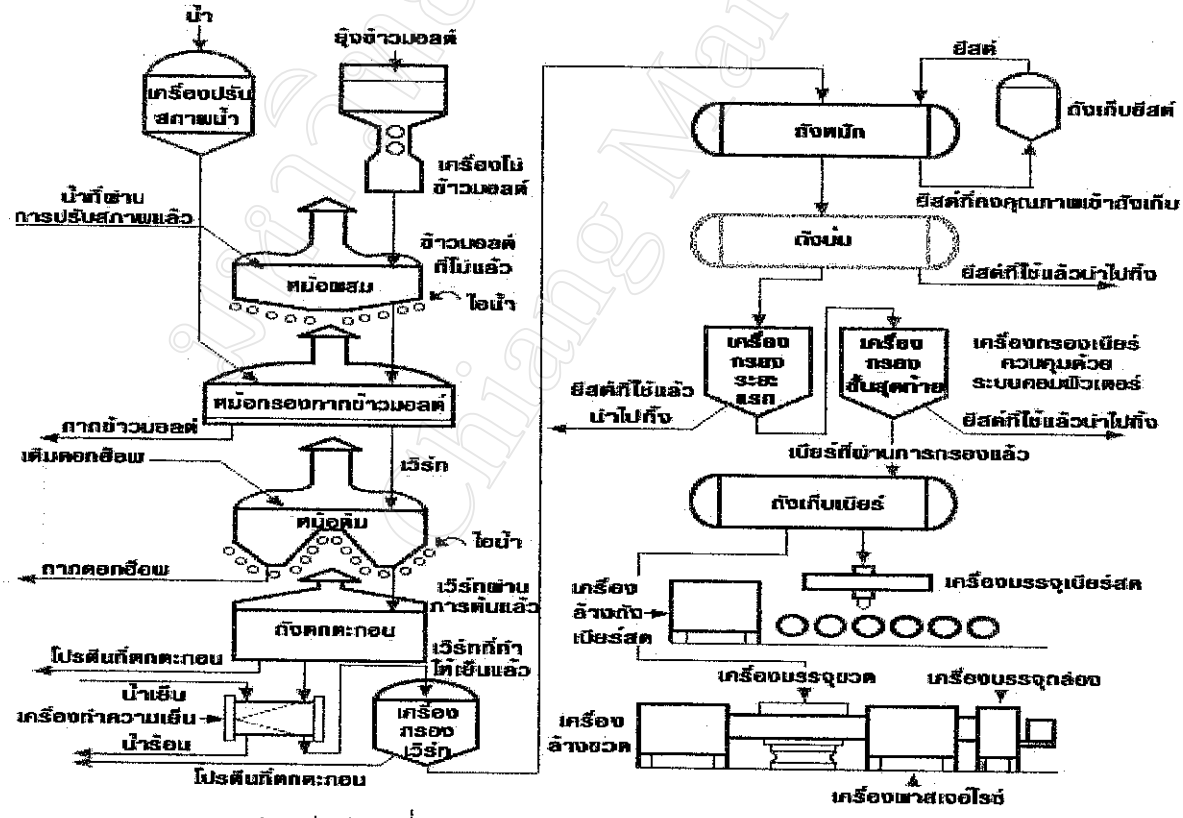
บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2. 1 กระบวนการผลิตเบียร์ (Brewing Process)

กระบวนการผลิตเบียร์มีขั้นตอนเริ่มต้นจากการนำข้าวมอลต์ (Malt) ที่ได้จากการเพาะเมล็ดข้าวบาร์เลย์ (Barley) ให้เกิดกระบวนการเจริญเติบโตจนรากงอก หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้ง ตัดรากออกได้เป็นเมล็ดข้าวมอลต์ นำไปเข้ากระบวนการต้มโดยเทรวมผสมกับน้ำที่ผ่านการปรับสภาพแล้วในหม้อผสมที่ทำด้วยทองแดงขนาดใหญ่ ใช้เวลาต้มประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดกรองเอาส่วนของข้าวมอลต์ออก เมื่อถึงขั้นตอนนี้จะมีผลพลอยได้หรือเศษเหลือที่เกิดขึ้นนั่นคือส่วนของกากข้าวมอลต์ (Malt residue) ที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ และส่วนของของเหลวที่กรองได้จะถูกนำไปต้มต่อโดยเติมดอกฮ็อปส์ (Hops) ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในกระบวนการผลิตเบียร์ ได้ของเหลวที่มีรสชาติขมและมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลมอลต์ละลายอยู่เรียกว่า เวิร์ธ (Worth) ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน



ภาพ 1 กระบวนการผลิตเบียร์และที่มาของผลพลอยได้จากการผลิตเบียร์

ที่มา: Boonrawd Co. Ltd., 2000.

น้ำของเหลวที่ได้กรองเอาส่วนของโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble protein) ออกซึ่งก็เป็นผลพลอยได้ที่สามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้เช่นกัน จากนั้นเป็นขั้นตอนการเติมยีสต์เพื่อให้เกิดกระบวนการหมัก โดยเริ่มจากการสูบเอาของเหลวดังกล่าวเข้าสู่ห้องพัก เพื่อเข้าสู่กระบวนการหมักขั้นต้น ใช้เวลาประมาณ 10 วันภายในถังสแตนเลสขนาดใหญ่ที่ตั้งอยู่ในห้องควบคุมอุณหภูมิ ระหว่างนี้ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลมอลต์ให้เป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อครบกำหนดจะได้เบียร์ประเภท "เบียร์อ่อน" บ่มต่อไปอีก 2 เดือน หลังจากนั้นกรองยีสต์และโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำออกจะได้เบียร์เข้าสู่กระบวนการบรรจุในที่สุด (เฉลิมชัย, 2527)

จากภาพ 1 แสดงให้เห็นกระบวนการผลิตเบียร์และที่มาของเศษเหลือ พบว่า นอกจากกากข้าวมอลต์ซึ่งเป็นผลพลอยได้หลักของกระบวนการแล้วยังมีกากดอกฮ็อปส์ (Brewer's spent hops) โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble protein) และกากยีสต์ (Brewer's yeast) รวมทั้งรากข้าวมอลต์ (Malt sprouts) จากกระบวนการ Malting process ล้วนเป็นผลพลอยได้ที่สามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ทั้งสิ้น ในต่างประเทศนิยมรวมผลพลอยได้จากการผลิตเบียร์ทั้งหมดเข้าด้วยกันและเรียกว่า กากเบียร์ (Brewer's grains) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างจากกากข้าวมอลต์เล็กน้อย เช่น มีปริมาณของโปรตีนสูงกว่า 5-6 เปอร์เซ็นต์ (28 vs. 22 เปอร์เซ็นต์)

กากข้าวมอลต์ หรือกากเบียร์ เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเบียร์ภายหลังสกัดเอาแป้งและน้ำตาลส่วนใหญ่ออกโดยกระบวนการ Malting process (Arther, 1979 และ Gohl, 1978 อ้างโดยเฉลิมชัย, 2527) ในแต่ละปีจะมีกากข้าวมอลต์เหลือจากโรงงานเบียร์ต่าง ๆ ภายในประเทศปริมาณมหาศาล จากตัวเลขสถิติรายงานการคลัง สำนักงานเศรษฐกิจการคลัง (2542) ที่แสดงในตาราง 1 พบว่า ปริมาณเบียร์ที่ผลิตได้ภายในประเทศปี พ.ศ. 2542 เท่ากับ 1,035,141,000 ลิตร ซึ่งในการผลิตเบียร์ 1 ลิตร มีผลพลอยได้เป็นกากข้าวมอลต์ประมาณ 100 กรัม หรือประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเบียร์ที่ผลิต (จำรูญ, 2544) ดังนั้น ปี พ.ศ. 2542 ที่ผ่านมามีกากข้าวมอลต์เหลือจากโรงงานมากกว่า 100 ตัน ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสภาพแวดล้อมได้หากกำจัดไม่ถูกวิธี

ตาราง 1 ปริมาณเบียร์ที่ผลิตได้ในประเทศไทยปี พ.ศ. 2540-2542

ปี	ปริมาณเบียร์(พันลิตร)
2540	876,739
2541	881,582
2542	1,035,141

ที่มา: ดัดแปลงจากสำนักงานเศรษฐกิจการคลัง, 2542

2. 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากข้าวมอลต์

กากข้าวมอลต์ที่ออกจากโรงงานเบียร์ใหม่ ๆ ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปกากข้าวมอลต์สด (wet malt residue) มีความชื้นโดยประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ และมีคุณค่าทางโภชนะดังนี้คือ โปรตีนหยาบ (CP) 8.5 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน (EE) 1.5 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยหยาบ (CF) 2.8 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 11.5 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า (Ash) 0.7 เปอร์เซ็นต์ (จำรูญ, 2544) สำหรับกากข้าวมอลต์สดเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ในฟาร์มที่ตั้งอยู่ใกล้โรงงานเบียร์ เพราะสามารถนำไปใช้ได้ทันที เนื่องจากการใช้กากข้าวมอลต์สดมีข้อจำกัดสำคัญคือ เรื่องของการขนส่งและการเก็บรักษาให้คงคุณภาพ (Murdock *et al.*, 1981) ตาราง 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของกากข้าวมอลต์แห้ง (ร้อยละของวัตถุแห้ง) พบว่ากากข้าวมอลต์แห้งประกอบด้วยอินทรียวัตถุ (OM) 92-97 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนหยาบ (CP) 22-29 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน (EE) 5-8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยหยาบ (CF) 14-15 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยที่ละลายในด่าง (NDF) 48-60 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยที่ละลายในกรด (ADF) 21-24 เปอร์เซ็นต์ โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN) 66-72 เปอร์เซ็นต์ พลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (NE_l) 6.3-7.1 เมกกะจูลต่อกิโลกรัม พลังงานสุทธิเพื่อการรักษาสภาพร่างกาย (NE_m) 6.4-7.7 เมกกะจูลต่อกิโลกรัม และพลังงานสุทธิเพื่อการเจริญเติบโต (NE_g) 3.8-5.1 เมกกะจูลต่อกิโลกรัม

ภาพ 2 กากข้าวมอลต์แห้งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ตาราง 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากข้าวมอลต์แห้ง (ร้อยละของวัตถุแห้ง)

Nutrients		แหล่งข้อมูล					
		NRC (2001)	Huige (1995)	Bath *et al* (1997)	Wahlstrom (1976)	นฤมล (2541)	สุรชัยและคณะ (2542)
Dry matter (DM)	%	90.7	92.0	92.0	93.71	91.46	93.9
Organic matter (OM)	%	95.7	96.0	95.2	96.1	96.97	92.3
Crude protein (CP)	%	29.2	28.0	25.4	25.4	21.81	26.4
Ether extract (EE)	%	5.2	7.2	6.5	6.1	7.93	8.0
Crude fiber (CF)	%	14.9	15.0	14.9	14.1	13.98	NA
Neutral Detergent Fiber (NDF)	%	47.4	NA	NA	NA	60.96	NA
Acid Detergent Fiber (ADF)	%	22.2	NA	24.0	NA	20.19	NA
Nitrogen free extract (NFE)	%	NA	45.8	NA	44.2	53.88	NA
Total digestible nutrients (TDN)	%	71.3	NA	66.0	NA	NA	NA
Net energy (NE)	MJ/kg						
For lactation (NE_L)		7.15	7.11	6.28	NA	NA	NA
For maintenance (NE_M)		7.70	7.11	6.36	NA	NA	NA
For growth (NE_G)		5.06	NA	3.77	NA	NA	NA

หมายเหตุ NA = Not available (ไม่มีข้อมูล)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า กากข้าวมอลต์แห้งมีปริมาณโปรตีน 22-29 เปอร์เซ็นต์ จัดได้ว่าเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสำหรับโคนม เพราะมีปริมาณโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ระดับสูงเช่นเดียวกับกากเมล็ดฝ้าย (พันทิพา, 2539) และสอดคล้องกับรายงานของ Merchen *et al.* (1979) และ Rounds and Klopfenstein (1975) รายงานว่ากากข้าวมอลต์แห้งมีระดับโปรตีนไหลผ่าน 48-61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าถั่วเหลือง (24-31 เปอร์เซ็นต์) Kratzer and Earl (1980) รายงานว่า กากข้าวมอลต์แห้งมีระดับของพลังงานต่ำ แต่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง Rogers *et al.* (1986) รายงานว่า กากข้าวมอลต์ทนทานต่อการสลายตัวในกระเพาะหมัก ซึ่งมีประโยชน์ต่อโคนมเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งโปรตีนชนิดอื่น ปริมาณโปรตีนที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้กรดอะมิโนที่จะถูกดูดซึมสูงขึ้นไปด้วย ตาราง 3 แสดงปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids, EAA) ที่เป็นส่วนประกอบในกากข้าวมอลต์ จากตารางจะเห็นว่ากากข้าวมอลต์แห้งมีปริมาณกรดอะมิโนที่สำคัญคือเมทไธโอนีน (methionine) ประมาณ 1.7 - 2.6 เปอร์เซ็นต์ และไลซีน (lysine) 3.2-4.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนรวม

ตาราง 3 ปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นในกากข้าวมอลต์ (ร้อยละของโปรตีนรวม)

กรดอะมิโน	แหล่งข้อมูล		
	NRC, 2001	Kratzer *et al*, 1980	Huige, 1995
Arginine	5.8	8.3	5.1
Histidine	2.0	1.9	2.3
Isoleucine	3.9	4.7	5.6
Leucine	7.9	9.6	9.8
Lysine	4.1	3.2	3.6
Methionine	1.7	2.6	1.8
Phenylalanine	4.6	6.3	5.6
Threonine	3.6	4.0	3.9
Tryptophan	1.0	1.1	1.4
Valine	4.8	7.6	6.4

2. 3 การใช้กากข้าวมอลต์แห้งเป็นอาหารสัตว์

ในต่างประเทศพบว่ามีการนำกากข้าวมอลต์มาใช้เป็นอาหารสัตว์มาเป็นเวลานานแล้ว (Merchen *et al.*, 1979) จากตาราง 2 ซึ่งแสดงคุณค่าทางโภชนะของกากข้าวมอลต์ พบว่า ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเบียร์มีคุณค่าทางโภชนะในปริมาณสูงพอที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ ในสัตว์กระเพาะเดี่ยวมีการใช้กากข้าวมอลต์เป็นอาหารด้วยเช่นกัน แต่มักนิยมใช้ในสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นโคนมมากกว่า เพราะวัตถุดิบชนิดนี้มีส่วนประกอบที่เป็นเยื่อใยสูงแต่มีพลังงานต่ำ (Morrison, 1956)

Wahlstrom and Libal (1976) ได้ทำการทดลองเสริมกากข้าวมอลต์ในอาหารสุกรอุ้มท้องที่ระดับ 0 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในอาหารที่มีระดับโปรตีน 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวของแม่สุกรอุ้มท้องที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์ 20 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าแม่สุกรอุ้มท้องที่ได้รับกากข้าวมอลต์ 0 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (47.6 39.5 และ 32.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ในขณะที่ขนาดครอกของลูกสุกรมีชีวิต น้ำหนักตัวของลูกสุกรแรกคลอดและหลังหย่านมไม่แตกต่างกัน

Sullivan *et al.* (1978) อ้างโดย Kratzer and Earl (1980) รายงานว่าจำเป็นต้องมีการเสริมกรดอะมิโนไลซีน เพื่อให้ไก่งวงเจริญเติบโตได้ปกติเมื่อเสริมกากข้าวมอลต์ระดับสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

จำรูญ (2544) ศึกษาศักยภาพของการใช้กากข้าวมอลต์เป็นอาหารสุกรรุ่น ทำการทดลองโดยใช้สุกรลูกผสมจำนวน 48 ตัว ด้วยแผนการทดลอง 2 x 8 Factorial in CRD ทดสอบอาหาร 8 ชนิดโดยการเสริมกากข้าวมอลต์ 0 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ เสริมและไม่เสริมเอนไซม์คาร์โบไฮเดรส (carbohydrase) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าสมรรถภาพการผลิตของสุกรที่ได้รับกากข้าวมอลต์ 10 เปอร์เซ็นต์และเสริมเอนไซม์ดีที่สุด สำหรับสมรรถภาพการผลิตระหว่างเพศนั้นพบว่า เพศผู้ดีกว่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์นั้นพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการเสริมเอนไซม์ทำให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้นและสามารถเสริมกากข้าวมอลต์ได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร แต่เมื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารพบว่า การเสริมกากข้าวมอลต์ทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้นเนื่องจากต้องเสริมไขมันสัตว์และกรดอะมิโนไลซีนในอาหารเพิ่มขึ้นเนื่องจากกากข้าวมอลต์มีพลังงานและกรดอะมิโนไลซีนในปริมาณต่ำ

สัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉพาะโคนม ได้มีการนำกากข้าวมอลต์มาใช้เป็นอาหารกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ Rounds and Klopfenstein (1975) ศึกษาการใช้กากข้าวมอลต์ในสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยใช้อ่างรูเมนเทียม (artificial rumen) พบว่า ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) เมื่อเสริมกากข้าวมอลต์ต่ำกว่าอาหารที่เสริมด้วย corn gluten meal และยังได้ศึกษาปริมาณโปรตีนที่ไหลผ่านจากกระเพาะหมักของแกะ พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ไหลผ่านของกากข้าวมอลต์สูงกว่ากากถั่วเหลือง (60.6 และ 30.7 เปอร์เซ็นต์)

Porter and Conrad (1975) ศึกษาเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนะของกากข้าวมอลต์สด และกากข้าวมอลต์แห้งเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนในโคนม โดยใช้โคทดลองจาก 4 สายพันธุ์ แบ่งเป็นกลุ่มการทดลองให้ได้รับอาหารที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์สดและแห้งที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ในแต่ละสูตรพบว่า ปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ได้เมื่อปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ (4%FCM) ไม่แตกต่างกัน (21.4 21.6 21.9 และ 21.3 กิโลกรัมต่อวัน) รวมทั้งปริมาณอาหารที่กินได้ วัตถุแห้งย่อยได้ของโคกลุ่มที่ได้รับกากข้าวมอลต์สดต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆแต่กลับมีการย่อยได้สูงสุด

Cozzi *et al* (1994) เปรียบเทียบการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วย corn gluten meal และกากข้าวมอลต์แห้งในอาหารโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน อาหารที่โคทดลองทุกกลุ่มได้รับมีปริมาณโปรตีนหยาบเฉลี่ย 16 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเยื่อใยที่ละลายในกรด (acid detergent fiber, ADF) 18.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก 33.6 41.1 และ 41.8 เปอร์เซ็นต์ในอาหารควบคุม อาหารเสริม corn gluten meal และอาหารเสริมกากข้าวมอลต์แห้งตามลำดับ ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างของปริมาณอาหารที่กิน (16.8 18.8 และ 18.2 กิโลกรัมต่อวัน) ค่าวัตถุแห้งย่อยได้ น้ำหนักตัว รวมทั้งเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันในน้ำนม แต่พบว่ากรดไขมันระเหยได้บางชนิดเช่นไอโซวาเลอเรต (isovalerate) มีปริมาณสูงที่สุดในอาหารที่เสริมด้วย Corn gluten meal และยังพบว่าปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกัน

Seymour and Plan (1986) ศึกษาผลของระดับพลังงานในอาหารโคนมระยะอุ้มท้องถึงระยะให้นมเมื่อเสริมกากถั่วเหลืองและกากข้าวมอลต์แห้ง เปรียบเทียบการให้อาหารที่ระดับพลังงานสูงและต่ำ พบว่าโคนมที่ได้รับอาหารพลังงานสูงให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่าที่ได้รับอาหารพลังงานต่ำ (21.6 และ 17.6 กิโลกรัมต่อวัน) แม่โคมีความสมบูรณ์ของร่างกายและน้ำหนักตัวดีกว่า (641และ 591 กิโลกรัม) ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 15 ของระยะให้นม กลุ่มโคนมที่ได้รับอาหารพลังงานสูงให้ผลผลิตน้ำนมดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานต่ำ (33.8 และ 31.3 กิโลกรัมต่อวัน) ปริมาณวัตถุแห้งกินได้ต่ำกว่า (23.2 และ 24.4 กิโลกรัมต่อวัน) และมีน้ำหนักตัวลดลงมากกว่า (-2.7และ 0.9 กิโลกรัมต่อสัปดาห์)

Rogers *et al* (1986) ศึกษาระดับของปริมาณจุลินทรีย์ และกระบวนการหมักที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะหมัก รวมถึงการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน ในโคนมเพศผู้พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน เมื่อเสริมกากข้าวมอลต์สดและแห้งในอาหารร่วมกับการให้ข้าวโพดหมัก โดยให้โคได้รับอาหารทั้งหมดมีปริมาณโปรตีนหยาบคิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้กำหนดให้ใช้กากข้าวมอลต์เป็นแหล่งของโปรตีนคิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ของอาหารทดลอง พบว่า โคที่ได้รับอาหารเสริมด้วยกากข้าวมอลต์สดมีปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) สูงกว่าอาหารเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง แต่มีความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะหมักต่ำกว่า ในขณะที่ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid, VFA) ของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งภายในกระเพาะหมัก

เมื่อโคได้รับอาหารเสริมกากข้าวมอลต์สดสูงกว่าที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์แห้ง (56.9 และ 39.3 เปอร์เซ็นต์) อัตราการไหลผ่านของวัตถุแห้งจากกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารเสริมกากข้าวมอลต์สดสูงกว่ากากข้าวมอลต์แห้ง นอกจากนี้ ยังได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบการให้อาหารเสริมกากข้าวมอลต์สดและแห้งที่ระดับโปรตีน 22 และ 40 เปอร์เซ็นต์(ร้อยละของวัตถุแห้ง) ซึ่งมีระดับโปรตีน 2 ระดับคือ 12.5 และ 14.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ด้วยแผนการทดลอง 2 x 2 Factorial Design พบว่าโคที่ได้รับอาหารที่ระดับโปรตีนสูงกว่า (14.5 เปอร์เซ็นต์) มีค่าการย่อยได้ปรากฏ (apparent digestibility) ของไนโตรเจน และเยื่อใยที่ละลายในกรดสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างอาหารที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์สดและแห้ง

Merchen *et al.* (1979) ได้ศึกษาหาระดับโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ของกากข้าวมอลต์แห้งในโคนมเจาะกระเพาะแท้ (Abomasum) จำนวน 4 ตัว ให้ได้รับอาหารที่แตกต่างกันคือเสริมยูเรีย 1.8 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกากข้าวมอลต์ 15.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ วัดการย่อยได้ด้วยวิธีการ Indicator method (สารบ่งชี้ที่ใช้คือ Cr_2O_3) เก็บตัวอย่างจากกระเพาะแท้รวมทั้งตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนไหลผ่านและองค์ประกอบอื่นที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาในโคเจาะกระเพาะแท้จำนวน 3 ตัว ด้วยแผนการทดลองแบบ 2 Replicated 3 x 3 Latin Square Design ให้อาหารแตกต่างกัน 3 ระดับคือ เสริมยูเรีย 3.11 เปอร์เซ็นต์ เสริมกากถั่วเหลือง 10.9 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับยูเรีย 1.04 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง 16.3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับยูเรีย 1.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอาหารทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวมเท่ากับ 11.5 เปอร์เซ็นต์ และโภชนะย่อยได้รวมประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ เก็บตัวอย่างจากกระเพาะแท้ และตัวอย่างเลือดในวันสุดท้ายของการทดลองในแต่ละช่วงซึ่งมี 4 ช่วงการทดลอง วิเคราะห์ตัวอย่างที่สุ่มมาเพื่อหาระดับขององค์ประกอบที่มีไนโตรเจน ผลการทดลองแรกพบว่ามีปริมาณของโปรตีนจากกากข้าวมอลต์ไหลผ่านไปยังทางเดินอาหารส่วนต่อไปเป็นปริมาณมาก (60.9 เปอร์เซ็นต์) ทั้งยังมีแนวโน้มที่จะมี total nitrogen และ nonammonia nitrogen ที่เดินทางไปถึงกระเพาะแท้สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ผสมยูเรีย ส่วนปริมาณ bacterial nitrogen ของอาหารทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับในการทดลองที่สอง พบว่าการเสริมกากถั่วเหลืองร่วมกับยูเรียและกากข้าวมอลต์แห้งร่วมกับยูเรีย มีปริมาณ total nitrogen ที่กระเพาะแท้มากกว่าการให้ยูเรียเพียงอย่างเดียว ระดับของ ammonia nitrogen ของอาหารที่ให้กากข้าวมอลต์ร่วมกับยูเรียต่ำกว่าการให้ยูเรียเพียงอย่างเดียวและการให้กากถั่วเหลืองผสมยูเรียตามลำดับ สำหรับปริมาณ bacterial nitrogen นั้นพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันแต่มีแนวโน้มว่าการให้กากข้าวมอลต์ร่วมกับยูเรียจะต่ำที่สุด

Armentano *et al.* (1986) ทำการศึกษาการสลายตัว (degradation) ของกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สดและกากถั่วเหลืองในโคนม วัดปริมาณอาหารที่สลายตัวในกระเพาะรูเมนโดย

วิธีการใช้ถุงไนล่อนวัดปริมาณโภชนะที่เหลือ และศึกษาผลของอุณหภูมิการอบกากข้าวมอลต์สดที่สองระดับคือ 50 องศาเซลเซียสนาน 39 ชั่วโมง และ 150 องศาเซลเซียส นาน 19 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกากข้าวมอลต์สด ปริมาณของวัตถุแห้งไหลผ่าน (flux of DM) ปริมาณไนโตรเจนรวม (total N) และปริมาณกรดอะมิโนที่เดินทางถึงลำไส้เล็กของกากข้าวมอลต์แห้งและกากถั่วเหลืองโดยใช้อาหาร 3 สูตร คือ เสริมกากถั่วเหลือง 15.8 เปอร์เซ็นต์ เสริมกากข้าวมอลต์แห้ง 24.8 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง 43.8 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณวัตถุแห้งที่สัตว์กินได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวของกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด และกากถั่วเหลืองเป็น 3.1 2.8 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าการสลายตัวของกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด และกากถั่วเหลืองในกระเพาะหมักเท่ากับ 42 73 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณวัตถุแห้งและไนโตรเจนรวมที่สลายตัวในกระเพาะหมักเมื่ออบกากข้าวมอลต์สดด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ปริมาณไนโตรเจนและวัตถุแห้งที่ไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กในอาหารทั้งสามระดับ ไม่แตกต่างกัน

Polan *et al.* (1985) ศึกษาผลของการเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด และกากถั่วเหลือง ที่มีต่อผลผลิตน้ำนมในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน จำนวน 40 ตัว โดยให้ได้รับอาหารฐานที่มีระดับโปรตีนหยาบ 12 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยที่ละลายในกรด 20 เปอร์เซ็นต์ แบ่งโคทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ด้วยแผนการทดลอง 3 x 3 factorial design เสริมด้วยอาหารทดลองที่มีกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด และกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารที่ระดับโปรตีน 3 ระดับคือ 14.5 16.0 และ 17.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ผลผลิตน้ำนมของโคนมที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งสูงกว่าที่ได้รับกากข้าวมอลต์สด อาหารเสริมกากถั่วเหลือง และอาหารฐานเพียงอย่างเดียว (29.4 28.9 26.2 และ 23.1 กิโลกรัมต่อวันตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบโดยระดับโปรตีนในอาหารพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารโปรตีนสูง (17.5 เปอร์เซ็นต์) ให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่าที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีน14.5 และ 16.0 เปอร์เซ็นต์ (29.6 27.8 และ 27.2 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ) ปริมาณวัตถุแห้งกินได้ (ร้อยละของน้ำหนักตัว) เท่ากับ 3.7 3.5 3.3 และ 2.9 เมื่อได้รับอาหารเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด กากถั่วเหลือง และอาหารฐานเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อร้อยมิลลิลิตร) หลังได้รับอาหารตอนเช้าเท่ากับ 10.4 14.9 และ 18.0 เมื่อได้รับอาหารเสริมกากข้าวมอลต์แห้ง กากข้าวมอลต์สด และกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบโดยอาศัยระดับโปรตีนในอาหารพบว่าเพิ่มขึ้นจาก 13.2 ถึง 15.4 ตามระดับโปรตีนที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับระดับของยูเรียในพลาสมา นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเสริมกากข้าวมอลต์แห้งมีผลให้ค่าการย่อยได้ปรากฏของไนโตรเจนต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ

สุรชัย และคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาผลของระดับการทดแทนอาหารข้นด้วยกากข้าวมอลต์แห้งต่อการให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม โดยทำการศึกษาระดับการทดแทนอาหารข้นด้วยกากข้าวมอลต์แห้ง 4 ระดับคือ 0 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร จากผลการทดลอง

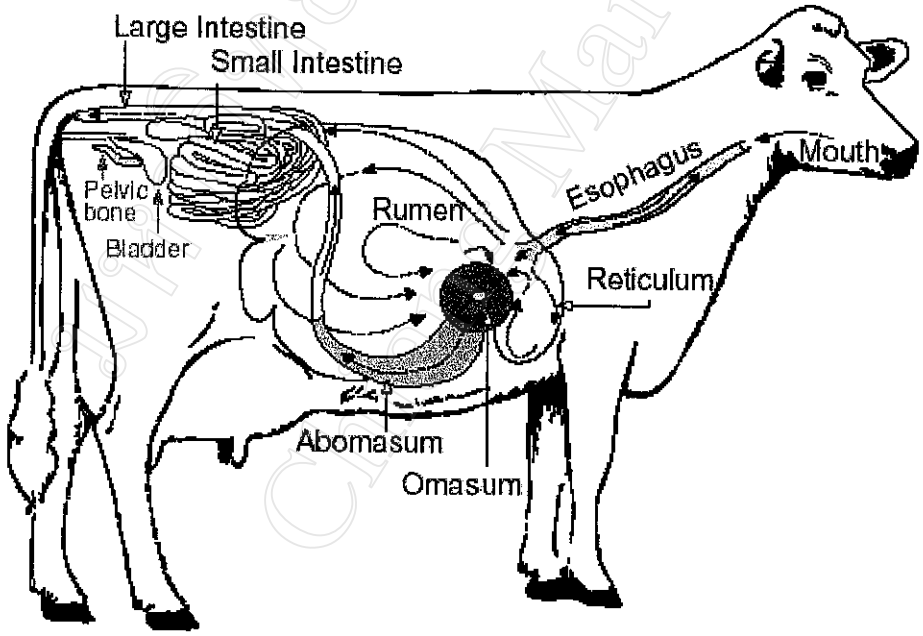
พบว่า ปริมาณการกินได้รวมของอาหารข้นและกากข้าวมอลต์แห้งเพิ่มตามระดับของการใช้กากข้าวมอลต์แห้งทดแทนโดยไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่ามีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรง โคนมที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งทดแทนอาหารข้นระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณการกินได้ทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวและกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักเมทาบอลิก (g/kg $W^{0.75}$) แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งทดแทนที่ระดับ 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างกับโคนมที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งทดแทนที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ โคนมที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งทดแทนอาหารข้นระดับ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณการกินได้ของอินทรียวัตถุ (organic matter, OM) และพลังงานรวม (gross energy, GE) ไม่ต่างจากโคนมที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้งทดแทนที่ระดับ 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณการกินได้ของโปรตีนหยาบสูงกว่า สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีนหยาบ ADF มีค่าไม่แตกต่างกัน การเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะหมักและความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือดหลังได้รับอาหาร 4 ชั่วโมงพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนของของเหลวจากกระเพาะหมักพบว่ามีค่าลดลงตามระดับการทดแทนอาหารข้นด้วยกากข้าวมอลต์แห้งแต่ไม่มีความแตกต่างกัน ระดับกากข้าวมอลต์แห้งที่เพิ่มขึ้นทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดจากของเหลวในกระเพาะหมักมีค่าลดลง การทดแทนด้วยกากข้าวมอลต์แห้งที่ระดับ 0 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดสูงกว่าที่ระดับ 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ การทดแทนอาหารข้นด้วยกากข้าวมอลต์แห้งที่ระดับ 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (Acetic acid, C_2) เพิ่มขึ้น และกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid, C_3) ลดลง ในส่วนของกรดบิวทีริก (Butyric acid, C_4) ไม่มีความแตกต่างกัน สัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิก (C_2:C_3) ไม่มีความแตกต่างกัน การทดแทนกากข้าวมอลต์แห้งที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปริมาณน้ำนมต่อวันเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มอื่นเมื่อปรับปริมาณน้ำนมตามเปอร์เซ็นต์ไขมันน้ำนม 3.5 เปอร์เซ็นต์ (3.5% FCM) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณโปรตีนในน้ำนมเพิ่มขึ้นตามระดับการทดแทนด้วยกากข้าวมอลต์แห้งแบบเส้นตรง แต่ปริมาณไขมันในน้ำนมไม่แตกต่างกัน

ปราโมทย์ และคณะ (2543) ศึกษาผลของระดับกากข้าวมอลต์แห้งต่อสมรรถภาพการผลิตของโคนม โดยใช้โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนระยะให้นมจำนวน 24 ตัว ด้วยแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยใช้ช่วงการรีดนมเป็นบล็อก มี 2 บล็อก ได้แก่ ช่วงแรกและช่วงกลางของการรีดนม ประกอบด้วยอาหารทดลอง 4 กลุ่มคือ เสริมด้วยกากข้าวมอลต์แห้ง 0 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (ร้อยละของวัตถุแห้ง) พบว่า ปริมาณอาหารที่กินได้คิดเป็นกรัมต่อน้ำหนักตัว$^{0.75}$ ของกลุ่มที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับกากข้าวมอลต์ 30 เปอร์เซ็นต์ การย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุลดลงตามระดับของกากข้าวมอลต์แห้งที่เพิ่มขึ้น กลุ่มที่เสริมด้วยกากข้าวมอลต์แห้ง 20 เปอร์เซ็นต์ให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่ากลุ่มที่เสริมกากข้าว

มอลต์แห้ง 10 เปอร์เซ็นต์ (18.7 vs. 18.4 กิโลกรัมต่อวัน) และสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับกากข้าวมอลต์แห้ง 0 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (15.95 และ 15.90 กิโลกรัมต่อวัน) สำหรับเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันในน้ำนมของกลุ่มที่เสริมกากข้าวมอลต์แห้ง 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ

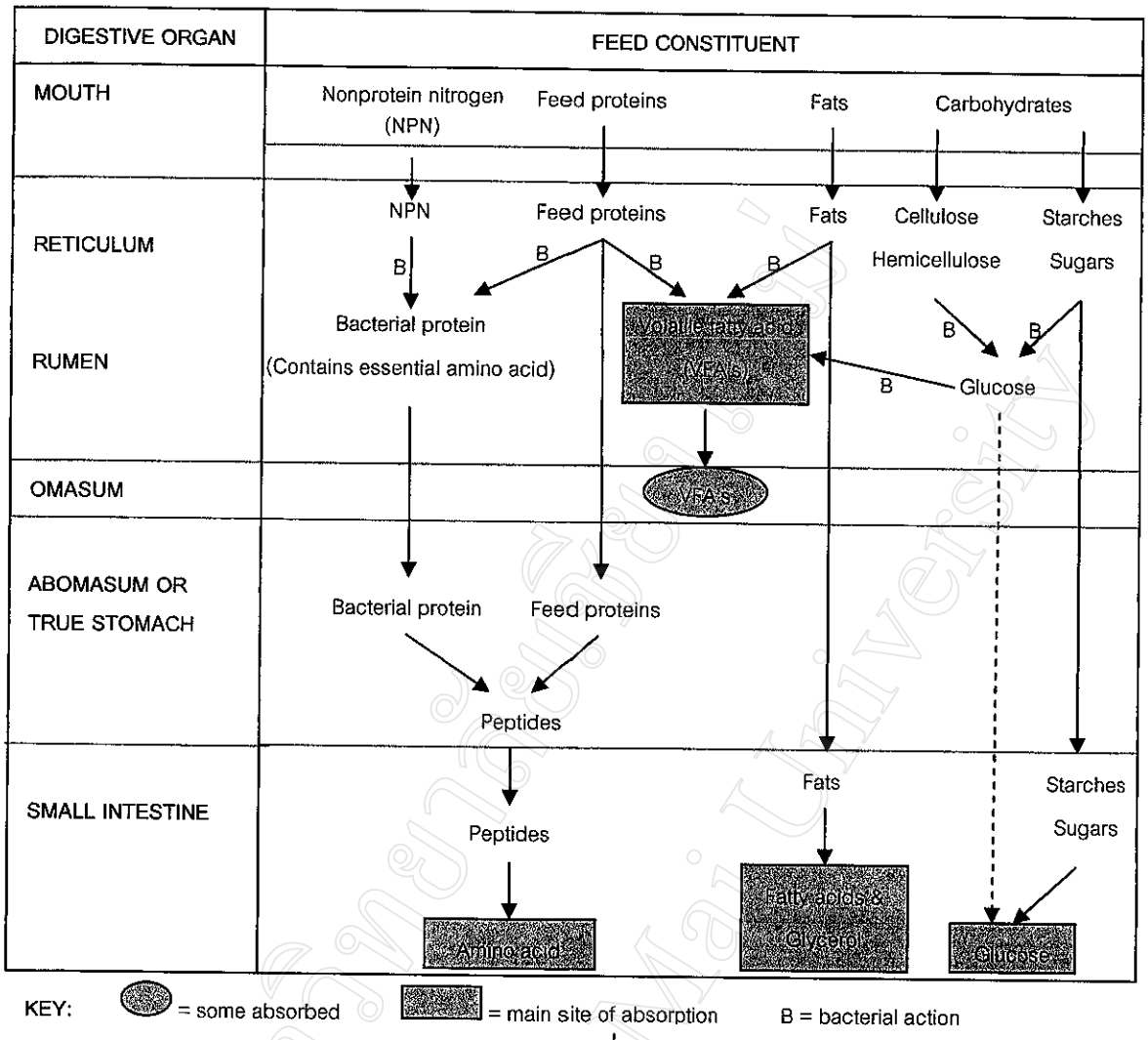
2. 4 การย่อยอาหารในโคนม

การย่อยอาหาร (digestion) หมายถึงการเตรียมอาหารให้มีขนาดเล็กและพอดีที่ร่างกายจะสามารถดูดซึม (absorb) และนำไปใช้ประโยชน์ (utilize) การย่อยอาหารของโคนมโดยส่วนใหญ่เกิดขึ้นในทางเดินอาหารแสดงในภาพ 3 โดยที่อาหารแต่ละชนิดมีการย่อยได้ในทางเดินอาหารแต่ละส่วนไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการย่อยได้ของทางเดินอาหารในแต่ละส่วนนั้น ตัวอย่างเช่น อาหารที่ส่วนประกอบประเภทเยื่อใยสูงไม่สามารถถูกย่อยได้ที่กระเพาะแท้ (Abomasum) และลำไส้เล็ก ทั้งนี้เพราะโคนมไม่สามารถผลิตเอนไซม์ที่ย่อยเยื่อใยได้ แต่อาหารที่เยื่อใยสูงจะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (Rumen) ไส้ติ่ง (Caecum) และลำไส้ใหญ่ (Colon) โดยอาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์



ภาพ 3 แผนภาพแสดงทางเดินอาหารของโคนม

ที่มา: Wattiaux and Howard, no date



ภาพ 4 แผนภาพแสดงการย่อยและการดูดซึมอาหารที่ตำแหน่งต่างๆของทางเดินอาหาร

ที่มา: Ishler and Heinrichs, 2000

2.4.1 การย่อยอาหารในกระเพาะหมัก

การย่อยอาหารที่เกิดขึ้นในกระเพาะหมักในภาพ 4 จะเกิดขึ้นจากเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในกระเพาะส่วนนี้เท่านั้น เนื่องจากกระเพาะหมักโคนมไม่มีการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหารแต่อย่างใด

ขบวนการย่อยและเมตะบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมัก แบ่งได้เป็นขั้นตอนต่างๆ ดังต่อไปนี้

- การย่อย polysaccharides ให้เป็น monosaccharide
- การเปลี่ยน monosaccharide ให้เป็น polysaccharides

- การเปลี่ยนไพรูเวท (pyruvate) ให้เป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid) เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid, C_2) กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid, C_3) และกรดบิวทีริก (Butyric acid, C_4)
- การสังเคราะห์แก๊สมีเทน (Methane, CH_4)

การย่อยแป้งในกระเพาะหมักเกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในนั้นผลิตเอนไซม์ออกมาย่อย เช่น พวกแบคทีเรียและพวกโปรโตซัว ได้ผลผลิตคือน้ำตาล ซึ่งจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์โดยทันที จึงพบน้ำตาลพวกนี้เป็นจำนวนน้อยในกระเพาะหมัก และจุลินทรีย์จะให้ผลผลิตได้แก่ กรดไขมันระเหยได้ คาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทน ความเข้มข้นและสัดส่วนของกรดไขมันระเหยได้ที่เกิดขึ้น จะไม่คงที่แต่จะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและระยะเวลาในการกินอาหารของโคนม ดังแสดงในตาราง

ตาราง 4 สัดส่วนของอาหารข้นต่ออาหารหยาบที่มีผลต่อกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมักโคนม

อาหารหยาบ:อาหารข้น	กรดไขมันระเหยได้ (%)		
	กรดอะซีติก	กรดโพรพิโอนิก	กรดบิวทีริก
100:0	71.4	16.0	7.9
75:25	68.2	18.1	8.0
50:50	65.3	18.4	10.4
40:60	59.8	25.9	10.2
20:80	53.6	30.6	10.7

ที่มา: Phillipson (1970)

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยแป้งในกระเพาะหมัก

1. ชนิดและส่วนประกอบของธัญพืชในอาหารข้นที่โคนมได้รับ
2. อายุ ความแก่อ่อนของแป้งในธัญพืช
3. อัตราส่วนของธัญพืชในอาหารที่โคนมได้รับ
4. ปริมาณอาหารที่โคนมได้รับ ที่มีผลต่ออัตราการไหลผ่าน (rate of passage) เร็วขึ้น
5. กรรมวิธีในการแปรรูปอาหาร วัตถุดิบหรือธัญพืชที่นำมาใช้เลี้ยงโคนม

โปรตีนและสารประกอบอินทรียไนโตรเจนในอาหารและ mucoprotein ในน้ำลาย เมื่อเดินทางถึงกระเพาะหมัก จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์หลายชนิดที่อาศัยอยู่ในนั้น โดยมีขั้นตอนการสลายตัว 2 ขั้นตอนคือ

- ขบวนการ proteolysis แยกรอยต่อของโครงสร้างโปรตีนด้วยวิธี hydrolysis ของ peptide bond ให้ได้ peptide และกรดอะมิโนบางส่วนออกมา
- ขบวนการสลายตัวของกรดอะมิโนโดยขบวนการ deamination และผลิตกรดอินทรีย์และแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักโดยเฉพาะแบคทีเรีย จะเข้าย่อยสลายโปรตีน สำหรับกิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นแตกต่างกันออกไปทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและลักษณะของอาหาร แต่อย่างไรก็ตาม pH ภายในกระเพาะหมักอาจมีอิทธิพลมากกว่า โดย pH ที่เหมาะสมของการเข้าสลายโปรตีนของจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 6-7 ปริมาณกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนของจุลินทรีย์ถูกสังเคราะห์โดยใช้แอมโมเนีย ส่วนอีก 20 เปอร์เซ็นต์ใช้กรดอะมิโนโดยตรง ประมาณ 59 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนจากอาหารจะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก ปริมาณไนโตรเจนที่ถูกย่อย 29 เปอร์เซ็นต์จะถูกใช้ประโยชน์ในรูปของกรดอะมิโน และอีก 71 เปอร์เซ็นต์จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนีย อย่างไรก็ตาม เรื่องนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะธรรมชาติของชนิดอาหารโปรตีนแต่ละชนิด (เมธา, 2533)

2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก

1. ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีน (protein solubility) โดยโปรตีนที่ละลายได้มาก มีโอกาสที่จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้มากขึ้น
2. วิธีการให้อาหาร เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก ถ้าโคนมได้รับอาหารปริมาณมาก ระยะเวลาที่อาหารจะอยู่ในกระเพาะหมัก (retention time) ก็จะลดลง มีผลทำให้อาหารเคลื่อนที่ไปยังทางเดินอาหารส่วนต่อไปเร็วขึ้น จุลินทรีย์มีโอกาสเข้าสลายโปรตีนลดลง รวมถึงขนาดของอาหารก็มีผลต่อการคงอยู่ในกระเพาะหมักด้วยเช่นกัน
3. ปัจจัยจากตัวสัตว์ สำหรับสัตว์ต่างชนิดกัน เช่นโคนมและแกะ โดยโคนมจะมีค่า retention time สูงกว่าแกะ (1.3-3.7 วัน กับ 0.8-2.2 วัน) เมื่อมี retention time สูง โอกาสที่โคจะเคี้ยวอาหารจึงมีมากกว่าแกะ และทำให้ชิ้นอาหารมีขนาดเล็กกว่า จึงเป็นการเพิ่มโอกาสจุลินทรีย์เข้าย่อยอาหารมากขึ้นด้วย

2.4.4 การย่อยและการดูดซึมในลำไส้

คาร์โบไฮเดรตที่เดินทางถึงลำไส้เล็กประกอบด้วยชนิดที่เป็นโครงสร้าง (structural) และที่ไม่เป็นโครงสร้าง (non-structural) ที่รอดพ้นจากการถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก รวมไปถึงคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ ทั้งนี้ปริมาณ structural carbohydrate หรืออาหารประเภทเยื่อใยจะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ อัตราการย่อยได้ในกระเพาะหมัก โดยมีปัจจัยของอายุพืชอาหารสัตว์ หรือวิธีการแปรรูปอาหาร เช่นการบดละเอียดแล้วนำไปอัดเม็ด เป็นตัวที่มีผลต่อการย่อยได้เช่นกัน โดยปกติ ในลำไส้เล็กของโคนมไม่สามารถผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเยื่อใยเหล่านี้ได้ พบว่า cellulose และ hemicellulose จะสูญหายหรือถูกย่อยสลายในทางเดินอาหารส่วนนี้น้อยมาก อันอาจเกิดจากการเข้าย่อยสลายโดยตัวจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตอนปลายของลำไส้เล็ก แต่ในทางปฏิบัติยอมรับกันว่า การย่อยเยื่อใยในลำไส้เล็กไม่มีความสำคัญต่อตัวสัตว์แต่อย่างใด

แป้งที่เข้ามาในลำไส้เล็กโดยส่วนใหญ่เป็นแป้งจากอาหารที่เหลือ หรือรอดพ้นจากการถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งอาจมีปริมาณมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับอัตราการย่อยได้ของแป้งในกระเพาะหมักเป็นสำคัญ หากโคนมได้รับอาหารที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบอยู่น้อยและถูกย่อยสลายภายในกระเพาะหมักเกือบสมบูรณ์ การย่อยแป้งในลำไส้เล็กก็จะเกิดขึ้นน้อยมาก แทบไม่มีความสำคัญต่อโคนม สำหรับแป้งอีกส่วนหนึ่งที่ เดินทางมาถึงลำไส้เล็กเป็นแป้งที่เกิดจากการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

โปรตีนที่เดินทางมาถึงลำไส้เล็กของโคนมประกอบด้วย โปรตีนจากอาหารที่รอดพ้นจากการถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (undegradable intake protein, UIP) โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) และโปรตีนที่สลายตัวจากเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร (endogenous protein) ปริมาณและสัดส่วนของโปรตีนจากแต่ละชนิดจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณอาหารที่โคนมได้รับ โดยทั่วไปการย่อยโปรตีนในโคนมจะมีความคล้ายคลึงกับสัตว์กระเพาะเดี่ยวทั่วๆไป กล่าวคือ ตับอ่อนจะทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ Chymotrypsinigen, Trypsinogen, Panoretopeptidase B ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะถูกกระตุ้นให้อยู่ในรูปที่ย่อยได้ด้วยเอนไซม์ Trypsin และ Enterokinase ที่ผลิตจากลำไส้เล็ก และในขณะที่อาหารเดินทางมาจากกระเพาะแท้ (Abomasum) ถึงลำไส้เล็ก ค่า pH ของอาหาร (digesta) จะลดต่ำลงเนื่องจากยังมีสภาพความเป็นกรดตกค้างจากเอนไซม์ Pepsin และจะเริ่มมีค่าสูงขึ้นเมื่อมีปริมาณเอนไซม์จากลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น โปรตีนเหล่านี้จะถูกเอนไซม์เข้าย่อยสลายกลายเป็นกรดอะมิโน และ peptide ซึ่งจะถูกดูดซึมในลำไส้เล็กต่อไป โดยทั่วไปค่าเฉลี่ยการดูดซึมกรดอะมิโนในลำไส้เล็กมีค่าเฉลี่ยประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนกรดอะมิโนที่เดินทางมาถึงลำไส้เล็กทั้งหมด

ที่บริเวณลำไส้ใหญ่ โปรตีนที่เดินทางมาถึงมีลักษณะคล้ายคลึงกับในลำไส้เล็ก นอกจากนี้อาจมียูเรียส่วนที่หมุนเวียนกลับเข้ามาและถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (NH_3) สำหรับปริมาณไนโตรเจน (N) ที่เข้ามาสู่ลำไส้ใหญ่จะอยู่ระหว่าง 25-40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับไนโตรเจนทั้งหมดที่สัตว์ได้รับจากอาหาร และค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนจะอยู่ระหว่าง 8-11 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้ามีส่วนประกอบของอาหารหยาบเช่น หญ้าสดอยู่ด้วย ก็จะมีค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนระหว่าง 9-20 เปอร์เซ็นต์ ขบวนการย่อยที่เกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่โดยอาศัยจุลินทรีย์จะมีความคล้ายคลึงกับที่เกิดขึ้นในกระเพาะหมัก ซึ่งจะให้ผลผลิตคือ NH_3 ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้าสู่กระแสโลหิตนำไปใช้ประโยชน์ๆได้อีก

เนื่องจากโปรตีนที่เดินทางมาถึงลำไส้เล็กประกอบด้วย UIP, microbial protein และ endogenous protein ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น สำหรับ microbial protein นั้น เป็นโปรตีนที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนของประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของโคนม เนื่องจากมีปริมาณค่อนข้างมากและมีกรดอะมิโนที่สำคัญครบถ้วน การเพิ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์หรือการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่ได้รับอย่างพอเพียงในกระเพาะหมัก ทั้งนี้การย่อยแป้งในกระเพาะหมักซึ่งให้ผลผลิตที่เป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์จึงมีบทบาทสำคัญต่อปริมาณโปรตีนจากจุลินทรีย์ด้วย หากมีการย่อยแป้งน้อยเกินไปในกระเพาะหมักก็จะส่งผลให้มีพลังงานสำหรับจุลินทรีย์น้อยตามไปด้วย จำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่เดินทางมาถึงลำไส้เล็กก็น้อยตามไปเช่นกัน

2. 5 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในโคนม (Digestibility studies in dairy cow)

การศึกษาการย่อยได้ (digestibility studies) มีความหมายกว้างๆคือการวัดปริมาณโภชนะหรืออาหารที่สูญหายไปในทางเดินอาหารส่วนต่างๆของโคนม วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาคือ เพื่อประเมินความสามารถ หรือประสิทธิภาพของโคนมในการนำเอาโภชนะหรืออาหารชนิดนั้นๆไปใช้ประโยชน์ และเพื่อศึกษาให้รู้ถึงปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารว่ามีมากน้อยเพียงใด และนอกจากนี้ ยังอาจมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับผลของการเตรียมหรือแปรรูปอาหาร การใช้อาหารเสริม อัตราส่วนของวัตถุดิบที่ให้เป็นอาหาร อิทธิพลของอายุ ชนิดและพันธุ์สัตว์ ที่จะมีผลต่อการย่อยได้ของอาหารนั้นๆอีกด้วย (เทอดชัย, 2540)

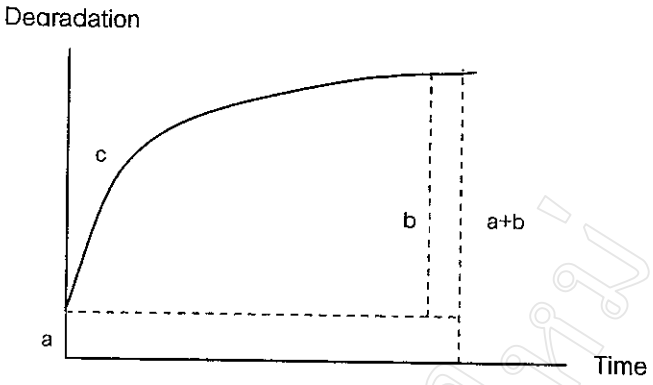
การประเมินคุณค่าทางอาหารที่เป็นพื้นฐานคือ วิธีการวิเคราะห์แบบ proximate analysis (A.O.A.C., 2000) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมานานและสามารถบอกองค์ประกอบทางเคมีของอาหารได้ในระดับหนึ่ง แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการวิเคราะห์องค์ประกอบส่วนที่เป็นเยื่อใย จึงมีการพัฒนาการวิเคราะห์เยื่อใยขึ้น เรียกว่า detergent method (Van Soest, 1982) อย่างไรก็ตาม การ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีนี้ ยังไม่สามารถบอกปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้ และโภชนะที่สัตว์จะได้รับ การย่อยได้ของโภชนะในตัวสัตว์ ตลอดจนการนำโภชนะต่างๆไปใช้ประโยชน์ได้จริง ดังนั้นจึงต้องมีการทดลองหาค่าการย่อยได้ทั้งจากห้องปฏิบัติการ *(In vitro)* ได้แก่การศึกษาการสลายตัวของโภชนะในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน และการประเมินค่าการย่อยได้และพลังงานด้วยวิธีวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น และกับการทดลองในตัวสัตว์โดยตรง *(In vivo)* ได้แก่การศึกษาการย่อยได้โดยวิธีการดั้งเดิมเพื่อหาค่าการย่อยได้ปรากฏและการใช้สารบ่งชี้ ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความละเอียดและให้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น

2.5.1 การศึกษาการสลายตัวของโภชนะภายในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อน (*In situ/In sacco* rumen degradability technique)

การศึกษาเพื่อประเมินการย่อยได้ของโภชนะภายในกระเพาะหมักโดยการใช้ถุงไนล่อน (*In situ/In sacco*) เป็นวิธีการศึกษาการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการที่นิยมกันอย่างกว้างขวาง เพราะเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย มีค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก สามารถทำได้โดยการนำตัวอย่างอาหารที่ต้องการทดสอบใส่ลงในถุงผ้าแล้วนำไปแช่ไว้ในกระเพาะหมักของโคนม ผู้ที่ทำการศึกษาเป็นคนแรกคือ Quin *et al.* (1938) โดยใช้ถุงที่ทำจากผ้าไหม (cylindrical bags) ทดลองในแกะที่ผ่าตัดสอดท่อ cannula ที่กระเพาะหมัก ข้อมูลที่ได้จากวิธีการนี้สามารถนำไปใช้อธิบายลักษณะการย่อยสลายของเยื่อใยและโปรตีนหยาบในอาหารได้ และยังใช้เปรียบเทียบวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการประกอบสูตรอาหารด้วย (Huntington and Givens, 1997)

หลักการของการศึกษาการสลายตัวของโภชนะในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อนคือ อาหารเดินทางถึงกระเพาะหมักจะประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่ไม่สลายตัวในกระเพาะหมัก (undegradable part) แต่อาจถูกย่อยสลายหรือสลายตัวที่ทางเดินอาหารส่วนต่อไป หรือไม่ถูกย่อยสลายเลยและถูกขับออกมาในมูล และส่วนที่สลายตัวในกระเพาะหมัก (degradable part) ที่ประกอบด้วยส่วนที่ละลายได้ทันที (fraction of feed degraded rapidly, a) และส่วนที่ไม่ละลายทันทีแต่ถูกหมักย่อยได้โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (fraction of feed degraded slowly, b) ทั้งนี้อาหารแต่ละชนิดมีความสามารถในการสลายตัวของโภชนะสูงสุดเท่ากับ a + b (potential degradability) และมีอัตราการสลายตัวเท่ากับ c และสามารถแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวได้ในรูปแผนภาพดังนี้ (Ørskov,1982)



ภาพ 5 การสลายตัวของโภชนะของอาหารข้นในกระเพาะหมัก

วิธีการใช้ถุงไนล่อนสามารถวัดการสลายตัวของโภชนะได้โดยตรง รวมทั้งการบ่ม (incubate) อาหารในกระเพาะหมักที่เวลาต่างกัน สามารถใช้อธิบายเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความสามารถในการสลายตัวของโภชนะได้ Ørskov and McDonald (1970) รายงานว่า มีสองวิธีการที่อธิบายเรื่องการสลายตัวของโภชนะในกระเพาะหมัก นั่นคือ การวัดปริมาณอาหารที่ผ่านเข้าไปยังกระเพาะแท้ (Abomasum) และ/หรือการบ่มอาหารในกระเพาะหมัก สำหรับวิธีการแรกมีความลำบากในการรักษาแผลสัตว์ทดลองเพราะต้องใช้สัตว์เป็นเวลานาน และต้องระมัดระวังเรื่องการแยกจุลินทรีย์ออกจากอาหาร

วิธีการวัดการสลายตัวของโภชนะด้วยการใช้ถุงไนล่อน เป็นวิธีการวัดค่าโภชนะ เช่น วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ หรือโปรตีนที่หายไป ณ ช่วงเวลาต่างๆ โดยวัดจากปริมาณที่เหลืออยู่ในถุงไนล่อน โดยมีหลักการคืออาหารส่วนที่หายไปนั่นคือส่วนที่สลายตัว (degraded fraction) และส่วนที่เหลืออยู่ในถุงคือส่วนที่ไม่สลายตัว (undegraded fraction) ดังนั้นเมื่อนำค่าทั้งสองส่วนนี้มาคำนวณก็จะได้ค่าโภชนะที่สลายตัวที่ช่วงเวลาต่างๆได้ และสามารถคำนวณอัตราการสลายตัวได้จากสมการ

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

เมื่อ P = ค่าการย่อยสลายได้ที่ช่วงเวลาต่างกัน (%)

a = ส่วนที่ละลายได้ทันที (%)

b = ส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถเกิดการหมักย่อยได้ (%)

e = $\log_{10}$

c = อัตราการสลายตัวของ b

t = ช่วงระยะเวลาต่างๆ

จะเห็นได้ว่า วิธีการนี้นอกจากจะบอกค่าการละลาย (A) และค่าการสลายตัวสูงสุด (A+B) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกปริมาณการสลายตัวของอาหารในกระเพาะหมักแล้ว ยังช่วยให้ทราบอัตราการสลายตัว (c) ซึ่งทำให้ทราบอัตราเร็วและปริมาณอาหารที่เคลื่อนที่จากกระเพาะหมักไปสู่ลำไส้เล็ก อย่างไรก็ตาม อาหารที่สัตว์กินเข้าไปจะไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักทั้งหมด แต่จะเคลื่อนที่ออกจากกระเพาะหมักในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (rate of passage) ขึ้นกับปริมาณอาหารที่สัตว์กินเข้าไป ชนิดของอาหาร และปัจจัยอื่นๆ

วิธีการใช้ถุงไนล่อนอาจมีความไม่แน่นอนเมื่อใช้ประเมินค่าการย่อยได้ของอาหารหยาบที่มีการเสริมด้วยอาหารข้นหรือโปรตีน เพราะในวัตถุดิบเหล่านั้นมีค่าการละลายได้ (solubility) สูง จึงสามารถผ่านออกจากถุงก่อนเกิดการหมักได้ และไม่สามารถใช้ประเมินค่าในอาหารที่มีปริมาณของเยื่อใยที่ละลายในกรดสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ (Dewhuest *et al.*, 1995)

Broderrick *et al.* (1991) รายงานว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (*In vivo*) การประเมินค่าการสลายตัวของโภชนะด้วยวิธีใช้ถุงไนล่อนอาจให้ค่าที่ไม่สมบูรณ์นัก แต่วิธีการนี้สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดเวลา และใช้เครื่องมืออุปกรณ์น้อย

2.5.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของโภชนะในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน

ถึงแม้ว่าการศึกษาการสลายตัวของโภชนะภายในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อนจะเป็นวิธีที่สะดวก ค่าใช้จ่ายถูกกว่าการศึกษาในตัวสัตว์ แต่ก็มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งมีผลทำให้ความแม่นยำและข้อมูลที่ได้มีความน่าเชื่อถือ ดังนี้

1. **ลักษณะเฉพาะของถุง (Bag specification)**

ชนิดของวัสดุที่ใช้ทำถุง ขนาดของถุง ตลอดจนขนาดและความสม่ำเสมอของรูถุง (pore size) มีผลต่อค่าการสลายตัว โดยรูถุงควรมีขนาดกว้างพอที่จะให้ของเหลวและจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักสามารถไหลผ่านเข้าออกได้ แต่ต้องไม่กว้างจนชิ้นอาหารที่ไม่ถูกย่อยไหลผ่านออกจากถุง หากใช้ถุงที่มีขนาดรูเล็กเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลสและโปรโตซัว ตลอดจนค่าความเป็นกรด-ด่างในถุงลดลง และถ้าใช้ถุงที่มีขนาดรูกว้างเกินไป ค่าการสลายตัวของวัตถุแห้งก็จะเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันอนุภาคของอาหารที่หายไปจากการล้างก็จะเพิ่มขึ้นด้วย (Ørskov *et al.*, 1983)

ขนาดของถุงไม่ค่อยมีผลต่อค่าที่วัดมากนัก แต่สัดส่วนของปริมาณตัวอย่างอาหารต่อพื้นที่ผิวของถุงมีผลมากกว่า หากเพิ่มปริมาณตัวอย่างอาหารโดยไม่เพิ่มขนาดของถุงให้ได้สัดส่วนกัน ค่าการสลายตัวจะลดลง โดยทั่วไปควรใส่อาหารตัวอย่าง 10-15 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรของพื้นที่

ทั้งหมดของถุง อัตราส่วนความกว้างและความยาวถุงควรอยู่ระหว่าง 1:1 ถึง 1:2.5 และควรหลีกเลี่ยงการเย็บถุงที่ทำให้เกิดมุมแหลมที่ก้นถุง เพราะจะทำให้อาหารบางส่วนไปอุดอยู่ที่ก้นถุง (Madsen and Hvelplund, 1994)

2. **ลักษณะของอาหารตัวอย่าง** (Diets characteristic)

ตัวอย่างอาหารที่จะใช้ควรทำให้แห้งหรืออบที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 ^{o}C หากอุณหภูมิที่ใช้อบตัวอย่างสูงเกินไปจะมีผลทำให้การสลายตัวและการละลายได้ของไนโตรเจนในตัวอย่างลดลงได้ (Lopez *et al.*, 1995) หรืออาจทำให้แห้งด้วยวิธีการ freeze drying เพื่อคงคุณภาพของอาหารตัวอย่างเอาไว้ (Madsen and Hvelplund, 1994) ควรบดอาหารตัวอย่างผ่านตะแกรง 1 มิลลิเมตรหรือ 30 Mesh (เมธา, 2533)

3. **การเตรียมตัวอย่างอาหาร** (Sample preparation)

ตัวอย่างที่ใช้ถ้าเป็นอาหารหยาบประมาณ 3 กรัม ส่วนตัวอย่างอาหารโปรตีนหรือธัญพืชประมาณ 4-5 กรัม เมื่อชั่งตัวอย่างอาหารใส่ถุงแล้วนำไปมัดติดกับท่อยางให้เรียบร้อย ทำเครื่องหมายก่อนนำไปบ่มในกระเพาะหมักที่ชั่วโมงต่างๆ

4. **การใส่ถุงตัวอย่างอาหารลงในกระเพาะหมัก** (Incubation in rumen)

ควรจัดอาหารในถุงให้กระจายอย่างสม่ำเสมอก่อนนำไปแช่ในกระเพาะหมัก โดยปกติควรแช่ถุงไว้ในกระเพาะหมักส่วนล่าง (ventral sac) โดยต้องให้ถุงทุกใบสัมผัสกับของเหลวในกระเพาะหมักเป็นอย่างดี เพราะถ้ามีการสัมผัสน้อยการสลายตัวอาจลดลง (เมธา, 2533) ทั้งนี้แบคทีเรียส่วนใหญ่จะอยู่ในส่วนที่เป็นของเหลวในกระเพาะหมักส่วนล่าง ที่สามารถรวมกลุ่มและเข้าย่อยผิวส่วนหน้าของอาหารได้ (Stewart, 1979) สำหรับเชือกไนล่อนที่ใช้สำหรับผูกท่อยางมัดถุงตัวอย่างอาหารจากฝาปิดกระเพาะหมักนั้นก็มีผลต่อการย่อยได้หรือการสลายตัวของโภชนะในถุง นั่นคือถ้าเชือกสั้นเกินไปจะทำให้ถุงทั้งหมดจมไม่ถึงส่วนของของเหลวในกระเพาะหมักส่วนล่าง ค่าการสลายตัวของโภชนะอาจไม่ดีนัก (Stritsler *et al.*, 1990) ทั้งนี้ Ørskov (1982) และ Linberg (1983) ได้แนะนำว่าเชือกที่ใช้ควรมีความยาวอย่างน้อย 50 เซนติเมตร เพื่อให้เกิดความคล่องตัวในการเคลื่อนที่ของถุงไนล่อนในกระเพาะ

5. **การล้างถุง** (Washing method)

การล้างถุงไนล่อนที่มีตัวอย่างอาหารภายหลังนำออกจากกระเพาะหมักที่ชั่วโมงต่างๆแล้วก็เป็นสิ่งสำคัญเช่นกัน เพราะจะมีผลต่อค่าการสลายตัว โดย Chermey *et al.* (1990) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการล้างถุงด้วยมือกับการล้างด้วยเครื่องซักผ้า พบว่าค่าการสลายตัวไม่ต่างกันมากนัก แต่การล้างด้วยเครื่องซักผ้าเป็นเวลา 2 นาที ทำให้ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ต่ำกว่า การล้างถุงด้วยเครื่องซักผ้าจะเป็นมาตรฐานที่ดี เพราะสามารถกำหนดโปรแกรมและเวลาในการซักล้างได้ สามารถ

ล้างถุงได้คราวละมากๆ เป็นการประหยัดเวลา โดยเวลาที่แนะนำให้ใช้อยู่ที่ประมาณ 10-15 นาที (Mehrez and Ørskov, 1977)

6. **การอบถุง** (Drying)

หลังจากล้างถุงจนแน่ใจว่าสะอาด ให้นำถุงไปอบในตู้อบลมร้อน โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ แล้วจึงชั่งน้ำหนักที่เหลือ

7. **สัตว์ทดลองและการให้อาหาร** (Animal and Feeding)

สัตว์ทดลองที่ใช้ควรเป็นชนิดเดียวกันกับที่ต้องการศึกษา เช่นหากต้องการศึกษาการสลายตัวของโภชนะของโคนม ก็ควรใช้โคนมสำหรับศึกษา เพราะการย่อยได้และอัตราการไหลผ่านของอาหารของสัตว์แต่ละชนิด พันธุ์ มีความแตกต่างกัน สำหรับอิทธิพลของอาหารที่ให้สัตว์ทดลองย่อมมีผลต่อการสลายตัว ดังนั้นสิ่งที่สำคัญคืออาหารที่ให้สัตว์ทดลองควรเป็นอาหารที่มีความคล้ายคลึงกับอาหารที่ต้องการทดสอบ (เมธา, 2533)

2.5.1.2 **การทำนายปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง** (Dry matter intake, DMI) **ปริมาณวัตถุแห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ** (Digestible dry matter intake, DDMI) **อัตราการเจริญเติบโต** (Growth rate) **และดัชนีบ่งชี้คุณภาพ** (Index value)

การทำนายปริมาณอาหารที่โคนมกินได้ ถือเป็นเป้าหมายสำคัญในระบบการให้อาหาร โดยที่การกินได้ของโคนมมีผลจากการเคลื่อนที่ของ digesta ออกจากกระเพาะหมักขึ้นอยู่กับการย่อยอาหารและตัวโคนมที่จะลดปริมาณอาหารที่อยู่ในกระเพาะหมัก โดยทำให้มีขนาดเล็กลงและเดินทางผ่านกระเพาะหมักไปยังทางเดินอาหารส่วนต่อไป (Carro *et al.*, 1991) ส่วนประกอบของอาหารก็มีความสำคัญเช่นกัน ตัวอย่างเช่นในอาหารข้นที่มีคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของพืชสูง จะถูกหมักและสลายตัวได้ช้ากว่าอาหารประเภทอื่นๆ (Van Soest, 1975) สำหรับเยื่อใยที่ละลายในด่างเป็นตัวชี้วัดได้ว่ากระบวนการหมักและสลายตัวของอาหารเกิดขึ้นอย่างช้าๆได้เช่นกัน และส่วนที่ไม่ถูกย่อยทำให้ช่องว่างภายในกระเพาะหมักเหลือน้อยลง ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กินและเวลาในการเคี้ยว ซึ่งเป็นกลไกสำหรับลดขนาดของอาหารให้เล็กลงให้สามารถเดินทางผ่านทางเดินอาหารได้ต่อไป มีความเป็นไปได้ที่ลักษณะการย่อยอาหารในกระเพาะหมักส่งผลให้อาหารส่วนที่เหลือมีความสัมพันธ์กับการกินได้ของโคนม และสามารถนำไปทำนายปริมาณอาหารที่โคนมกินได้อีกด้วย (Carro *et al.*, 1991)

Ørskov *et al.* (1988) ได้รายงานว่าค่า A, B และ c ที่คำนวณได้จากสมการโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน มีความสัมพันธ์กับปริมาณวัตถุแห้งที่สัตว์กินได้ (DMI) วัตถุแห้งที่ย่อยได้ (DMD) ปริมาณวัตถุ

แห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ (DDMI) และอัตราการเจริญเติบโตในเกณฑ์ที่สูง (R^2 = 0.88 0.96 และ 0.95 ตามลำดับ)

Shem *et al.* (1995) ได้สร้างสมการสำหรับการทำนายค่าวัตถุแห้งที่กินได้ (dry matter intake, DMI) วัตถุแห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ (digestible dry matter intake, DDMI) และอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) จากลักษณะของการสลายตัวของอาหารหยาบเขตร้อน ซึ่งพบว่า ค่าสหสัมพันธ์ของการใช้ค่าพารามิเตอร์ A, B และ c ในสมการ multiple regression กับค่า DMI, DDMI และ อัตราการเจริญเติบโต มีค่าสูง ทั้งนี้สมการที่ได้เสนอไว้คือ

DMI (kg/d) = - 8.286 + 0.266A + 0.102B + 17.696c

DDMI (kg/d) = - 7.609 + 0.219A + 0.080B + 24.191c

Growth rate = - 0.649 + 0.017A + 0.006B + 3.870c

Index value = A + 0.38B + 66.5c

2.5.2 การประเมินค่าการย่อยได้และพลังงานโดยวิธีวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น (Gas production technique)

การศึกษาการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*) โดยวิธีการวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นเป็นอีกวิธีการที่ได้รับความนิยม โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่ออาหารถูกบ่ม (incubate) ในกระเพาะหมักจะได้ผลผลิตคือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) แก๊สมีเทน (CH_4) และกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids, VFA) ซึ่งมีสหสัมพันธ์กับการย่อยได้ของอาหารในโคนม (Menke *et al.*, 1979) ลักษณะของการเกิดแก๊สภายในกระเพาะหมักนั้น Beuvink and Kogut (1993) ได้อธิบายไว้ว่าแก๊สที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ช่วงเวลาดังต่อไปนี้

1. ระยะ initial phase ระยะนี้เป็นระยะที่แก๊สเกิดขึ้นอย่างช้าๆ เนื่องจากอาหารส่วนที่ไม่ละลายในทันที แต่จะถูกจุลินทรีย์เข้าย่อยสลายอย่างช้าๆด้วยกระบวนการ hydration และ colonization

2. ระยะ exponential phase แก๊สจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะนี้ เนื่องจากอาหารส่วนที่ละลายได้ทันทีในกระเพาะหมักถูกจุลินทรีย์เข้าย่อยอย่างรวดเร็ว
3. ระยะ asymptotic phase เป็นระยะซึ่งอาหารที่ไม่ละลายทันทีจะถูกย่อย แต่จะย่อยได้น้อยและกระบวนการเกิดขึ้นอย่างช้า

(Menke and Steingass, 1988) ได้พัฒนาวิธีการ *In vitro* gas production technique ขึ้นมา โดยยึดหลักการคล้ายคลึงกับวิธีการที่เสนอโดย Tilley and Terry (1963) แต่ทั้งนี้มีความแตกต่างในรายละเอียดคือ เป็นการวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นจากการบ่มอาหารตัวอย่างแทนที่การวัดปริมาณวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุที่หายไป โดยนำค่าแก๊สที่วัดได้มาทำนายค่าการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (organic matter digestibility, OMD) และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) และ ค่าพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (net energy of lactation, NE_L) วิธีการนี้สามารถทำได้สะดวกรวดเร็ว สามารถทำได้ทีละหลายๆตัวอย่าง และให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษามากกว่า

ต่อมา Blümmel and Ørskov (1993) ได้ปรับปรุงวิธีการหาค่าการย่อยได้โดยวิธีการวัดแก๊สด้วยการนำค่าแก๊สที่อ่านได้ที่ช่วงเวลาต่างๆ ใน 24 ชั่วโมงมาคำนวณด้วยสมการ $P= a + b (1 - e^{-ct})$ ที่เสนอโดย Ørskov and McDonald (1979) เพื่อนำมาอธิบายค่าการย่อยได้ที่เกิดจากกระบวนการหมัก และยังพบว่า ปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นทั้งหมด (a+b) มีความสัมพันธ์กับปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้ (DMI) วัตถุแห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ (DDMI) และอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการที่เสนอโดย Shem *et al.* (1995)

สำหรับสมการที่ใช้ในการทำนายค่าการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ และพลังงานใช้ประโยชน์ได้นั้น เป็นดังนี้คือ (Menke and Steingass, 1988)

$$OMD\ (\%) = 9.00 + 0.9991GP + 0.0595XP + 0.0181XA$$

$$ME\ (MJ/kg) = 1.06 + 0.157GP + 0.0084XP + 0.022XL - 0.0081XA$$

$$NE_L\ (MJ/kg) = -0.36 + 0.1149GP + 0.0054XP + 0.0139XL - 0.0054XA$$

เมื่อ GP = ปริมาณแก๊ส (มิลลิลิตร) ที่เกิดเมื่อ incubated 24 ชม.

XP = ปริมาณโปรตีน (g/kg DM)

XL = ปริมาณลิกนิน (g/kg DM)

XA = ปริมาณเถ้า (g/kg DM)

2.5.3 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในตัวสัตว์ (*In vivo* digestibility) โดยวิธีการแบบดั้งเดิม (Conventional method)

หลักการโดยทั่วไปของการศึกษาการย่อยได้ของโภชนะโดยวิธีการแบบดั้งเดิม คือการศึกษาในโคทดลองที่มีอายุ ขนาดและน้ำหนักตัวที่ใกล้เคียงกัน มีสุขภาพดี ไม่ตื่นตกใจง่าย ควรใช้โคทดลองมากกว่า 1 ตัว ทั้งนี้แม้ว่าจะเป็นสัตว์ชนิดเดียวกัน อายุและเพศเดียวกัน ก็อาจมีความสามารถในการย่อยได้แตกต่างกัน การมีจำนวนซ้ำมากจะทำให้ค่าที่ได้มีความแม่นยำมากขึ้น ยิ่งมีสัตว์ทดลองมากเท่าไรก็จะยิ่งให้ผลที่น่าเชื่อถือมากขึ้นเท่านั้น แต่อาจทำให้สิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายมาก อย่างไรก็ตามพบว่าควรใช้โคทดลองอย่างน้อย 4 ตัว (บุญล้อม, 2540) วิธีการศึกษาการย่อยได้แบบนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง คือ

1. ระยะก่อนการทดลอง (preliminary period) เป็นช่วงเวลาที่ให้สัตว์และจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักได้ปรับตัวให้เข้ากับอาหารที่ศึกษา และเพื่อขับอาหารเดิมที่โคนมได้รับออกจากทางเดินอาหารให้หมด สำหรับโคนมควรให้เวลาสำหรับระยะนี้ประมาณ 10-14 วัน
2. ระยะทดลองจริง (collection period) เป็นช่วงเวลาสำหรับเก็บและบันทึกปริมาณอาหารที่สัตว์กิน และมูลที่ขับออกมา โดยวิธีการสุ่ม และเก็บตัวอย่างที่สุ่มมา 5-10 เปอร์เซ็นต์ไว้เพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเพื่อนำไปคำนวณค่าการย่อยได้ต่อไป โดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน หากจำกัดปริมาณอาหารที่ให้ (restrict feeding) และ 10-14 วัน หากมีการให้อาหารแบบเต็มที่ (*ad lib*)

หลังจากเสร็จขั้นตอนการเก็บตัวอย่างในช่วง collection period แล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณโภชนะที่มีในอาหารที่ศึกษาและในมูลที่โคนมขับออกมาเพื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณสัมประสิทธิ์การย่อยได้จากสมการ

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

การศึกษาการย่อยได้ในตัวสัตว์โดยวิธีนี้จำเป็นต้องทราบปริมาณอาหารที่กินและมูลที่ขับออกที่แน่นอน ดังนั้นจึงควรเก็บตัวอย่างอาหารและมูลทั้งหมดไม่ให้สูญหาย รวมทั้งบันทึกปริมาณทุกวันตลอดช่วงเก็บตัวอย่างด้วย

2.5.4 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในตัวสัตว์ (*In vivo*) โดยวิธีการใช้สารบ่งชี้ (Indicator method)

การหาค่าการย่อยได้ของโภชนะของอาหารที่โคนมได้รับในกรณีที่ขาดเครื่องมือที่เหมาะสม ในสภาพการทดลองที่ไม่ทราบปริมาณอาหารที่กิน มูลที่ขับ หรือต้องการทราบปริมาณโภชนะที่โคนมสามารถย่อยและใช้ประโยชน์ได้จริงที่ทางเดินอาหารส่วนต่างๆ โดยวิธีการแบบดั้งเดิมบางครั้งอาจทำได้ยากเนื่องจากต้องทราบปริมาณอาหารที่กินและมูลที่โคนมขับออกมาทั้งหมด วิธีการใช้สารบ่งชี้ (indicator or marker) ผสมรวมกับอาหารที่ศึกษาและใช้ปริมาณสารบ่งชี้ดังกล่าวเป็นตัวแปรในการคำนวณหาการย่อยได้ก็เป็นวิธีการที่จะช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ วิธีการหาค่าการย่อยได้ด้วยการใช้สารบ่งชี้คล้ายคลึงกับการหาค่าการย่อยได้โดยวิธีดั้งเดิม ทั้งนี้สัตว์ทดลองไม่จำเป็นจะต้องอยู่ในคอกทดลองตลอดเวลา อาหารที่กินและมูลที่ขับก็จำเป็นต้องทราบปริมาณที่แท้จริง

2.5.4.1 คุณสมบัติของสารบ่งชี้ (Properties of markers)

โดยทั่วไปนั้นสารที่สามารถนำมาเป็นสารบ่งชี้ได้ต้องมีคุณสมบัติคือ ต้องเป็นสารที่ไม่ถูกย่อย สลาย ไม่ถูกดูดซึมหรือมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งต้องไม่มีผลต่อประชากรจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารของโคทดลอง และเมื่อผ่านทางเดินอาหารจะต้องเป็นเนื้อเดียวกับอาหารที่กำลังศึกษา มีอัตราการไหลผ่านที่ใกล้เคียงกันโดยเฉพาะเมื่อไหลผ่านกระเพาะหมักซึ่งมีความแปรปรวนของอัตราการไหลผ่านของอาหารอย่างมาก นอกจากนี้จะต้องสามารถตรวจพบได้ง่ายเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณที่พบในอาหารหรือตัวอย่างทดลอง (Marais, 2000) สารบ่งชี้ที่ใช้ในการศึกษาการย่อยได้เมื่อผสมอาหารและให้โคทดลองกินแล้วจะต้องขับออกมาทั้งหมด (Omed, 1986 อ้างโดย Rymer, 2000)

2.5.4.2 ประเภทของสารบ่งชี้ (Type of markers)

โดยทั่วไป สารบ่งชี้ที่ใช้เพื่อการศึกษาการย่อยได้ในตัวสัตว์ แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. Internal indicator เป็นสารหรือสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยอาจอยู่ในอาหารที่สัตว์กิน หรือเป็นส่วนหนึ่งของพืชอาหารสัตว์ สารบ่งชี้ประเภทนี้มีข้อดีคือมีราคาถูก และสะดวกในการใช้งานเพราะมีอยู่ตามธรรมชาติ เหมาะสำหรับการศึกษาในสัตว์ป่าหรือสัตว์ที่เลี้ยงปล่อยแปลงซึ่งยากต่อการให้กินสารบ่งชี้ที่ผสมในอาหาร สารบ่งชี้ประเภทนี้ที่สำคัญได้แก่ ลิกนิน (lignin) โดยพบว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่มีเอนไซม์ที่สามารถสลายพันธะ polymerized phenolic compounds ของลิกนินได้ (Marais, 2000) การใช้ลิกนินเป็นสารบ่งชี้จะได้ผลดีถ้ามีลิกนินเป็นส่วนประกอบอยู่ในอาหารมากกว่า

6 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง (เทอดชัย, 2540) แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากลิกนินเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อน องค์ประกอบทางเคมีของมันอาจมีความหลากหลายทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ส่งผลให้ปริมาณที่กลับคืน (recovery rate) อาจไม่คงที่ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของอาหาร สารสีในพืช (plant chromogen) พบว่าสารชนิดนี้ไม่ถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ส่วนใหญ่ได้แก่ซิลิก้า (silica) ซึ่งนิยมใช้เพื่อศึกษาหาค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy) ในไก่ และการย่อยได้ในโคนม (Marais, 2000) การใช้เถ้าที่ไม่ละลายในกรดเป็นสารบ่งชี้อาจมีความคลาดเคลื่อนในกรณีที่อาหารที่ศึกษานั้นมีส่วนประกอบของดินหรือทรายปลอมปนมาด้วย

2. External indicator คือสารหรือสารเคมีที่เติมลงไปในอาหารทดลอง โดยปกติการให้สารบ่งชี้ชนิดแก่สัตว์นิยมให้ทางปาก ช่องเปิดบริเวณทางเดินอาหารส่วนต่างๆ (Rumen fistula or intestine canulae) หรือให้โดยอุปกรณ์ควบคุมอัตโนมัติ (Marais, 2000) การใช้สารบ่งชี้ประเภทนี้อาจให้แบบเป็นครั้งๆเป็นจังหวะ (single pulse dose) หรือให้อย่างต่อเนื่องตลอดช่วงของการทดลองทั้งนี้เพื่อให้ปริมาณของสารบ่งชี้ใน Digesta มีความสม่ำเสมอและเป็นเนื้อเดียวกัน ช่วงเวลาสำหรับสัตว์ได้ปรับตัวเพื่อสารบ่งชี้ถูกขับออกมากับมูลอย่างสม่ำเสมอขึ้นกับชนิดอาหารและสัตว์ทดลอง โดยปกติใช้เวลา 6 และ 8 วันในแกะและโคตามลำดับก่อนเริ่มเก็บตัวอย่าง (Marais, 2000) สารบ่งชี้ประเภทนี้ที่นิยมใช้ได้แก่ Chromium EDTA หรือ Polyethylene glycol ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ชนิด soluble markers ที่นิยมใช้กันมาก สารประกอบประเภท metal oxides และ salts ซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ โครเมียมออกไซด์ (Cr_2O_3) ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้เล็กน้อยในอัลคาไลน์และกรด นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อวัดปริมาณมูลของสัตว์ทดลองที่ขับออกมา ให้โดยวิธีการผสมกับอาหารใส่ในแคปซูลเจลาติน หรืออุปกรณ์ควบคุมอัตโนมัติ สารบ่งชี้ประเภท external marker ซึ่งได้รับความนิยมอีกชนิดคือ ไททาเนียมออกไซด์ (TiO_2) มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและกรดเจือจาง ไม่ถูกดูดซึมโดยพืช ในแกะพบว่าไม่มีผลกระทบใดๆแม้ว่าจะได้รับไททาเนียมออกไซด์ปริมาณ 2-3 กรัมต่อวัน นอกจากนี้ยังถูกขับออกมากับมูลได้เกือบหมด (98 % recovery) วิธีตรวจหาไททาเนียมออกไซด์ทำโดยใช้ Spectrophotometer หลังจากเกิดปฏิกิริยา oxidation กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) (Brandt *et al*, 1983)

การคำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะเมื่อศึกษาโดยวิธีการใช้สารบ่งชี้โดยสมการที่ได้แสดงไว้ดังนี้คือ (เทอดชัย, 2540)

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

2. 6 การเปิดทางเดินอาหารโคทดลองสำหรับใช้ในการศึกษาการย่อยได้ของโภชนะ (Rumen fistulation, Duodenal and ileum cannulation for digestibility study in dairy cow)

ในการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยได้ และเมตาบอลิซึ่มของอาหารในโคนมให้ได้ผลการศึกษาที่ชัดเจนในทุกส่วนของทางเดินอาหาร จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องใช้สัตว์ทดลองที่ได้รับการผ่าตัดสอดท่อเก็บตัวอย่าง (cannula) ในส่วนต่างๆของทางเดินอาหาร ได้แก่ กระเพาะหมัก (rumen) ลำไส้เล็กส่วนต้น (proximal duodenum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (terminal ileum) ทั้งนี้เนื่องจากสรีรวิทยาการย่อยอาหารและกายวิภาคของทางเดินอาหารของโคนมมีความซับซ้อนมากกว่าสัตว์ชนิดอื่น ดังนั้นในการที่จะบรรลุถึงวัตถุประสงค์ดังกล่าว จำเป็นจะต้องมีการเก็บตัวอย่างอาหาร (digesta) ที่เคลื่อนที่ผ่านทางเดินอาหารในแต่ละส่วน ตลอดจนน้ำในกระเพาะหมัก (Rumen fluid) สำหรับนำมาวิเคราะห์โภชนะต่างๆ (เทอดชัยและทัศนีย์, 2531) รวมถึงการใช้โคทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของโภชนะในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อนและประเมินค่าพลังงานและการย่อยได้ของอินทรียวัตถุโดยวิธีวัดแก๊ส

วัสดุสำหรับทำอุปกรณ์ฝาปิดกระเพาะหมักและท่อเก็บตัวอย่างจากลำไส้เล็กมีอยู่หลายชนิด ทั้งที่เป็นวัสดุแข็งเช่น พีวีซี และวัสดุที่มีความอ่อนตัวเช่น ยาง ซิลิโคน ทั้งนี้พบว่าซิลิโคนซึ่งเป็นสารโพลิเมอร์ (Polymer) ที่มีซิลิกอน (silicon) เป็นส่วนประกอบ เมื่อนำมาผ่านความร้อนจะให้สารที่มีคุณสมบัติอ่อนตัวเหมือนยางแต่มีความเหนียว สามารถคงรูปได้ตลอด ทนทานต่ออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง และไม่ทำปฏิกิริยากับสารเคมีใดๆ (เทอดชัย และทัศนีย์, 2531)

การผ่าตัดเพื่อเปิดท่อทางเดินอาหารบริเวณกระเพาะหมัก (Rumen fistulation) สามารถทำได้หลายวิธี ทั้งวิธีการผ่าตัดแบบครั้งเดียว (one-stage operation) ซึ่งจะเปิดผ่าผิวหนังพร้อมกับกระเพาะหมัก แล้วสอดท่อ Fistula ในคราวเดียวกัน หรือวิธีการผ่าตัดสองครั้ง (two stage operation) ซึ่งจะเปิดผ่าผิวหนังแล้วเย็บติดผิวหนังกับกระเพาะหมัก รอจนกระทั่งแผลเชื่อมกันสนิท จึงเปิดแผลที่กระเพาะหมักเพื่อสอดท่อ Fistula ทั้งนี้ขึ้นกับอุปกรณ์ ชนิดและขนาดของสัตว์ทดลองเช่น แกะ นิยมใช้การผ่าตัดแบบครั้งเดียว ในขณะที่การผ่าตัดแบบสองครั้งนิยมนำมาใช้กับสัตว์ที่มีขนาดใหญ่เช่น โคเพื่อให้แน่ใจว่าจะไม่เกิดอาการช่องท้องอักเสบ (Peritonitis) ถึงแม้ว่าจะต้องใช้เวลามากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการผ่าตัดแบบครั้งเดียวในโคนมได้รับความนิยมมากขึ้น เนื่องจากมีความสะดวกและลดขั้นตอนการผ่าตัดลงได้ และป้องกันการเกิดอาหารช่องท้องอักเสบได้มีประสิทธิภาพขึ้น (ทัศนีย์ และเทอดชัย 2530) (ภาพ 6) สำหรับการผ่าตัดเพื่อสอดท่อเก็บตัวอย่างที่ลำไส้เล็กนั้น มี 2 ตำแหน่งด้วยกันคือ ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (proximal duodenum) และลำไส้เล็กสวนปลาย (terminal ileum) ท่อที่ใช้สอดมีลักษณะเป็นรูปตัวที (simple-T shaped cannula) (ภาพ 7) ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างทั้งสองตำแหน่งถือเป็นตัวแทนของตัวอย่างอาหารที่เดินทางผ่านเข้าและออกบริเวณลำไส้เล็ก ผลจากการ