ยูเรีย เป็นสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อทดแทนโปรตีนซึ่งทำให้ต้นทุนต่ำลง ส่วนใหญ่จะถูกนำมาใช้เพื่อปรุงแต่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีราคาถูกกว่าวัตถุดิบประเภทโปรตีน (Chalmers, and While, 1969) แต่อย่างไรก็ตามถ้าใช้มากเกินไปอาจจะทำให้เกิดการเป็นพิษได้ (Osweiler, Carson, and Buck, 1985) ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และระดับยูเรียที่ตกค้างเปลือกมันสำปะหลังก่อนหมัก และหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae*

6.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อนหมักและหลังหมักด้วย *Aspergillus oryzae*และ *Saccharomyces cerevisiae*

6.3 อุปกรณ์ และวิธีการ

6.3.1 ขั้นตอนการหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและการเตรียมวัตถุดิบ

ในการทดลองครั้งนี้ตัวอย่างที่ใช้คือเปลือกมันสำปะหลัง (ที่ผ่านการตากแห้ง 72 ชั่วโมง) ซึ่งนำมาจาก บริษัท อุตสาหกรรมแป้งโคราช จำกัด

6.3.1.1 นำเปลือกมันสำปะหลัง มาสุ่มชั่งน้ำหนักปริมาณ 2-3 กรัมตามลำดับ

6.3.1.2 นำตัวอย่างที่ชั่งไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างที่ผ่านการอบมาชั่งน้ำหนัก

6.3.1.3 นำน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้จากข้อ 6.3.1.1 และ 6.3.1.2 มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง และนำเปลือกมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ไปใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองขั้นต่อไป

6.3.2 ขั้นตอนการหมัก

ขั้นตอนนี้เป็นการนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ตามขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบมาทำการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยเลือกสูตรอาหารสูตรที่ 2 (เปลือกมันสำปะหลัง100%)ที่มีการเสริมยูเรีย5.0%ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

6.3.2.1 นำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบบรรจุลงในถังพลาสติกที่มีฝาปิด (ปริมาตร150ลิตร) ถังละ20กิโลกรัมแล้วเติมน้ำสะอาดเพื่อปรับความชื้นให้ได้ความชื้น 70% โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

6.3.2.2 นำถังตัวอย่างที่ได้ไปฆ่าเชื้อโดยการนึ่ง (โดยต้มน้ำในถังเหล็กเพื่อนำไอน้ำที่ได้จากการต้มน้ำมาต่อกับสายยางเจาะรูแล้วนำไปขดไว้ที่ก้นถังตัวอย่าง) เป็นเวลา 90 นาที และตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6.3.2.3 เติม *Aspergillus oryzae* ที่มีความเข้มข้น 3.25×10^{6} เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างลงในถังตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแล้ว และทำการหมักโดยตั้งถังตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันเนื่องจากเป็นวันที่มีปริมาณ Reducing sugar สูงที่สุดตามที่ได้ศึกษาในบทที่ 3

6.3.2.4 เติม *Saccharomyces cerevisiae* ลงในถังตัวอย่างในวันที่ 3 ของการหมักพร้อมกับเติมยูเรีย 5.0% ของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างเนื่องจากเป็นระดับที่มีเปอร์เซ็นยูเรียเหลือไม่เกิน 3 เปอร์เซ็นต์ ตามที่ได้ศึกษาในบทที่ 5

6.3.2.5 เติมน้ำสะอาดลงในถังตัวอย่างจำนวน 1.5 ลิตรแล้วทำการหมักโดยตั้งถังตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

6.3.2.6 นำตัวอย่างที่ได้จากการหมักไปตากให้แห้งเป็นเวลา 3 วันเพื่อหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อและนำไปเป็นอาหารทดลองในการเลี้ยงโคเจาะกระเพาะ (ซึ่งจะนำไปใช้ในการทดลองที่ 7 ต่อไป)

6.3.2.7 สุ่มตัวอย่างที่ได้มาแยกบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตรแล้วนำตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการบดไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีแบบประมาณ (Proximate analysis) (AOAC, 1990) ซึ่งวิเคราะห์วัตถุแห้งโดยเครื่อง Hot air oven โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyzer ไขมัน (Ether extract) โดยเครื่อง Soxhlet auto analyzer เยื่อใยหยาบ (Crude fiber, CF) โดยเครื่อง Fibertec auto analyser และ เถ้า (Ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ส่วนการวิเคราะห์เยื่อใยนั้นจะใช้วิธี Detergent analysis (Goering and Van Soest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) และ Acid detergent lignin, ADL โดยเครื่อง Fibertec auto analyser

6.3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมันสำปะหลัง (ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2)

6.4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตารางที่ 6.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อน และหลังการหมัก

% Dry matter	เปลือกมันสำปะหลังก่อนหมัก	เปลือกมันสำปะหลังหมัก
% Dry matter	96.34±0.02	94.32±0.01
Crude protein	2.87±0.04	23.02±0.24
Crude fat	1.33.±0.02	2.65±0.03
Ash	12.97±0.24	13.73±0.15
Crude fiber	17.63±0.29	18.95±0.23
NDF	53.20±0.08	54.33±0.04
ADF	46.15±0.26	45.39±0.14
ADL	12.41±0.07	9.38±0.02
NDIN	0.36±0.02	0.35±0.02
NDINCP	1.01±0.01	2.21±0.01
ADIN	0.14±0.01	0.18±0.01
ADINCP	0.87±0.01	1.11±0.01
% Urea	-	2.94

หมายเหตุ: ADF = acid detergent fiber, ADICP = acid detergent insoluble crude protein, ADIN = acid detergent insoluble nitrogen, ADL = acid detergent lignin, NDF = neutral detergent fiber, NDIN = neutral detergent insoluble nitrogen, NDICP = neutral detergent insoluble crude protein

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อน และหลังการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* ดังแสดงในตารางที่ 6.1 โดยเปลือกมันสำปะหลังก่อนและหลังการหมัก มีคุณค่าทางโภชนะ ซึ่งได้แก่ วัตถุแห้งมีค่าเท่ากับ 96 และ 94 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือความชื้นมีค่าเท่ากับ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์โปรตีนมีค่าเท่ากับ 2.87 และ 23.02 เปอร์เซ็นต์ ไขมันมีค่าเท่ากับ 1.33 และ 2.65 เปอร์เซ็นต์เถ้ามีค่าเท่ากับ 12.97 และ 13.73 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่าเท่ากับ 17.63 และ 18.95 เปอร์เซ็นต์NDF มีค่าเท่ากับ 53.20 และ 54.33 เปอร์เซ็นต์ ADF มีค่าเท่ากับ 46.15 และ 45.39 เปอร์เซ็นต์ ADL มีค่าเท่ากับ 12.41 และ 9.38 เปอร์เซ็นต์ NDIN มีค่าเท่ากับ 0.36 และ 0.35 เปอร์เซ็นต์ NDINCP มีค่าเท่ากับ 1.01 และ 2.21 เปอร์เซ็นต์ ADIN มีค่าเท่ากับ 0.14 และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ ADINCP มีค่าเท่ากับ 0.87 และ 1.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Waterworth (1990) ที่ระบุว่าส่วนประกอบทางโภชนาการหลัก ๆ ของโปรตีนเซลล์เดียว (SCP) บางชนิด โดยรวมมีโปรตีนหยาบสูงกว่ากากถั่วเหลืองคือรายีสต์ และสาหร่ายมีโปรตีนอยู่ระหว่าง 53–56% ในขณะที่ SCP จากแบคทีเรียมีโปรตีนอยู่ 74% มีไขมันอยู่ในช่วง 1–5% เยื่อใยใกล้เคียงกับกากถั่วเหลืองมีแคลเซียมต่ำ และฟอสฟอรัสสูงกว่ากากถั่วเหลืองคุณภาพของโปรตีนการย่อยได้ และสมดุลกรดอมิโนของ SCP ผันแปรไปอย่างกว้างขวางกับชนิดของจุลินทรีย์ และแม้แต่ในจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันคุณค่าของโปรตีนก็ยังผันแปรไปกับทั้งสกุล (genus) และชนิด(species) อีกด้วย และสอดคล้องกับการศึกษา GaniyuOboh (2006), Oboh and Akindahunsi (2003), Aro et al. (2008) และ Oboh and Elusiyan (2007) พบว่าปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังที่หมักโดยการเสริมจุลินทรีย์มีสูงกว่าการหมักโดยไม่ใช้จุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปนั้นไปเปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังไปเป็นโปรตีนในร่างกายของจุลินทรีย์ แต่ในขนะเดียวกันปริมาณ Crude fibre ในมันสำปะหลังที่หมักโดยไม่เสริมจุลินทรีย์นั้นต่ำกว่าการหมักโดยการเสริมจุลินทรีย์ และมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการหมักตามลำดับ เนื่องจากการหมักแบบธรรมดานั้นมีจุลินทรีย์ที่อาศัยในธรรมชาติอยู่หลายชนิดทำให้สามารถย่อยเยื่อใยในมันสำปะหลังได้ดีกว่า

6.5 สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังก่อนและหลังการหมัก ด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า วัตถุแห้งเยื่อใย NDF ADF ADL NDIN NDINCP ADIN ADINCP ของเปลือกมันสำปะหลังก่อน และหลังการหมักมีค่าใกล้เคียงกัน แต่พบว่าโปรตีนหยาบและไขมันของเปลือกมันสำปะหลังหมัก มีค่าสูงกว่าเปลือกมันสำปะหลังก่อนหมักอย่างชัดเจน ทั้งนี้เป็นเพราะราเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์ใช้น้ำตาลร่วมกับไนโตรเจนจากยูเรียในการเจริญทำให้ได้โปรตีนเซลล์เดียวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เปลือกมันสำปะหลังหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้น ถึงแม้จะยังมียูเรียเหลือจากการใช้ของยีสต์เล็กน้อยก็ตาม

บทที่ 7
ผลการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก

7.1 คำนำ

การหมักย่อยในกระเพาะหมักเป็นสิ่งที่สำคัญเพราะผลผลิตที่ได้จากการหมักย่อยนั้นจะถูกโคนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างผลผลิตและการดำรงชีวิตประจำวัน ซึ่งการหมักย่อยในกระเพาะหมักนั้นจะต้องอาศัยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยผลผลิตที่ได้มีหลายชนิด เช่น กรดไขมันระเหยได้ แอมโมเนีย ไนโตรเจน ก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และโปรตีนจุลินทรีย์ ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมักคือ อาหารและการหมักย่อยของจุลินทรีย์ Khampa et al., (2009) พบว่า การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยยีสต์นั้น ทำให้ค่า pH ในกระเพาะหมักอยู่ในสภาวะที่เกือบเป็นกลาง ซึ่งต่างจากอาหารที่ไม่ได้เสริมมันสำปะหลังที่หมักด้วยยีสต์ที่มีค่า pH ต่ำกว่า ซึ่งเสี่ยงกับสภาวะการเป็นกรดในกระเพาะที่จะทำให้เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกระเพาะอาหารได้ นอกจากนั้นค่า NH_3-N ยังมีสูงกว่าด้วยเช่นกัน ซึ่ง NH_3-N นี้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์เซลล์ และได้ปลดปล่อย VFA ออกมาภายนอกเซลล์อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม การให้อาหารที่มีส่วนผสมของมันสำปะหลังที่มีการหมักด้วยจุลินทรีย์นั้น มีปริมาณของ Urea nitrogen ในเลือดสูงซึ่งอาจทำให้เป็นพิษต่อร่างกาย ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก (rumen) เพื่อจะได้ทราบถึงระดับของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักที่เหมาะสมต่อการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในโค ซึ่งจะนำไปใช้เป็นอาหารโคที่ได้ประโยชน์สูงสุดต่อไป

7.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก

7.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

7.3.1 การจัดการโคเจาะกระเพาะสำหรับทดลองและการให้อาหาร

โคที่ใช้ในการทดลองเป็นโคเจาะกระเพาะลูกผสม (พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน ที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) และ (พันธุ์บราห์มัน ที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) จำนวนทั้งหมด 3 ตัว จัดกลุ่มโคแบบ 3 × 3 Latin Squares (Steel, and Torrie, 1980) โดยโคจะเลี้ยงแบบขังในคอกเดี่ยวตลอดเวลา โดยจะแยกออกเป็น 3 Treatments ตามการให้อาหารข้นคือ

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม โคจะได้รับอาหารข้นชนิดเม็ด 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มการทดลองที่ 1 โคจะได้รับอาหารข้นชนิดเม็ด 3.2 กิโลกรัม และทดแทนด้วยเปลือกมันสำปะหลังหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ คือ 0.8 กิโลกรัม ต่อตัวต่อวัน

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มการทดลองที่ 2 อาหารข้นชนิดเม็ด 2.4 กิโลกรัม และทดแทนด้วยเปลือกมันสำปะหลังหมัก 40 เปอร์เซ็นต์ คือ 1.6 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

ตารางที่ 7.1 การจัดกลุ่มทดลองโคเจาะกระเพาะ

P1		**P2**	**P3**
C1	T1	T2	T3
C2	T3	T1	T2
C3	T2	T3	T1

T = กลุ่มการทดลอง, P1= ช่วงการทดลอง และ C = โคทดลอง

อาหารข้น (Concentrate) ที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารข้นชนิดเม็ด (Pellet) ที่มีคุณค่าทางโภชนะ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 21เปอร์เซ็นต์ อาหารหยาบ (Roughage) ที่ใช้ในการทดลองคือ ฟางข้าววันละ 6 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ทุกกลุ่มการทดลอง วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 08.00 น. และ 16.00 น. และมีน้ำดื่มสะอาดใส่อ่างสำหรับให้โคกินตลอดเวลา

7.3.2 วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล

นำโคเจาะกระเพาะมาเลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเป็นอิสระต่อกัน 3 ตัว ในแบบการทดลอง 3 x 3 Latin squares โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง ๆ ละ 14 วัน ระยะปรับตัวของสัตว์ทดลอง 12 วัน เพื่อลดอิทธิพลในสัตว์ที่เกิดจากช่วงการทดลองก่อน และระยะทดลอง 2 วันโดยจะเก็บตัวอย่างในวันที่ 13 และ 14 ของการทดลอง โดยในระหว่างการทดลองมีการเก็บข้อมูลดังนี้

7.3.2.1 ระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ในกระเพาะหมัก

ทำการเปิดฝาส่วนที่ปิดกระเพาะหมักของโค (Cannula) ออก จากนั้นสุ่มเก็บของเหลวในกระเพาะหมักที่เวลา 0, 3 และ 6 โดยสุ่มเก็บจากหลายส่วนในกระเพาะหมักใส่บีกเกอร์ จากนั้นทำการวัดระดับความเป็นกรด-ด่างของของเหลวในกระเพาะหมักทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ซึ่งได้รับการปรับ (Calibrate) ด้วยการใช้ Buffers ที่ pH 7.0 และ pH 4.0 แล้ว

7.3.2.2 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในของเหลวจากกระเพาะหมัก (Rumen ammonia)

การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมัก (Rumen ammonia; mgNH_3-N/litre) ที่เวลา 0, 3 และ 6 โดยใช้หลอดทดลองที่มีฝาปิด (Test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย Deproteinising reagent (1

M H_2SO_4 ทำให้อิ่มตัวด้วย $MgSO_4$) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร หลังจากเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะหมักแล้ว ใช้กระบอกตวง ๆ ของเหลวจากกระเพาะหมักปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มี Deproteinising reagent อยู่ จากนั้นนำหลอดทดลองไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะส่วนของเหลวใส (Supernatant) ลงในหลอดทดลองขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาเกลียวให้สนิท นำไปเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -18°C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจนโดยวิธี Kjeldahl ต่อไป

7.3.2.3 การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids)

การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids) ที่เวลา 0, 3, และ 6 ใช้หลอดทดลองชนิดมีฝาจุก (Test tube with cap) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอลิก (6 N) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วนของเหลวจากกระเพาะหมัก 10 ส่วนต่อ 6 N HCl 1 ส่วน) เพื่อเก็บรักษาและเป็นการหยุดชะงักกิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ปิดฝาจุกให้แน่นก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดเอาของเหลวใสใส่ในขวด vial สีชา จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง

7.3.2.4 การเก็บตัวอย่างเลือด

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดในแต่ละช่วงการทดลองทั้ง 3 ช่วง โดยจะเก็บตัวอย่างในวันที่ 14 ของการทดลอง ที่เวลา 0, 3, และ 6 โดยใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณลำคอของโค ใช้เข็มเจาะเส้นเลือดดำของลำคอ เก็บตัวอย่างประมาณ 4 มิลลิลิตร ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเคลือบไว้ด้านในของหลอดเก็บตัวอย่างเลือด หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งเพื่อรอส่งไปวิเคราะห์ต่อไป

7.3.2.5 การย่อยสลายในกระเพาะหมัก

นำตัวอย่างเปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูง อาหารข้น และฟาง ที่บดไว้แล้วมาศึกษาการย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยนำถุงไนลอน (Nylon bag) ที่จะใช้ในการทดลองไปบ่มไปอบที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นแล้วนำไปชั่ง ชั่งตัวอย่างประมาณ 3-4 กรัม ใส่ลงในถุงไนล่อน มัดปากถุงไนลอนให้สนิทแล้วนำไปร้อยต่อกับเชือก นำไปบ่มในกระเพาะหมัก โดยให้เชือกอยู่ในส่วนที่ลึกที่สุดของกระเพาะหมักให้แต่ละถุงมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักห่างกันดังนี้ คือ 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 และ72 ชั่วโมง โดยแต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ ใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว

7.4 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่บันทึกจากการทดลองทั้งหมด เข้าประมวลผลและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลอง แบบ 3×3 Latin squares โดยใช้ Proc. GLM

(SAS, 1996) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีการของ (Steel and Torrie, 1980)

7.5 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

7.5.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 7.2 โดยเจาะกระเพาะทั้งสามกลุ่มการทดลองจะได้รับเปลือกมันสำปะหลังหมัก ที่มีคุณค่าทางโภชนะที่เหมือนกัน ซึ่งได้แก่ วัตถุแห้ง มีค่าเท่ากับ 94.32 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือเปลือกมันสำปะหลังหมักมีความชื้นเท่ากับ 5.68 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีค่าเท่ากับ 23.02 เปอร์เซ็นต์ ไขมันมีค่าเท่ากับ 2.65 เปอร์เซ็นต์ เถ้ามีค่าเท่ากับ 13.73 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่าเท่ากับ 18.95 เปอร์เซ็นต์ NDF มีค่าเท่ากับ 54.33 เปอร์เซ็นต์ ADF มีค่าเท่ากับ 45.39 เปอร์เซ็นต์ ADL มีค่าเท่ากับ 19.38 เปอร์เซ็นต์ NDIN มีค่าเท่ากับ 0.35 เปอร์เซ็นต์ NDINCP มีค่าเท่ากับ 2.21 เปอร์เซ็นต์ ADIN มีค่าเท่ากับ 0.18 เปอร์เซ็นต์ ADINCP มีค่าเท่ากับ 1.11 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสัตว์ทดลอง พบว่าเปลือกมันสำปะหลังหมักมีองค์ประกอบทางเคมี คือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนเท่ากับ 23.02 ซึ่งใกล้เคียงกับ Oboh (2006) ที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเท่ากับ 21.5 ไขมันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.65 ซึ่งใกล้เคียงกับ Oboh (2006) และ Oboh, and Akindahunsi (2003) ที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ไขมันเท่ากับ 2.1 และ 3.3 ตามลำดับ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เถ้าเท่ากับ 13.73 ซึ่งเป็นค่าที่สูงเนื่องจากเปลือกมันสำปะหลังที่นำมาทดลองนั้นไม่ได้ผ่านการล้างทำความสะอาด ทำให้มีการปนเปื้อนของดินและกรวดจึงจึงส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์เถ้าสูง เปอร์เซ็นต์เยื่อใยมีค่าเท่ากับ 18.95 ซึ่งสูงกว่า Oboh (2006) ที่มีการล้างทำความสะอาดและคัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือก จึงมีเปอร์เซ็นต์เยื่อใยเท่ากับ 11.7 ในขณะที่ตัวอย่างเปลือกมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองนั้นนำมาจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง จึงมีส่วนที่เป็นราก และ เง้าซึ่งเป็นส่วนที่มีเยื่อใยสูงปนมาด้วย

สำหรับอาหารข้นสำเร็จรูปพบว่า วัตถุแห้ง มีค่าเท่ากับ 92.17 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ มีความชื้นเท่ากับ 7.83 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีค่าเท่ากับ 21.83 เปอร์เซ็นต์ ไขมันมีค่าเท่ากับ 4.94 เปอร์เซ็นต์ เถ้ามีค่าเท่ากับ 12.45 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่าเท่ากับ 15.72 เปอร์เซ็นต์ NDF มีค่าเท่ากับ 36.58 เปอร์เซ็นต์ ADF มีค่าเท่ากับ 21.89 เปอร์เซ็นต์ ADL มีค่าเท่ากับ 6.21 เปอร์เซ็นต์ NDIN มีค่าเท่ากับ 0.96 เปอร์เซ็นต์ NDINCP มีค่าเท่ากับ 6.00 เปอร์เซ็นต์ ADIN มีค่าเท่ากับ 0.21 เปอร์เซ็นต์ ADINCP มีค่าเท่ากับ 1.29 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้น ในการทดลองนี้ใช้อาหารข้นชนิดเม็ดที่มีโปรตีนประมาณ 21เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้ใกล้เคียงกับอาหารทดแทนคือเปลือกมันสำปะหลังหมัก พบว่าองค์ประกอบทางเคมี คือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนเท่ากับ 21.83 เปอร์เซ็นต์ไขมันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.94 ซึ่งเป็นระดับที่ไม่ส่งผลต่อการย่อยเซลลูโลสในกระเพาะหมัก ที่ NRC (2001) แนะนำคือที่ระดับ

3เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่เกิน 5เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ พิมลทิพย์ จันทร์พานิชเจริญ (2546) ที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันในอาหารข้นเท่ากับ 4.97

สำหรับอาหารอาหารหยาบคือฟางข้าวพบว่า วัตถุแห้ง มีค่าเท่ากับ 92.08 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ มีความชื้นเท่ากับ 7.92 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีค่าเท่ากับ 1.34 เปอร์เซ็นต์ ไขมันมีค่าเท่ากับ 1.54 เปอร์เซ็นต์ เถ้ามีค่าเท่ากับ 15.84 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่าเท่ากับ 34.92 เปอร์เซ็นต์ NDF มีค่าเท่ากับ 73.58 เปอร์เซ็นต์ ADF มีค่าเท่ากับ 59.16 เปอร์เซ็นต์ ADL มีค่าเท่ากับ 10.44 เปอร์เซ็นต์ NDIN มีค่าเท่ากับ 0.15เปอร์เซ็นต์ NDINCP มีค่าเท่ากับ 0.95 เปอร์เซ็นต์ ADIN มีค่าเท่ากับ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ADINCP มีค่าเท่ากับ 0.99 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว พบว่ามีโปรตีนหยาบอยู่ 1.34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่า Wanapat et al. (1983) ที่รายงานว่า ฟางข้าวมีโปรตีนหยาบประมาณ 3-4 เปอร์เซ็นต์ และประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างในปริมาณที่สูง มีปริมาณของฟอสฟอรัสและแร่ธาตุที่จำเป็นอยู่ต่ำมาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว (Mean ± SD)

เปอร์เซ็นต์ Dry matter	เปลือกมันสำปะหลังหมัก	อาหารข้น 21% CP	ฟางข้าว
Dry matter	94.32±0.01	92.17±0.01	92.08±0.01
Crude protein	23.02±0.24	21.83±0.09	1.34±0.02
Crude fat	2.65±0.03	4.94±0.25	1.54±0.11
Ash	13.73±0.15	12.45±0.12	15.84±0.24
Crude fiber	18.95±0.23	15.72±0.12	34.92±0.21
NDF	54.33±0.04	36.58±0.08	73.58±0.04
ADF	45.39±0.14	21.89±0.21	59.16±0.15
ADL	9.38±0.02	6.21±0.04	10.44±0.03
NDIN	0.35±0.02	0.96±0.01	0.15±0.01
NDINCP	2.21±0.01	6.00±0.01	0.95±0.01
ADIN	0.18±0.01	0.21±0.01	0.16±0.01
ADINCP	1.11±0.01	1.29±0.02	0.99±0.02

หมายเหตุ: ADF = acid detergent fiber, ADICP = acid detergent insoluble crude protein, ADIN = acid detergent insoluble nitrogen, ADL = acid detergent lignin, NDF = neutral detergent fiber, NDIN = neutral detergent insoluble nitrogen, NDICP = neutral detergent insoluble crude protein

7.5.2 การศึกษาการย่อยสลายของวัตถุแห้งและการย่อยสลายของโปรตีน

พบว่าอัตราการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งและอัตราการย่อยสลายได้ของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางเมื่ออาหารมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้น วัตถุแห้งและโปรตีนของอาหารจะมีอัตราการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นตามเวลาที่บ่มอยู่ในกระเพาะหมัก โดย *dg*DM ของเปลือกมันสำปะหลังหมัก, อาหารข้นสำเร็จรูป และฟาง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 44.48, 59.51 และ 23.87 ตามลำดับ และอัตราการย่อยสลายได้ของโปรตีนของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.48, 52.69 และ 29.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7.4

เมื่อนำค่าองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าวมาคำนวณหาค่าโภชนะของการย่อยได้ทั้งหมด (TDN) พลังงานย่อยได้ (DE) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) และพลังงานสุทธิ (NE) ตามสมการของ NRC (2001) จะได้ค่าต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 7.6 ค่าโภชนะของการย่อยได้ทั้งหมดของของเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าวมีค่า เท่ากับ 45.50, 65.45 และ 37.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พลังงานการย่อยได้มีค่า

เท่ากับ 2.36, 2.67 และ 1.89 Mcal/kgDM ตามลำดับ ส่วนพลังงานใช้ประโยชน์ได้ มีค่าเท่ากับ 1.94, 2.25 และ 1.46 Mcal/kgDM ตามลำดับ และพลังงานสุทธิ มีค่าเท่ากับ 1.17, 1.39 และ 0.84 Mcal/kgDM ตามลำดับ

อัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้ง (dgDM) ในอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.51 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับ ณัฐนิตย์ ป่วนปาน (2550) และชิดชนก นวลฉิมพลี (2548) ที่รายงานไว้ที่ระดับ 60 และ 55.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ฟางข้าวสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 56.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ วันเลิศ พงษ์โปกุล (2549) ที่รายงานไว้ที่ระดับ 56.54 เปอร์เซ็นต์ อัตราการย่อยสลายของโปรตีน (dgCP) ในอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52.69 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าต่ำกว่า ณัฐนิตย์ ป่วนปาน (2550) และชิดชนก นวลฉิมพลี (2548) ที่รายงานไว้ที่ 65.3 และ 67.71 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีไปคำนวณหาค่าพลังงานประเภทต่าง ๆ ตามสมการของ NRC (2001) พบว่าเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว มีพลังงานในรูปของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (Total digestible nutrient, TDN_{1X}) เท่ากับ 38.08, 65.45 และ 37.76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ตารางที่ 7.3 คุณค่าทางพลังงานเปลือกมันสำปะหลังหมัก อาหารข้นสำเร็จรูป และฟางข้าว

	เปลือกมันสำปะหลังหมัก	**อาหารข้น**	**ฟางข้าว**
(TDN_{1X}เปอร์เซ็นต์)[1]	45.50	65.45	37.76
(DE_P; Mcal/kg)[2]	2.36	2.67	1.89
(ME_P; Mcal/kg)[3]	1.94	2.25	1.46
(NE_{LP}; Mcal/kg)[4]	1.17	1.39	0.84

หมายเหตุ :

[1] TDN_{1x}(เปอร์เซ็นต์) = tdNFC + tdCP = (tdFA x 25.25) + tdNDF – 7)

DE_{1x} = ((tdNFC/100) x 4.2) + ((tdNDF/100) x 4.2) x ((tdCP/100) x 5.6 + ((FA/100) x 9.4) – 0.3

[2] DE_P (Mcal/kg) = ((((TDN_{1x} – ((0.18 x TDN_{1x}) – 10.3)) x Intake)/ TDN_{1x}) x DE_{1x}

[3] ME_P (Mcal/kg) = (1.01 x (DE_p) – 0.45) + (0.0046 x (EE-3))

[4] NE_{LP} (Mcal/kg) = (0.703 x ME_P) – 0.19 , (EE>3เปอร์เซ็นต์)

[4] NE_{LP} (Mcal/kg) = (0.703 x ME_P) – 0.19) + ((0.097 x ME_P)/97) x (EE-30), (EE>3%)

ตารางที่ 7.4 การย่อยสลายของวัตถุแห้งในกระเพาะหมัก

วัตถุดิบ	วัตถุแห้ง								
	0 ชั่วโมง	2ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	dgDM
Degradability of DM					.....(เปอร์เซ็นต์).....				
อาหารข้น 21เปอร์เซ็นต์ CP	33.79	49.44	53.01	55.79	62.62	74.94	86.99	-	59.51
เปลือกมันสำปะหลังหมัก	23.46	36.96	43.07	46.02	49.49	53.96	58.38	-	44.48
ฟางข้าว	6.31	8.41	9.98	13.83	17.87	32.57	45.73	56.29	23.87

หมายเหตุ : dg = Effective dedradability of Dry matter

ตารางที่ 7.5 การย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก

วัตถุดิบ	วัตถุแห้ง								
	0 ชั่วโมง	2ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	dgCP
Degradability of CP					.....(เปอร์เซ็นต์).....				
อาหารข้น 21 เปอร์เซ็นต์ CP	33.78	46.10	48.14	48.21	53.83	64.46	74.29	-	52.69
เปลือกมันสำปะหลังหมัก	23.24	35.89	40.83	43.11	45.50	48.94	52.86	-	41.48

หมายเหตุ : dg = Effective degradability of crude protein

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.5.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของของเหลวในกระเพาะหมัก

การใช้เปลือกมันสำปะหลังหมัก ทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของของเหลวในกระเพาะหมัก ที่เวลาต่าง ๆ หลังให้อาหารคือ 0, 3 และ 6 ชั่วโมง ดังนี้ กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 7.33, 7.04 และ 7.28 กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 7.32, 7.06 และ 7.30 และในกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 7.24, 7.15 และ 7.19 ซึ่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ pH ในกระเพาะหมักของโค ดังตารางที่ 7.6

ในการทดลองครั้งนี้พบว่าระดับ (Power of H^+ gradient; pH) ที่ชั่วโมงต่าง ๆ หลังจากการให้อาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในชั่วโมงที่ 0 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมงที่ 3 และ 6 หลังจากการให้อาหาร โดยชั่วโมงที่ 3 พบว่ากลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับของ pH ที่สูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 และ กลุ่มควบคุม เนื่องจากกลุ่มการทดลองที่ 2 มีการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นสูงที่สุดคือ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปลือกมันสำปะหลังหมัก นั้นมีการตกค้างของยูเรียที่เหลือจากกระบวนการหมักซึ่งยูเรียนั้นมีคุณสมบัติเป็นเบสจึงส่งผลให้ระดับของ pH ในกระเพาะหมักสูงในขณะที่ชั่วโมงที่ 6 พบว่า กลุ่มการทดลองที่ 1 มีระดับของ pH ที่สูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในกลุ่มการทดลองที่ 2 นั้นมีปริมาณยูเรียอยู่สูงซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่จุลินทรีย์สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้มีการสังเคราะห์เซลล์ของจุลินทรีย์ได้สูง ส่งผลให้ได้ผลผลิตคือกรดไขมันระเหยได้ซึ่งมีสภาพเป็นกรด โดยปัจจัยที่สำคัญและมีผลต่อระดับ pH ในกระเพาะหมักเป็นอย่างมากนั้นคือ ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids, VFAs) ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากการหมักย่อยอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยกรดไขมันระเหยได้เป็นกรดไขมันที่ละลายในน้ำได้ (Lipid soluble compounds) มีคุณสมบัติในการจับปล่อยโปรตอน (H^+) (Forbes, and France, 1993) แต่ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ค่า pH จะมีผลกระทบต่อทั้งชนิด และจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เนื่องจากมีความสัมพันธ์ต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย (Moat, and Foster, 1995) ในการทดลองครั้งนี้พบว่าระดับ pH ไม่มีผลต่อ Cellulolytic Bacteria และ Protozoa แต่มีผลต่อ Proteolytic Bacteria ชั่วโมงที่ 6 หลังจากการให้อาหาร การที่จำนวนประชากรของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจาก ทุกกลุ่มการทดลองมีระดับ pH สูงกว่าค่าที่เหมาะสม ฉลอง วิชิราภากร (2541) ได้รายงานว่าสภาพภายในกระเพาะหมักที่มีความเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มาก คือ มี pH อยู่ระหว่าง 5.5-7.0 อุณหภูมิเฉลี่ย 39-40°C

ตารางที่ 7.6 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) และยูเรียในกระแสเลือด (BUN) ภายในกระเพาะหมักที่เวลาต่าง ๆ หลังการให้อาหาร

ที่เวลาหลังการให้อาหาร (ชั่วโมง)	Control (T1)	T2	T3	SEM	P-value
pH					
Hour 0	7.33	7.32	7.24	0.031	0.15
Hour 3	7.04[b]	7.06[b]	7.15[a]	0.008	0.01
Hour 6	7.28[ab]	7.30[a]	7.19[b]	0.009	0.01
NH_3-N[2]	.....(mg/l).....				
Hour 0	38.19	39.43	42.17	1.416	0.78
Hour 3	50.19	48.47	53.31	1.570	0.43
Hour 6	39.42	31.88	36.53	2.526	0.69
BUN	.....(mg/dl).....				
Hour 0	14.43	16.33	16.60	0.183	0.08
Hour 3	18.47	19.53	19.73	0.385	0.18
Hour 6	15.30[b]	18.63[a]	18.63[a]	0.137	0.03

หมายเหตุ : SEM = standard error of the mean

[a,b] ที่กำกับอยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

T2 = กลุ่มการทดลองที่ 1 T3 = กลุ่มการทดลองที่ 2

7.5.4 ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ของของเหลวในกระเพาะหมัก

จากการศึกษาทดลองการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักในโคเจาะกระเพาะที่ใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักที่เวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงหลังจากการให้อาหาร ดังนี้ กลุ่มควบคุม มีระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักเท่ากับ 38.19, 39.43 และ 42.17 mg/l กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 50.19, 48.47 และ 53.31 mg/l กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 39.42, 31.88 และ 36.53 mg/l หลังจากให้อาหารที่ระยะเวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ ดังตารางที่ 7.6

แอมโมเนียไนโตรเจนนับเป็นผลผลิตหนึ่งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักโดยเกิดจากการย่อยสลายของโปรตีนในอาหาร จุลินทรีย์โปรตีน และ

สารประกอบ NPN (Non protein nitrogen) ความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจนในกระเพาะหมักนั้นมีความผันแปร ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระดับการให้อาหาร ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนในอาหาร แหล่งของคาร์โบไฮเดรทที่มีและแหล่งของแร่ธาตุ ความถี่ของการให้อาหาร (เมธา วรรณพัฒน์, 2533) โดยระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนในการทดลองครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก การกินได้ของวัตถุแห้งรวม และการกินได้ของโปรตีนรวม ของโคแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน Satter and Slyter (1974) แนะนำไว้ว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนที่เหมาะสมในกระเพาะหมักนั้น ควรจะอยู่ในระดับที่ทำให้จุลินทรีย์ใน กระเพาะหมักเจริญเติบโตดีที่สุดและมีการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูงที่สุด คืออยู่ในช่วง 50-80 มิลลิกรัม/ลิตร ในการทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่า Satter and Slyter (1974) ในชั่วโมงที่ 0 และ 6 หลังการให้อาหาร แต่พบว่าชั่วโมงที่ 3 หลังการให้อาหารแอมโมเนียไนโตรเจนอยู่ในระดับที่เหมาะสมคือ 48.47 - 53.3 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจากเป็นช่วงที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนในอาหารโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ทำให้ได้ผลผลิต คือ แอมโมเนียไนโตรเจน

7.5.5 ความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือด (BUN)

จากการศึกษาทดลองการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือดในโคเจาะกระเพาะที่ใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือด ที่เวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงหลังจากการให้อาหารดังนี้ กลุ่มควบคุม มีความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือด เท่ากับ 14.43, 16.47 และ 15.30 mg/dl กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 16.33, 19.53 และ 18.63 mg/dl กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 16.60, 19.73 และ 18.63 mg/dl หลังจากให้อาหารที่ระยะเวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือด ดังตารางที่ 7.6

ยูเรีย เป็นสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อทดแทนโปรตีน ซึ่งทำให้ต้นทุนต่ำลง ส่วนใหญ่จะถูกนำมาใช้เพื่อปรุงแต่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีราคาถูกกว่าวัตถุดิบประเภทโปรตีน(Chalmers, and White, 1969) สัตว์เคี้ยวเอื้องจะสามารถนำยูเรียไปใช้เพื่อผลิตโปรตีนที่ร่างกายต้องการได้ถึง 40เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามถ้าใช้ไม่ถูกต้องแล้วอาจจะทำให้เกิดการเป็นพิษได้ (Osweiler, Carson, and Buck, 1985) สารยูเรียเมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปแล้วจะถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารโดย enzyme urease ซึ่งจะได้ก๊าซแอมโมเนียและ CO_2 การเกิดพิษของยูเรียจะเกิดขึ้นได้เมื่อก๊าซแอมโมเนียในรูปของ NH_3-N ในเลือดสูงกว่าปกติ (David, and Robert, 1959 และ Lewis, 1960) ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ชั่วโมงที่ 0 และ 3 แต่ที่ชั่วโมงที่ 6 พบว่ากลุ่มการทดลองที่ 2 และกลุ่มการทดลองที่ 1 ความเข้มข้นของ BUN สูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีความเข้มข้นของ BUN สูงกว่า Khampa, Chaowarat,

Singhalert and Wanapat (2009) ที่รายงานความเข้มข้นของ BUN ในโคที่ได้รับมันสำปะหลังหมักยีสต์ คือ 13.4 mg/dl ซึ่งความเข้มข้น BUN นั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของ NH_3-N ในกระเพาะหมักที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด

7.5.6 ปริมาณการกินได้ของโคทดลอง

จากการทดลองปริมาณการกินได้โภชนะของโคทดลอง เมื่อเปรียบเทียบตามกลุ่มการทดลองที่มีการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 7.6 พบว่าปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของเปลือกมันสำปะหลังหมักมีค่าเฉลี่ยเท่า 0.00, 0.75 และ 1.50 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อ/ตัว/วัน ตามลำดับ ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.68, 2.94 และ 2.21กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารหยาบ(ฟางข้าว)มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.52 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ทั้งสามกลุ่มการทดลอง ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารรวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.20, 9.22 และ 9.23 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ และปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อน้ำหนักตัว (g/kgW$^{0.75}$) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 110.40, 111.90 และ 110.48g/kgW$^{0.75}$ ตามลำดับ

ปริมาณการกินได้โปรตีนของเปลือกมันสำปะหลังหมักมีค่าเฉลี่ยเท่า 0.00, 173.13 และ 346.26กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 803.27, 642.62 และ 481.96 กรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ ปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารหยาบ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 74.08 กรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ทั้งสามกลุ่มการทดลอง ปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 877.35, 889.83 และ 902.30 กรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน และปริมาณการกินได้โปรตีนต่อน้ำหนักตัว (g/kgW$^{0.75}$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.53, 10.80 และ 10.80g/kgW$^{0.75}$ ตามลำดับ

ปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิต่อตัวต่อวัน พบว่าปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิจากเปลือกมันสำปะหลังหมักมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.00, 0.82และ 1.64 Mcal/ตัว/วัน ปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิจากอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.35, 4.28 และ 3.21 Mcal/ตัว/วัน ตามลำดับ ปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิจากอาหารหยาบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.54 Mcal/ตัว/วัน ทั้งสามกลุ่มทดลอง ปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิจากอาหารรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.90, 11.65 และ 11.40 Mcal/ตัว/วัน ตามลำดับ และปริมาณการกินได้พลังงานสุทธิต่อน้ำหนักตัว (g/kgW$^{0.75}$) ทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.12 g/kgW$^{0.75}$

ปริมาณการกินได้ของโคเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการให้ผลผลิตของทั้งเนื้อและนม แต่การทดลองในครั้งนี้จัดให้โคในแต่ละกลุ่มการทดลองได้รับอาหารที่ใกล้เคียงกันทั้งอาหารข้น และอาหารหยาบ เนื่องจากต้องการศึกษาระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ของการใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยให้โคทดลองได้รับอาหาร

ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุแห้งของน้ำหนักตัว ซึ่งเป็นปริมาณที่โคใช้ในการดำรงชีพ ดังแสดงในตารางที่ 7.7

ตารางที่ 7.7 ผลการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นต่อปริมาณการกินได้

ปริมาณการกินได้	**Control (T1)**	**T2**	**T3**
วัตถุแห้ง		**(KgDM/d)**	
เปลือกมันสำปะหลังหมัก	0.00	0.75	1.50
อาหารข้น	3.68	2.94	2.21
อาหารหยาบ	5.52	5.52	5.52
รวม	9.20	9.22	9.23
g/Kg $W^{0.75}$	110.40	111.90	110.48
ปริมาณการกินได้		**(g/d)**	
โปรตีน			
เปลือกมันสำปะหลังหมัก	0.00	173.13	346.26
อาหารข้น	803.27	642.62	481.96
อาหารหยาบ	74.08	74.08	74.08
รวม	877.35	889.83	902.30
g/Kg $W^{0.75}$	10.53	10.80	10.80
ปริมาณการกินได้		**(Mcal/d)**	
พลังงานสุทธิ			
เปลือกมันสำปะหลังหมัก	0.00	0.82	1.64
อาหารข้น	5.35	4.28	3.21
อาหารหยาบ	5.05	5.05	5.05
รวม	11.90	11.65	11.40
Mcal/Kg $W^{0.75}$	0.14	0.14	0.14

หมายเหตุ: T2 = กลุ่มการทดลองที่ 1 T3 = กลุ่มการทดลองที่ 2

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.5.7 ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (Volatille fatty acid; VFA) ในกระเพาะหมัก

ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ของของเหลวในกระเพาะหมัก ซึ่งจะแสดงถึงปริมาณของกรดอะซิติก กรดโพรพิออนิก กรดบิวทีริก และอัตราส่วนของอะซิติกต่อโพรพิออนิก ที่เวลาต่าง ๆ เมื่อมีการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมัก ทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40เปอร์เซ็นต์ หลังจากให้อาหารเป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมง แสดงไว้ในตารางที่ 7.8 พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกในกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 66.27, 65.68 และ 64.80 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 73.18, 70.59 และ 69.27 mol/100 mol และในกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 68.93, 68.91 และ 69.89 mol/100 mol

ระดับความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกของของเหลวจากกระเพาะหมัก ในกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 24.59, 25.78 และ 23.60 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 16.03, 18.42 และ 18.89 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 19.40,18.75 และ 19.59 mol/100 mol ในชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังจากการให้อาหารตามลำดับ

ระดับความเข้มข้นของบิวทีริกของของเหลวในกระเพาะหมัก กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 9.14, 8.54 และ11.52 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 10.79, 11.32 และ 11.84 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 11.67, 12.33 และ 10.52 mol/100 mol ระดับของอัตราส่วนระหว่างอะซิติกและโพรพิโอนิก ในกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 2.7, 2.6 และ 2.8 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 4.6, 3.9 และ 3.7 mol/100 mol กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 3.6, 3.7 และ 3.6 mol/100 mol ในชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังจากการให้อาหาร

กรดไขมันระเหยได้เป็นผลผลิตจากการหมักย่อยอาหารโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยกรดไขมันระเหยได้จะถูกขนส่งจากกระเพาะหมัก 2 ทางคือ การดูดซึมผ่านผิวผนังชั้น Epithelium ของกระเพาะหมักและรวมไปกับของเหลวจากกระเพาะหมักผ่านทาง Reticulo-omasal oifice (Peters, Shen, and Chester, 1990) ซึ่งพบว่ากรดไขมันระเหยได้ที่ถูกใช้เป็นพลังงานของโคนมถึง 80เปอร์เซ็นต์ (Bergman, 1990) กรดไขมันระเหยได้มีสภาวะเป็นกรด ถ้าในกระเพาะหมักนั้นมีปริมาณของกรดไขมันระเหยได้มากเกินไปนั้นจะทำให้ pH ในกระเพาะหมักลดลงและการเกิด Rumen acidosis (Barker et al., 1995) จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ คือ กรดอะซิติก กรดโพรพิออนิก กรดบิวทีริก และอัตราส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิออนิก ที่ชั่วโมง 0, 3 และ 6 หลังการให้อาหาร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ 20เปอร์เซ็นต์ และ 40เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ ซึ่งระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกมีค่าอยู่ที่ระหว่าง 64.80-73.18 mol/100mol มีค่าใกล้เคียงกับ Khampa, et al. (2009) คือที่ระดับ 66.8 - 72.4 mol/100mol กรดโพรพิออนิกมีค่าอยู่ที่ระหว่าง 16.03-25.78 mol/100mol มีค่าใกล้เคียง Khampa, et al. (2009) คือที่ระดับ 17.8-23.9 mol/100mol กรดบิวทีริกมีค่าอยู่ที่ระหว่าง 8.54-12.33 mol/100mol อยู่ในช่วงเดียวกันกับกับ Khampa, et al. (2009) คือที่ระดับ 9.3-9.9 mol/100mol และอัตราส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิออนิกมีค่าอยู่ระหว่าง 2.6-4.6 ปริมาณของกรด

ไขมันระเหยได้จะมีผลต่อการให้ผลผลิตของโค คือ กรดอะซิติกและกรดบิวทิริกจะมีผลต่อปริมาณไขมันในน้ำนม ส่วนกรดโพรพิออนิกนั้นจะมีผลต่อปริมาณผลผลิตของโคนม (Gransworthy, 1988)

ตารางที่ 7.8 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (Volatille fatty acid;VFA)

ที่เวลาหลังการให้อาหาร (ชั่วโมง)	Control(T1)	T2	T3	SEM	P-value
Acetate;C2	.....(mol/100mol).....				
Hour 0	66.27	73.18	68.93	0.868	0.39
Hour 3	65.68	70.59	68.91	1.020	0.42
Hour 6	64.80	69.27	69.89	1.622	0.49
Propionate;C3	.....(mol/100mol).....				
Hour 0	24.59	16.03	19.40	0.881	0.28
Hour 3	25.78	18.42	18.75	0.941	0.31
Hour 6	23.60	18.89	19.59	0.937	0.56
Butyrate;C4	.....(mol/100mol).....				
Hour 0	9.14	10.79	11.67	0.306	0.12
Hour 3	8.54	11.32	12.33	0.300	0.10
Hour 6	11.52	11.84	10.52	0.444	0.42
C2:C3					
Hour 0	2.7	4.6	3.6	0.102	0.09
Hour 3	2.6	3.9	3.7	0.156	0.30
Hour 6	2.8	3.7	3.6	0.105	0.23

หมายเหตุ : SEM = standard error of the mean, T2=กลุ่มการทดลองที่ 1 T3=กลุ่มการทดลองที่ 2

[a,b] ที่กำกับอยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.5.8 จุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

จำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งการทดลองในครั้งนี้จะแสดงถึงจำนวนของแบคทีเรียในกลุ่มของ Cellulolytic Bacteria และ Proteolytic Bacteria รวมไปถึงจำนวนของ Protozoa เมื่อมีการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาต่าง ๆ คือ 0, 3 และ 6 ชั่วโมง หลังจากให้อาหารแสดงไว้ในตารางที่ 7.9 พบว่าจำนวนของ Cellulolytic Bacteria ในกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 3.63 $x10^9$, 4.57 $x10^9$ และ 5.33 $x10^9$ cell/ml กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 3.83 x 10^9, 4.67 x 10^9 และ 5.97 x 10^9 cell/ml และในกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 3.93 $x10^9$, 4.67 $x10^9$ และ 5.90 $x10^9$ cell/ml

Cellulolytic Bacteria เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ cellulose โดยมีการผลิตน้ำย่อยชนิด extra-cellular enzymes ซึ่งสามารถเข้าย่อย cellulose และ hemicellulose น้ำย่อยจะเป็นชนิด non-specific-1, 4-glucose ซึ่งจะย่อยสลายได้ anhydroglucose, oligosaccharides, cellulobiose และ glucose ตามลำดับเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการย่อย cellulose และ hemicelluloses จึงมากที่สุดในกระเพาะหมักของสัตว์ที่ได้รับอาหารหยาบเป็นหลัก ซึ่งการทดทองในครั้งนี้พบว่าจำนวนของ Cellulolytic Bacteria ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องจากโคทดลองได้รับอาหารหยาบคือฟางข้าวในปริมาณที่เท่ากันทุกกลุ่ม

จำนวนของ Proteolytic Bacteria ในกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 2.07 $x10^8$, 4.47 $x10^8$ และ 4.50 $x10^8$ cell/ml กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 2.53 $x10^8$, 4.60 $x10^8$ และ 4.27 $x10^8$ cell/ml และในกลุ่มการทดลอง ที่ 2 มีค่าเท่ากับ 2.37 $x10^8$, 4.50 $x10^8$ และ 3.80 $x10^8$ cell/ml ซึ่งพบว่าจำนวนของ Proteolytic Bacteria ในกระเพาะหมักของโคทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในชั่วโมงที่ 6 หลังจากการให้อาหาร ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มการทดลองที่ 2 นั้นมีปริมาณยูเรียอยู่สูงซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่จุลินทรีย์สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้ Proteolytic Bacteria มีการเจริญได้ดีในช่วงชั่วโมงที่ 3 หลังการให้อาหาร แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก โดยการผลิต extracellular enzyme เข้าย่อยสลาย ระดับความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมกับการเข้าย่อยสลายโปรตีนค่า pH จะอยู่ระหว่าง 6.0–7.0 โปรตีนจะถูก hydrolyse ได้ peptides และ amino acid ต่อจากนั้นจะมีการผลิต ammonia และ organic acid โดยขบวนการ deamination ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของ microbial protein จะถูกสังเคราะห์จาก ammonia และ 20 เปอร์เซ็นต์ จะสังเคราะห์จาก amino acid โดยตรง ซึ่งการทดทองในครั้งนี้พบว่าจำนวนของ Proteolytic Bacteria ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องจากโคทดลองได้รับอาหารหยาบคือฟางข้าวในปริมาณที่เท่ากันทุกกลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เป็นผลผลิตจากการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์ Proteolytic Bacteria ที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากโคทดลองทุกกลุ่มมีการกินได้ของโปรตีนที่ใกล้เคียงกัน

จำนวนของ Protozoa ในกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 3.70 × 10^5, 4.67 × 10^5 และ 4.83 × 10^5 cell/ml กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 2.50 ×10^5, 4.33 × 10^5 และ 4.33 × 10^5 cell/ml

และในกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 3.47×10^5, 4.67×10^5 และ 4.50×10^5 cell/ml ซึ่งพบว่าจำนวนของ Protozoa ในกระเพาะหมักของโคทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในชั่วโมงที่ 0หลังจากการให้อาหาร

Protozoa ส่วนใหญ่จะกินแบคทีเรียเป็นอาหาร โดยแบคทีเรียจะอยู่ในฐานะผู้ถูกล่า และ Protozoa จะอยู่ในฐานะผู้ล่า เมื่อแบคทีเรียถูก Protozoa กินจนเหลือน้อยจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยอาหาร และการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ลดลง (Eddie and Mann, 1970) ซึ่งการทดทองในครั้งนี้พบว่าจำนวนของ Protozoa ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จึงไม่มีผลต่อจำนวนของแบคทีเรียสำหรับประโยชน์ของ Protozoa คือ จะช่วยรักษากระบวนการหมัก การย่อยสลายเยื่อใย และแป้งภายในกระเพาะรูเมน ป้องกันการเกิดกรดในกระเพาะรูเมนเนื่องจากแป้งถูกแบคทีเรียหมักอย่างรวดเร็ว (Dehority, 1993)

ตารางที่ 7.9 ผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักทดแทนอาหารข้น ต่อจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

Direct count rumen microbes	Control (T1)	T2	T3	SEM	P-value
Bacteria (CFU/ml)					
Cellulolytic, $\times 10^9$					
Hour 0	3.63	3.83	3.93	0.770	0.32
Hour 3	4.57	4.67	4.67	1.262	0.74
Hour 6	5.33	5.97	5.90	1.732	0.72
Proteolytic, $\times 10^8$					
Hour 0	2.07	2.53	2.37	0.444	0.10
Hour 3	4.47	4.60	4.50	0.868	0.63
Hour 6	4.50^a	4.27^a	3.80^b	0.294	0.03
Protozoa, $\times 10^3$ (Cell/ml)					
Hour 0	3.70	2.50	3.47	0.728	0.09
Hour 3	4.67	4.33	4.67	0.676	0.40
Hour 6	4.83	4.33	4.50	0.968	0.51

หมายเหตุ : SEM = standard error of the mean

T2=กลุ่มการทดลองที่ 1 T3=กลุ่มการทดลองที่ 2

7.6 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของการใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมัก ในโคเจาะกระเพาะลูกผสม (พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน ที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์บรามัน ที่มีระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) จำนวนทั้งหมด 3 ตัว จัดกลุ่มโคแบบ 3 × 3 Latin Squares สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1.การใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 0, 20 และ 40เ ปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (Volatile fatty acids, VFAs) จุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Cellulolytic Bacteria, Proteolytic Bacteria และ Protozoa)

2.การใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 40เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ระดับ pH สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ชั่วโมงที่ 3 หลังการกินอาหาร การใช้เปลือกมันสำปะหลังโปรตีนสูงทดแทนอาหารข้นที่ระดับ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปริมาณ BUN สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ชั่วโมงที่ 6 หลังการกินอาหาร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด,เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, วัชรี เลิศมงคล, จำลอง เจียมจำนรรจา,ปิยะดวงพัตรา, เอ็จ สโรบล, ปิยะวุฒิ พูนสงวน, เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, และวิจารณ์ วิชชุกิจ.(2542). การแปรรูปและการใช้ประโยชน์มันสำปะหลัง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 21 น.

ฉลอง วิชิราภากร. (2541). โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น. ภาควิชาสัตว์ศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ชวนิศนดากร วรวรรณ, ม.ร.ว. (2500) หลักการให้อาหารสัตว์. หนังสือประกอบการบรรยาย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชิดชนก นวลฉิมพลี. (2548). ผลการเสริมแร่ธาตุจากหินภูเขาไฟในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการผสมติด ของโคนมระยะโคสาว และการให้ผลผลิตน้ำนมในโคนมระยะกลางการให้นม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ณัฐนิตย์ ป่วนปาน. (2550). การใช้เปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองทดแทนข้าวโพดบดในอาหารโคนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ทวีพร พูนดุสิต. (2544). การเปรียบเทียบนิเวศน์วิทยาในกระเพาะหมักและสมรรถภาพการขุนของโคนมโคเนื้อและกระบือเพศผู้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญล้อม ชีวะอีสระกุล. (2541). โภชนศาสตร์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 6. เชียงใหม่: ธนบรรณการพิมพ์.

พิมลทิพย์ จันทร์พานิชเจริญ. (2546). การใช้ต้นอ้อยหมักและต้นอ้อยสดเป็นแหล่งอาหารหยาบสำหรับโคนมในช่วงฤดูแล้ง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พีรพจน์ นิติพจน์ และ กฤตพล สมมาตย์. 2546. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องของกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลังโดยวิธี In vitro gas production technique. การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546. 27-28 มกราคม 2546 คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. (2533). โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง

วันเลิศ พงษ์โปกุล. (2549). การเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวโดยการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในการผลิตโคเนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2542). เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาโภชนศาสตร์เคี้ยวเอื้อง. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ศูนย์ข้อมูลการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. 2550. หลักการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.tapiocafeed.com/use/u01.html (27 ตุลาคม 2550)

สมเจต ใจภัคดี. (2530). การศึกษาวิธีการหมักมันสำปะหลัง และการนำมันสำปะหลังหมักมาใช้ในอาหารไก่กระทงและนกทา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2553

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีเพาะปลูก 2556. แหล่งที่มา : http://www.oae.go.th/statistic/yearbook/2004/, (2 มีนาคม 2556)

Allen, M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83: 1958-1624.

Andrews, S. M., Tyrrell, H. F., Reynolds, C. K., and Erdman, M. D. (1991). Net energy for lactation of calcium soaps of long-chain fatty acids for cows fed silage-based diets. J. Dairy Sci. 74: 2588.

Antai, S. P., and Mbongo, P. M. (1994).Utilization of cassava peel as substrate for crude protein formation.Plant Foods for Human Nutr. 46: 345-351.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15 th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C., p. 1,879.

Aro, S. O., Aletor, V. A., Tewe, O. O., Fajemisin, A. N., Usifo, B., and Adesida, J. A. (2008). Studies on the nutritional potentials of cassava tuber wastes (CTW) collected from a factory. Federal University of Technology, Akure, Nigeria.(2008, May) : 86-92.

Badbury, J.H. (2004). Wetting method to reduce cyanide content of cassava flour Cassava cyanide and diseases.Network News. 4: 3-4.

Balagopalan. C., Padmaja, G., and George, M. (2002). Improving the nutritional value of cassava products using microbial techniques. FAO-Corporate Document Repository. Anim. Prod. Health. Paper 95 2002

Barker, I. K., Van Dreumel, A. A., and Palmer, N. (1995). The alimentary system. Page 1 in Pathology of Domestic Animals. 4th.ed. Vol 2. K. V. F. Jubb, P. C. Kennedy, N. Palmer, ed. Academic Press, San Diego, CA.

Beck, P. W., and. Handwerker, H. O. (1974).Bradykinin and serotonin effects on various types of cutaneous nerve fibres.Pflügers Archiv. 347(3), 209-222.

Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol. Rev. 70: 567-590.

Chalmers, M. I., and White, F. (1969).Urea and other substitutes for natural protein sources.Lecture given at the symposium of the European Feed Industry. F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd, Basle, Switzerland.

Charoensiri, K., De-eknmkul, C., Assavaning, A., Varavinit, S. and Bhumiratana, A. (1990). Biomass protein produce from cassava using Cephalosporium eichhorniae 152 grown in an air-lift fermentor. Microbial. Utiliz. Ren. Res. 7: 330-335.

Conrad, H. R., Weiss, W. P., Odwongo, W. O., and Shockey, W. L. (1984). Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. J. Dairy Sci. 67: 427-437.

Crampton, E. W., Lloy, L. E., and Mackay, V. G. (1957). The calorie value of TDN. J. Anim. Sci. 16: 541-552.

Daubresse, P., Ntibashirwa, S., Gheysen, A. and Meyer, J.A. (1987). A process for protein enrichment of cassava by solid substrate fermentation in rural conditions. Biotechnol. Bioeng. XXIX: 962-968.

Davis, G. K., and Roberts, H. F. (1959). Urea toxicity in cattle. Fla. Agr. Exp.sta. Bull.611.

Dehority, B. A. (1993). Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa. Ohio Agricultural Research and Development Center. Department of Animal Science. Ohio State University, Wooster, Ohio CRC Press, Florida, U. S. A.120 p.

Eadie, J. M,. and S. O. Mann. (1970). Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Oriel Press, U. S. A.

Essers, A. J. (1994).Making safe flour from bitter cassava by indigenous solid substrate fermentation.Acta Horticultural. 375: 217-224.

Fonnesbeck, P. V., Wardeh, M. F., and Harris, L. E. (1984). Mathematical models for estimating energy and protein utilization of feedstuffs. Utah Agricultural Eperimental Station Bulletin. No. 508.

Forbes, J. M., and France, J. (1993). Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. Cambridge:The University Press. UK.

Frydrych, Z., Heger, J., and Fronek, P. (1983). Evaluation of optimum lysine and threonine supplements to a wheat and barley-based diet in rats. Anim. Feed Sci. Technol.8(3), 163-176.

Gaden, R. S. (1974).Macrolepidobtera of Fiji and Rotuma a taxonomic and biogeographic study. Doctoral dissertation. University of Durham.

GaniyuOboh (2006). Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of Saccharomyces cerevisae and Lactobacillus spp solid media fermentation techniques. Elect. J. Biotechnol. ISSN: 0717-3458

Garnsworthy, P. C. (1988). Nutrition and Lactation in the Diary Cow. Anchor-Brender Butter worths Press. Nottingham. England.

Garrett, W. N. (1980). Energy utilization by growing cattle as determined by 72 comparative slaughter experiments. Energy Metabolism. Proc. Symp. 26: 3-7.

Georing, H. K., and Van Soest, P. J. (1970). Forage Fiber Analysis. Agricultural Handbook, Agricultural Research Council.Jacket No. 379.Washington, D. C. USDA.

Hungate, R. E. (1966).The Rumen and Its Microbs.USA. Acdemic Press,New York.U. S. A.533 p.

Iyayi, E.A., and Losel, D. M. (2001). Changes in carbohydrate fractions of cassava peel following fungal solid state fermentation. African.J. Food Techno. 6 (3): 101-103.

Jackson, M. J. (1997). Review article: The alkali treatment of straws. Anim. Feed Sci. 2: 105-130.

Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and Wanapat, M. (2009b). Supplementation of Yeast Fermented Cassava Chip (YFCC) as a Replacement Concentrate and Ruzi Grass on Rumen Ecology in Native Cattle. Pakistan J. Nutri. 8 (5): 597-600.

Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and Wanapat,M. (2009a). Supplementation of Malate and Yeast in Concentrate Containing High Cassava Chip on Rumen Ecology in Dairy Steers. Pakistan J. Nutri. 8 (5): 592-596.

Knorst, M. T., Neubert, R., Wohlrab, W. (1997). Analytical methods for measuring urea in pharmaceutical formulations.J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 15: 1627–1632.

Lewis, D. (1960). Ammonia toxicity in the ruminant. J. Agr. Sci. 55:111.

Manynard, L. A., Loosli, J. K., Hintz, H. F., and Warner, R. G. (1979). Animal Nutrition. 7th. McGraw-Hill, Inc., New York, NY.

Mikami, Y., Gregory, K. F., Levadoux, W. L., Balagopalan, C., and Whitwell, S. T. (1982). Factors affecting yield and protein production by Cephalosporium eichhorniae. Appl. Environ. Microbiol. 43: 403-411.

Moat, A. G., and Foster, J. W. (1995). Microbial Physiology. Wiley-Liss Pulisher. New York. USA. 580 p.

Moe, P. W. and Tyrrell, H. F. (1974). Observation on the efficiency of utilization on metabolizable energy for meat and milk production. P.27 Proc. Univ. of Notthingham.

Moe. P. W., Tyrrell, H. F., and Flatt, W. P. (1971). Energetic of body tissue metabolizable. J. Dairy Sci. 54:548-559

National Reseach Council. (1996). Nutrients Requirements of Beef Cattle. 6thEd. National academy press. Washington D.C.

National Reseach Council. (2001). Nutrients Requirements of Dairy Cattle. 7thEd. National academy press. Washington D.C

National Research Council. (1988). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 4thEd. National Academic Press. Washington D. C. 157 p.

Oboh G, Akindahunsi AA (2003). Chemical changes in cassava peels fermented with mixed culture of Aspergillusnigerand two species of Lactobacillus integrated bio-system.. Appl. Trop. Agric. 8: 63-68.

Oboh, G. (2006). Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of Saccharomyces cerevisae and Lactobacillus spp solid media fermentation techniques. Elect. J. Biotechnol. ISSN: 0717-3458

Oboh, G., and Akindahunsi, A. A. (2003). Chemical changes in cassava peels fermented with mixed culture of Aspergillus niger and two species of Lactobacillus integrated bio-system. Appl. Trop. Agric. 8: 63-68.

Oboh,G., and Elusiyan,C. A. (2007). Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungifermented cassava flour produced from low- and medium-cyanide variety of cassava tubers.African J. Biotechnology.2150-2157.

Odukwe, C. A., (1994). The feeding value of composite cassava root meal for broiler chicks. Ph.D. Thesis. University of Nigeria, Nsukka, Nigeria.

Ofuya, C.O., and Nwajiuba, C.J. (1990). Microbial degradation and utilization of cassava peel. World J. Microbial. Biotech. 6: 144-148.

Okeke, G. C., Obioha, F. C., and Udogu, A. E (1985).Comparison of detoxification of cassava-borne cyanide.Nutr. Rep. Int. 32: 139-147.

Osweiler, G. D., Carson, T. L. and Buck, W. B. (1985). Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. 3rd ed. Dubuque, Iowa; Kendal Hunt Publishing Co, p. 160-166.

Palmquist, D. L. (1991). Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. J. Dairy Sci. 74: 1354-1360.

Peters, J. P., Shen, R. Y. W., and Chester, S. T. (1990). Propionic acid disappearance from the foregut and small intestine of the beef steer. J. Anim. Sci. 68: 3905-3913.

Pond, W. G. and Maner, J. H. (1984) Prenatal development. In: Swine Production and Nutrition, Publishing Company, Westport pp. 81–155.

Pothiraj, C., and Eyini, M. (2007). Enzyme activities and substrate degradation by fungal isolates on cassava waste during solid state fermentation. Microbial. 35(4): 196-204.

Prins, R. A. (1971). Isolation, Culture and fermentation characteristic of Selenomonas ruminantium var. bryanti var. n. from the rumen of sheep. J. Bacteriol. 105: 820.

Raimbault M (1998). General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Elect. J. Biotechnol. Vol. 1 Num. 3.

Reade, A. E., and Gregory, K. F. (1975). High temperature production of protein. Enriched feed from cassava by fungi. Appl. Microbiol. 30 (6): 897-904.

Romo, G. A., Casper, D. P., Erdman, R. A., and Teter, B. B. (1996). Abomasal infusion of cis or trans fatty acid isomers and energy metabolism of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 79: 2005-2015.

Russell, J. B. (1985). Fermentation of cellodextrin by cellulolytic and noncellulolytic rumen bacteria. Appl. Env. Microbiol. 49: 572.

Satter, L. D. and Slyter, L. L. (1974) Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Brit. J. Nutr. 32:199-208.

Soccol, C. R., Marin, B., Raimbault, M., and Lebeault, J. M. (1994). Breeding and growth of Rhizopus in raw cassava by solid state fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 41: 330-336.

Statistical Analysis System. (1996). SAS User' Guide: Statistics. NC: SAS Institute.

Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. (1980). Principles and Procedures of Statistics: a biometeric approach (2nd Ed). McGrowhill: New York.

Swift, B. W. (1957). The caloric value of TDN. J. Dairy Sci. 16: 1055-1059.

Tani, Y., Vongsuvanleri, V., and Kumnuanta, J. (1986). Raw cassava strach-digestive Glucoamylase of Aspergillus sp. N-2 isolated from cassava chips. J. Ferment. Technol. 64 :405-410.

Tyrrell, H. F., and Reid, J. T. (1965). Prediction of the energy value of cow's milk. J. Dairy Sci. 48: 1215-1223.

Tyrrell, J. F., and Moe, P. W. (1975). Effect of intake on digestive efficiency. J. Dairy Sci. 58:1151-1163.

Van Soest, P. J. (1982). Nutrition Ecology of the Ruminant. O&B Books, Corvallis, Oregon, U.S. A. 374 p.

Wagner, D. C., and Loosli, J. K. (1967). Studies on the energy requirements of high producing cows. Memoir 400, Cornell Uni. Agr. Exp. Sta.

Wainright, M. (1992) . An Introduction to Fungal Biotechnology.Wiley Biotechnology Series.Wiley. UK.

Wanapat, M., Sriwattasombat, P. and Chanthai, S. (1983). The utilization of diet containing different proportion of urea-ammonia treated rice straw and water hyacinth. Paper presented at 3rd Annual Meeting of The Australian. Asian Fibrous Agricultural Residue Research Network, Held at The Univ. of Peradeniya, Sri Lanka, April, 17.

Waterworth, J A (1990). Hypermedia Documents and Information Tools. Contribution to Panel on'What'sSpecific about User-Interfaces for Hypertext Systems?'. In Proceedings of European Conference on Hypertext (ECHT'90), Paris, France, 1990. Cambridge University Press.

Waterworth, S. (1990). Reluctant collaborators do patients want to be involved in decisions concerning care. J. Advanced Nursing. 15(8), 971-976.

Wiess, W.P., Conrad, H. R., and Pierre, N. R. S. (1992). A theoretically-based model for predicting total digestive nutrition value of forages and concentrates. Anim. Feed Sci. Technol. 39:95-110.

Yuthavong, Y., and Gibbons, G. C. (1994). Biotechnology for Development: Principles and practice Relevant to Developing Countries. Thailand National science and technology development agency.

Zvauya, R., and Muzando, M. I. (1994). Some factors affecting protein enrichment of cassava flour by solid state fermentation. Lebensmittel.Wissenschaft und-Technologie. 27 (6): 590-591.

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด,เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, วัชรี เลิศมงคล, จำลอง เจียมจำนรรจา,ปิยะดวงพัตรา, เอ็จ สโรบล, ปิยะวุฒิ พูนสงวน, เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, และวิจารณ์ วิชชุกิจ.(2542). การแปรรูปและการใช้ประโยชน์มันสำปะหลัง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 21 น.

ฉลอง วิชิราภากร. (2541). โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น. ภาควิชาสัตว์ศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ชวนิศนดากร วรวรรณ, ม.ร.ว. (2500) หลักการให้อาหารสัตว์. หนังสือประกอบการบรรยาย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชิดชนก นวลฉิมพลี. (2548). ผลการเสริมแร่ธาตุจากหินภูเขาไฟในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการผสมติด ของโคนมระยะโคสาว และการให้ผลผลิตน้ำนมในโคนมระยะกลางการให้นม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ณัฐนิตย์ ป่วนปาน. (2550). การใช้เปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองทดแทนข้าวโพดบดในอาหารโคนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ทวีพร พูนดุสิต. (2544). การเปรียบเทียบนิเวศน์วิทยาในกระเพาะหมักและสมรรถภาพการขุนของโคนมโคเนื้อและกระบือเพศผู้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญล้อม ชีวะอีสระกุล. (2541). โภชนศาสตร์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 6. เชียงใหม่: ธนบรรณการพิมพ์.

พิมลทิพย์ จันทร์พานิชเจริญ. (2546). การใช้ต้นอ้อยหมักและต้นอ้อยสดเป็นแหล่งอาหารหยาบสำหรับโคนมในช่วงฤดูแล้ง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พีรพจน์ นิติพจน์ และ กฤตพล สมมาตย์. 2546. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องของกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลังโดยวิธี In vitro gas production technique. การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546. 27-28 มกราคม 2546 คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. (2533). โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง

วันเลิศ พงษ์โปกุล. (2549). การเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวโดยการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในการผลิตโคเนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2542). เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาโภชนศาสตร์เคี้ยวเอื้อง. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ศูนย์ข้อมูลการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. 2550. หลักการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. [ระบบ ออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.tapiocafeed.com/use/u01.html (27 ตุลาคม 2550)

สมเจต ใจภักดี. (2530). การศึกษาวิธีการหมักมันสำปะหลัง และการนำมันสำปะหลังหมักมาใช้ในอาหารไก่กระทงและนกทา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2553

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีเพาะปลูก 2556. แหล่งที่มา : http://www.oae.go.th/statistic/yearbook/2004/, (2 มีนาคม 2556)

Allen, M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83: 1958-1624.

Andrews, S. M., Tyrrell, H. F., Reynolds, C. K., and Erdman, M. D. (1991). Net energy for lactation of calcium soaps of long-chain fatty acids for cows fed silage-based diets. J. Dairy Sci. 74: 2588.

Antai, S. P., and Mbongo, P. M. (1994).Utilization of cassava peel as substrate for crude protein formation.Plant Foods for Human Nutr. 46: 345-351.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15 th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C., p. 1,879.

Aro, S. O., Aletor, V. A., Tewe, O. O., Fajemisin, A. N., Usifo, B., and Adesida, J. A. (2008). Studies on the nutritional potentials of cassava tuber wastes (CTW) collected from a factory. Federal University of Technology, Akure, Nigeria.(2008, May) : 86-92.

Badbury, J.H. (2004). Wetting method to reduce cyanide content of cassava flour Cassava cyanide and diseases.Network News. 4: 3-4.

Balagopalan. C., Padmaja, G., and George, M. (2002). Improving the nutritional value of cassava products using microbial techniques. FAO-Corporate Document Repository. Anim. Prod. Health. Paper 95 2002

Barker, I. K., Van Dreumel, A. A., and Palmer, N. (1995). The alimentary system. Page 1 in Pathology of Domestic Animals. 4th.ed. Vol 2. K. V. F. Jubb, P. C. Kennedy, N. Palmer, ed. Academic Press, San Diego, CA.

Beck, P. W., and. Handwerker, H. O. (1974).Bradykinin and serotonin effects on various types of cutaneous nerve fibres.Pflügers Archiv. 347(3), 209-222.

Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol. Rev. 70: 567-590.

Chalmers, M. I., and White, F. (1969).Urea and other substitutes for natural protein sources.Lecture given at the symposium of the European Feed Industry. F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd, Basle, Switzerland.

Charoensiri, K., De-eknmkul, C., Assavaning, A., Varavinit, S. and Bhumiratana, A. (1990). Biomass protein produce from cassava using Cephalosporium eichhorniae 152 grown in an air-lift fermentor. Microbial. Utiliz. Ren. Res. 7: 330-335.

Conrad, H. R., Weiss, W. P., Odwongo, W. O., and Shockey, W. L. (1984). Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. J. Dairy Sci. 67: 427-437.

Crampton, E. W., Lloy, L. E., and Mackay, V. G. (1957). The calorie value of TDN. J. Anim. Sci. 16: 541-552.

Daubresse, P., Ntibashirwa, S., Gheysen, A. and Meyer, J.A. (1987). A process for protein enrichment of cassava by solid substrate fermentation in rural conditions. Biotechnol. Bioeng. XXIX: 962-968.

Davis, G. K., and Roberts, H. F. (1959). Urea toxicity in cattle. Fla. Agr. Exp.sta. Bull.611.

Dehority, B. A. (1993). Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa. Ohio Agricultural Research and Development Center. Department of Animal Science. Ohio State University, Wooster, Ohio CRC Press, Florida, U. S. A.120 p.

Eadie, J. M,. and S. O. Mann. (1970). Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Oriel Press, U. S. A.

Essers, A. J. (1994).Making safe flour from bitter cassava by indigenous solid substrate fermentation.Acta Horticultural. 375: 217-224.

Fonnesbeck, P. V., Wardeh, M. F., and Harris, L. E. (1984). Mathematical models for estimating energy and protein utilization of feedstuffs. Utah Agricultural Eperimental Station Bulletin. No. 508.

Forbes, J. M., and France, J. (1993). Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. Cambridge:The University Press. UK.

Frydrych, Z., Heger, J., and Fronek, P. (1983). Evaluation of optimum lysine and threonine supplements to a wheat and barley-based diet in rats. Anim. Feed Sci. Technol.8(3), 163-176.

Gaden, R. S. (1974).Macrolepidobtera of Fiji and Rotuma a taxonomic and biogeographic study. Doctoral dissertation. University of Durham.

GaniyuOboh (2006). Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of Saccharomyces cerevisae and Lactobacillus spp solid media fermentation techniques. Elect. J. Biotechnol. ISSN: 0717-3458

Garnsworthy, P. C. (1988). Nutrition and Lactation in the Diary Cow. Anchor-Brender Butter worths Press. Nottingham. England.

Garrett, W. N. (1980). Energy utilization by growing cattle as determined by 72 comparative slaughter experiments. Energy Metabolism. Proc. Symp. 26: 3-7.

Georing, H. K., and Van Soest, P. J. (1970). Forage Fiber Analysis. Agricultural Handbook, Agricultural Research Council.Jacket No. 379.Washington, D. C. USDA.

Hungate, R. E. (1966).The Rumen and Its Microbs.USA. Acdemic Press,New York.U. S. A.533 p.

Iyayi, E.A., and Losel, D. M. (2001). Changes in carbohydrate fractions of cassava peel following fungal solid state fermentation. African.J. Food Techno. 6 (3): 101-103.

Jackson, M. J. (1997). Review article: The alkali treatment of straws. Anim. Feed Sci. 2: 105-130.

Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and Wanapat, M. (2009b). Supplementation of Yeast Fermented Cassava Chip (YFCC) as a Replacement Concentrate and Ruzi Grass on Rumen Ecology in Native Cattle. Pakistan J. Nutri. 8 (5): 597-600.

Khampa, S., Chaowarat, P., Singhalert, R., and Wanapat,M. (2009a). Supplementation of Malate and Yeast in Concentrate Containing High Cassava Chip on Rumen Ecology in Dairy Steers. Pakistan J. Nutri. 8 (5): 592-596.

Knorst, M. T., Neubert, R., Wohlrab, W. (1997). Analytical methods for measuring urea in pharmaceutical formulations.J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 15: 1627–1632.

Lewis, D. (1960). Ammonia toxicity in the ruminant. J. Agr. Sci. 55:111.

Manynard, L. A., Loosli, J. K., Hintz, H. F., and Warner, R. G. (1979). Animal Nutrition. 7th. McGraw-Hill, Inc., New York, NY.

Mikami, Y., Gregory, K. F., Levadoux, W. L., Balagopalan, C., and Whitwell, S. T. (1982). Factors affecting yield and protein production by Cephalosporium eichhorniae. Appl. Environ. Microbiol. 43: 403-411.

Moat, A. G., and Foster, J. W. (1995). Microbial Physiology. Wiley-Liss Pulisher. New York. USA. 580 p.

Moe, P. W. and Tyrrell, H. F. (1974). Observation on the efficiency of utilization on metabolizable energy for meat and milk production. P.27 Proc. Univ. of Notthingham.

Moe. P. W., Tyrrell, H. F., and Flatt, W. P. (1971). Energetic of body tissue metabolizable. J. Dairy Sci. 54:548-559

National Reseach Council. (1996). Nutrients Requirements of Beef Cattle. 6thEd. National academy press. Washington D.C.

National Reseach Council. (2001). Nutrients Requirements of Dairy Cattle. 7thEd. National academy press. Washington D.C

National Research Council. (1988). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 4thEd. National Academic Press. Washington D. C. 157 p.

Oboh G, Akindahunsi AA (2003). Chemical changes in cassava peels fermented with mixed culture of Aspergillusnigerand two species of Lactobacillus integrated bio-system.. Appl. Trop. Agric. 8: 63-68.

Oboh, G. (2006). Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of Saccharomyces cerevisae and Lactobacillus spp solid media fermentation techniques. Elect. J. Biotechnol. ISSN: 0717-3458

Oboh, G., and Akindahunsi, A. A. (2003). Chemical changes in cassava peels fermented with mixed culture of Aspergillus niger and two species of Lactobacillus integrated bio-system. Appl. Trop. Agric. 8: 63-68.

Oboh,G., and Elusiyan,C. A. (2007). Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungifermented cassava flour produced from low- and medium-cyanide variety of cassava tubers.African J. Biotechnology.2150-2157.

Odukwe, C. A., (1994). The feeding value of composite cassava root meal for broiler chicks. Ph.D. Thesis. University of Nigeria, Nsukka, Nigeria.

Ofuya, C.O., and Nwajiuba, C.J. (1990). Microbial degradation and utilization of cassava peel. World J. Microbial. Biotech. 6: 144-148.

Okeke, G. C., Obioha, F. C., and Udogu, A. E (1985).Comparison of detoxification of cassava-borne cyanide.Nutr. Rep. Int. 32: 139-147.

Osweiler, G. D., Carson, T. L. and Buck, W. B. (1985). Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. 3rd ed. Dubuque, Iowa; Kendal Hunt Publishing Co, p. 160-166.

Palmquist, D. L. (1991). Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. J. Dairy Sci. 74: 1354-1360.

Peters, J. P., Shen, R. Y. W., and Chester, S. T. (1990). Propionic acid disappearance from the foregut and small intestine of the beef steer. J. Anim. Sci. 68: 3905-3913.

Pond, W. G. and Maner, J. H. (1984) Prenatal development. In: Swine Production and Nutrition, Publishing Company, Westport pp. 81–155.

Pothiraj, C., and Eyini, M. (2007). Enzyme activities and substrate degradation by fungal isolates on cassava waste during solid state fermentation. Microbial. 35(4): 196-204.

Prins, R. A. (1971). Isolation, Culture and fermentation characteristic of Selenomonas ruminantium var. bryanti var. n. from the rumen of sheep. J. Bacteriol. 105: 820.

Raimbault M (1998). General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Elect. J. Biotechnol. Vol. 1 Num. 3.

Reade, A. E., and Gregory, K. F. (1975). High temperature production of protein. Enriched feed from cassava by fungi. Appl. Microbiol. 30 (6): 897-904.

Romo, G. A., Casper, D. P., Erdman, R. A., and Teter, B. B. (1996). Abomasal infusion of cis or trans fatty acid isomers and energy metabolism of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 79: 2005-2015.

Russell, J. B. (1985). Fermentation of cellodextrin by cellulolytic and noncellulolytic rumen bacteria. Appl. Env. Microbiol. 49: 572.

Satter, L. D. and Slyter, L. L. (1974) Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Brit. J. Nutr. 32:199-208.

Soccol, C. R., Marin, B., Raimbault, M., and Lebeault, J. M. (1994). Breeding and growth of Rhizopus in raw cassava by solid state fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 41: 330-336.

Statistical Analysis System. (1996). SAS User' Guide: Statistics. NC: SAS Institute.

Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. (1980). Principles and Procedures of Statistics: a biometeric approach (2nd Ed). McGrowhill: New York.

Swift, B. W. (1957). The caloric value of TDN. J. Dairy Sci. 16: 1055-1059.

Tani, Y., Vongsuvanleri, V., and Kumnuanta, J. (1986). Raw cassava strach-digestive Glucoamylase of Aspergillus sp. N-2 isolated from cassava chips. J. Ferment. Technol. 64 :405-410.

Tyrrell, H. F., and Reid, J. T. (1965). Prediction of the energy value of cow's milk. J. Dairy Sci. 48: 1215-1223.

Tyrrell, J. F., and Moe, P. W. (1975). Effect of intake on digestive efficiency. J. Dairy Sci. 58:1151-1163.

Van Soest, P. J. (1982). Nutrition Ecology of the Ruminant. O&B Books, Corvallis, Oregon, U.S. A. 374 p.

Wagner, D. C., and Loosli, J. K. (1967). Studies on the energy requirements of high producing cows. Memoir 400, Cornell Uni. Agr. Exp. Sta.

Wainright, M. (1992) . An Introduction to Fungal Biotechnology.Wiley Biotechnology Series.Wiley. UK.

Wanapat, M., Sriwattasombat, P. and Chanthai, S. (1983). The utilization of diet containing different proportion of urea-ammonia treated rice straw and water hyacinth. Paper presented at 3rd Annual Meeting of The Australian. Asian Fibrous Agricultural Residue Research Network, Held at The Univ. of Peradeniya, Sri Lanka, April, 17.

Waterworth, J A (1990). Hypermedia Documents and Information Tools. Contribution to Panel on'What'sSpecific about User-Interfaces for Hypertext Systems?'. In Proceedings of European Conference on Hypertext (ECHT'90), Paris, France, 1990. Cambridge University Press.

Waterworth, S. (1990). Reluctant collaborators do patients want to be involved in decisions concerning care. J. Advanced Nursing. 15(8), 971-976.

Wiess, W.P., Conrad, H. R., and Pierre, N. R. S. (1992). A theoretically-based model for predicting total digestive nutrition value of forages and concentrates. Anim. Feed Sci. Technol. 39:95-110.

Yuthavong, Y., and Gibbons, G. C. (1994). Biotechnology for Development: Principles and practice Relevant to Developing Countries. Thailand National science and technology development agency.

Zvauya, R., and Muzando, M. I. (1994). Some factors affecting protein enrichment of cassava flour by solid state fermentation. Lebensmittel.Wissenschaft und-Technologie. 27 (6): 590-591.