บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ข้อมูลทั่วไปของกระถิน

วงศ์ (Family) : Leguminosae

Sub-family : Mimosoideae

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit

ชื่อเดิม : *Leucaena glauca* (L.) Benth.;

Mimosa glauca (L.); *Acacia glauca* (L.) Moench; *Mimosa leucocephala* (L.)

ชื่อสามัญ (Common names) : Koa haole (Hawaii), leucaena (Australia, UK), vaivai (Fiji), ipil-ipil (Philippines), lead tree (Caribbean), tan-tan (Virgin Islands), jumbie bean (Bahamas), acacia bella rosa (Colombia), aroma blanco (Cuba), hediondilla (Puerto Rico), wild tamarind (West Indies), lamtoro (Indonesia), guaje (Mexico) ประเทศแถบอเมริกากลาง เรียก huaxin (Brewbaker, 1995) ส่วน ในประเทศไทย เรียก กระถิน

กระถินเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลาง และมีการกระจายไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของโลกในเวลาต่อมา เริ่มกระจายมาแถบเอเชียและประเทศในเขตร้อนทั่วโลกเมื่อสเปนมาปกครองฟิลิปปินส์ ระหว่างปี ค.ศ. 1565-1825 กระถินมี 2 สายพันธุ์หลัก คือ

1. พันธุ์พื้นเมือง (common type) เดิมเรียกว่าพันธุ์ฮาวายเอียน (Hawaiian) เป็นชนิดที่มีต้นเล็ก สูงประมาณ 5 เมตร ออกดอกเร็ว มีเมล็ดมาก จึงแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วจนกลายเป็นวัชพืช ในประเทศไทยพันธุ์นี้กลายเป็นกระถินพื้นเมืองที่พบเห็นได้ทั่วไป
2. กระถินยักษ์ (giant type) หรือ เรียกว่าสายพันธุ์ซัลวาดอร์ (Salvador) มีลำต้นสูงประมาณ 20 เมตร มีกิ่งก้านสาขาน้อย โตเร็ว ให้ผลผลิตทั้งใบและลำต้นสูง นอกจากนี้กระถินยักษ์ยังมีอีกสายพันธุ์หนึ่งที่เรียกว่าสายพันธุ์เปรู (Peru) สูงประมาณ 15 เมตร แตกกิ่งก้านสาขามากตั้งแต่โคนต้น (ณรงค์, 2523 และ Bray, 1994)

กระถินในสกุล *Leucaena* มีหลายสปีชีส์โดยจำแนกลักษณะแต่ละสายพันธุ์ตามขนาดความสูงของลำต้น สีดอก ขนาดฝัก ซึ่งสปีชีส์เหล่านี้เกิดเนื่องจากการนำกระถินในสกุลเดียวกันมา

ผสมกัน ในปัจจุบันนี้ สายพันธุ์ (cultivar) ที่ปรับปรุงขึ้นมาใหม่มักเป็นสายพันธุ์ที่มีขนาดลำต้นใหญ่ที่เรียกว่า กระถินยักษ์ (giant type) ในปี ค.ศ. 1960 สายพันธุ์ Cunningham, K8, K28 และ K67 มีการใช้แพร่หลายทั่วโลก (K มาจาก Koa haole หมายถึง กระถิน) แต่เมื่อปี ค.ศ. 1990 ได้มีการปรับปรุงพันธุ์ ได้สายพันธุ์ใหม่ คือ K636 และลูกผสม Kx2 และ Kx3 ซึ่งเป็นที่นิยมในเวลาถัดมา เนื่องจากให้ผลผลิตสูง ทนต่อการทำลายของแมลง และทนต่อสภาพอากาศหนาวเย็นได้ดี (Brewbaker, 1995)

กระถินส่วนใหญ่ขยายพันธุ์โดยเมล็ด แต่เนื่องจากบริเวณผิวเปลือกหุ้มเมล็ดของกระถินมีลักษณะแข็งและมีส่วนของ wax เคลือบอยู่ทำให้น้ำซึมเข้าไปได้ยาก ดังนั้นก่อนนำเมล็ดไปปลูกจึงควรนำเมล็ดไปลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 นาที หรือแช่น้ำเดือดประมาณ 1 วินาที และก่อนนำเมล็ดไปปลูกควรมีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม (Rhizobium) ชนิดที่ใช้กันทั่ว ๆ ไป คือ TAL1145 หรือ CB81 โดยเฉพาะบริเวณที่ไม่เคยปลูกกระถินมาก่อน ซึ่งชนิดของเชื้อจะมีเฉพาะสายพันธุ์ และถ้าดินมีความเป็นกรด ควรใช้ปูนขาวช่วยปรับสภาพดิน เพื่อให้เชื้อไรโซเบียมเจริญเติบโตได้ดี (Shelton and Brewbaker ,1994)

กระถินเป็นพืชที่มีระบบราก 2 ระบบ คือ ระบบรากผิวดินซึ่งมีปมรากอยู่มากช่วยในการตรึงไนโตรเจน หาอาหารและอากาศ ส่วนอีกระบบ คือ ระบบรากแก้วอยู่ลึกประมาณ 2/3 ของความสูงลำต้น (ณรงค์, 2523) รากแก้วสามารถหยั่งลึกได้ถึง 5-10 เมตร จึงสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแห้งแล้ง แต่จะให้ผลผลิตสูงเมื่อปลูกในพื้นที่ที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลไม่เกิน 500 เมตร มีปริมาณน้ำฝน 650-3000 มม. เจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินที่มีค่า pH ไม่น้อยกว่า 5.2 บางครั้งสามารถขึ้นได้ในดินที่มีระดับ pH 8 และพบว่าจะเจริญเติบโตได้ไม่ดีในดินที่มีความเค็ม มีอะลูมิเนียมอิสระต่ำ และมีปริมาณแคลเซียมสูง นอกจากนี้กระถินมักชอบขึ้นในที่โล่งแจ้ง ในช่วงอากาศหนาวกระถินจะเริ่มออกดอกและฝัก ทำให้ผลผลิตลดลง เนื่องจากได้รับแสงน้อย (Gutteridge and Shelton, 1994; Brewbaker, 1995)

ผลผลิตของกระถินยักษ์ในประเทศไทย จากการรายงานของ จรูญ และคณะ (2537) ซึ่งนำกระถินยักษ์พันธุ์ Leuchy Kx3B และ Leucle K636 ไปปลูกที่ศูนย์วิจัยการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งมีความสูงจากระดับน้ำทะเล 312 เมตร ในดิน Plinthic Paleaquults ที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างต่ำและการระบายน้ำไม่ดี มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 1099.5 มิลลิเมตร/ปี พบว่ากระถินยักษ์พันธุ์ Leuchy Kx3B และ Leucle K636 มีน้ำหนักแห้งรวมกิ่งและก้าน เท่ากับ 6.27 และ 5.62 กิโลกรัม/ต้น ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งรวมใบ ดอก และผล ของ 2 สายพันธุ์ เท่ากับ 2.87 และ 3.24 กิโลกรัม/ต้น ตามลำดับ จากรายงานของ Stür *et al.* (1994) พบว่ากระถินที่มีอายุ 13-15, 17-19 และ 21 เดือน ให้ผลผลิตของใบ ประมาณ 1, 2.5 และ 3 กิโลกรัมแห้ง/ต้นในการตัดครั้งแรก และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตน้ำหนักแห้งของ

กระถิน (ส่วนของใบและกิ่งก้าน) กับถั่วอัลฟัลฟ่า (alfalfa) เท่ากับ 6-18 vs 8-9 tons/hectare หรือ 1-3 vs 1.3-1.5 ตัน/ไร่ ตามลำดับ (Anon, 1984)

เฉลิมพล (2526) ได้รายงานผลผลิต CP และ P ของกระถินสายพันธุ์ Cunningham ที่ตัดความถี่ทุก ๆ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ และมีระดับความสูงของการตัด 5, 25 และ 50 ซม. จากผิวดิน ตลอด 24 สัปดาห์ ในระหว่างฤดูฝนพบว่า การตัดที่สูงจากผิวดิน 50 ซม. ให้ผลผลิตของส่วนที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ได้สูงสุด คือ 1.13 ตัน/ไร่ (7.08 ton/hectare) ความถี่ในการตัดที่เหมาะสมอยู่ระหว่างทุก ๆ 6-8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณ CP และ P ลดลงเล็กน้อยเมื่อลดความถี่ในการตัด แต่ไม่มีผลจากความสูงในการตัด เนื่องจากความถี่การตัดมีผลต่อพื้นที่ผิวของใบและอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่มีน้อยภายหลังการตัด นอกจากนี้ผลผลิตยังขึ้นกับ พันธุ์ ภูมิอากาศ และสภาพแวดล้อม พบว่าต้นกระถินที่ตัดสูงจากผิวดินมากที่สุดสามารถฟื้นตัวปกคลุมหน้าดินได้เร็วและใบที่อยู่ส่วนล่างจะเหลืองและหลุดร่วงได้เร็วกว่า

คุณค่าทางอาหารของกระถิน

กระถิน สามารถทนต่อสภาพอากาศแห้งแล้งได้ดี ได้รับการยกย่องให้เป็นไม้เอนกประสงค์ เนื่องจากนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิง ไม้ก่อสร้าง อาหาร ปุ๋ยพืชสด เป็นไม้ให้ร่มเงา ป้องกันการถูกทำลายของหน้าดิน เป็นแนวกันลมและไฟ อีกทั้งยังใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ เพราะมีคุณค่าทางอาหารสูงใกล้เคียงกับถั่วอัลฟัลฟ่า ซึ่งเป็นพืชอาหารสัตว์ที่ให้โปรตีนสูงและเจริญเติบโตได้ดีในแถบภูมิประเทศที่มีอากาศหนาวเย็น (Shelton and Brewbaker, 1994) ดังข้อมูลในตาราง 2.1 พบว่าใบกระถินมีส่วนของ β-carotene สูงกว่าใบอัลฟัลฟ่าถึง 2 เท่า ส่วนพลังงานรวม (GE) มีสูงกว่าอัลฟัลฟ่าเล็กน้อย สำหรับเถ้าและแร่ธาตุนั้นพบว่ากระถินมีน้อยกว่าอัลฟัลฟ่า แต่ข้อจำกัดอีกประการหนึ่งของใบกระถิน คือมีแทนนินสูงกว่าอัลฟัลฟ่ามากจึงอาจเป็นอุปสรรคต่อความน่ากินและการย่อยได้ของโปรตีนในตัวสัตว์

ตาราง 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของใบกระถินเทียบกับใบถั่วอัลฟัลฟ่า

Table 2.1 Chemical composition of leucaena leaf compared with alfalfa leaf.

Composition	Leucaena leaf	Alfalfa leaf
Total N (%)	4.2	4.3
Crude protein (%)	25.9	26.9
Modified-acid-detergent fiber (%)	20.4	21.7
β-carotene (mg/kg)	536.0	253.0
Gross energy (kJ/g)	20.1	18.5
Total ash (%)	11.0	16.6
Ca (%)	2.36	3.15
P (%)	0.23	0.36
Tannin (mg/g)	10.15	0.13

ที่มา : Shelton and Brewbaker (1994)

ส่วนขององค์ประกอบทางเคมีในใบกระถินมีความแตกต่างกันแล้วแต่ว่าจะมีส่วนของกิ่งก้านหรือฝักปนมามากน้อยเพียงใดและยังขึ้นอยู่กับอายุตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ ด้วย อย่างไรก็ตามโปรตีนในกระถินอยู่ในเกณฑ์ที่สูง คือ อยู่ในช่วง 18.9-30.5 %ของวัตถุแห้ง ดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถิน

Table 2.2 Chemical composition of leucaena leaf.

	DM	OM	CP	CF	EE	NFE	Ash	NDF	ADF	ADL
	%		% DM							
Fresh leaf [1/]	-	-	21.0	18.1	6.5	46.0	8.4	-	-	-
Fresh, twigs, young [1/]	31.6	-	27.8	10.4	3.2	55.1	3.5	-	-	-
Leaf [2/]	-	-	18.9	-	-	-	-	48.4	23.6	-
Dry leaf [3/]	89.9	91.5	26.0	11.2	8.8	45.5	8.5	-	-	-
Leucaena [4/]	-	-	30.5	-	-	-	7.1	20.7	-	-
Leucaena [5/]	90.8	89.7	-	-	-	-	-	34.6	19.2	9.4

ที่มา : [1/]Göhl (1975) [2/]Halim (1992) [3/]Cheva-Isarakul (1982) [4/]Dalzell *et al.* (1998) [5/]El hassan *et al.* (2000)

ตาราง 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนของ ใบกระถิน ถั่วอัลฟัลฟ่า กากถั่วเหลือง และปลาป่น

Table 2.3 Amino acid content of leucaena leaf, alfalfa, soybean meal and fish meal.

Amino acid (mg/gN)	Leucaena[1/]	Leucaena leaf[2/]	Leucaena Leaf[3/]	Leucaena leaf[4/]	Alfalfa[1/]	Fish meal[2/]	Soybean meal[2/]
Arginine	294	277	108	294	357	375	463
Cysteine	88	67	97	63	77	69	106
Histidine	125	123	569	119	139	-	181
Isoleucine	563	244	431	244	290	256	294
Leucine	469	444	815	419	494	475	488
Lysine	313	339	233	319	368	500	388
Methionine (M)	100	98	90	75	96	175	88
M + Cystine	188	-	-	-	173	-	-
Phenylalanine	294	283	622	269	307	256	319
Threonine	231	266	515	219	290	269	244
Tyrosine	263	208	375	200	232	-	238
Valine	338	311	590	275	356	325	300
Alanine	-	311	574	269	-	394	275
Aspartic acid	-	864	1,631	575	-	625	756
Proline	-	305	659	306	-	244	300
Glycine	-	278	-	244	-	400	275
Serine	-	279	-	231	-	256	331
Glutamic acid	-	640	1,146	550	-	813	1,138

ที่มา : [1/] Shelton and Brewbaker (1994) [2/] ter Meulen and El-Harith (1985)

[3/]ชาญชัย (2526; อ้างโดย วิสุทธิ์, 2530) [4/] Vearasilp *et al.* (1981)

จากตาราง 2.3 จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดอะมิโนของใบกระถินจากรายงานต่าง ๆ มีค่าต่างกันมาก ซึ่งอาจเนื่องมาจากเหตุผลหลายประการ อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่ากรดอะมิโนต่าง ๆ ในใบกระถินมีค่าใกล้เคียงกับถั่วอัลฟัลฟ่า ปลาป่น และกากถั่วเหลือง ยกเว้น lysine และ methionine ในกระถินที่มีปริมาณน้อยกว่าในปลาป่น เกือบ 2 เท่า จึงทำให้โปรตีนในใบกระถินมีคุณภาพต่ำกว่ากากถั่วเหลืองและปลาป่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้เลี้ยงสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่การใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องอาจไม่เป็นปัญหามากนักเพราะมีจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนช่วยเปลี่ยนให้มีคุณภาพดีขึ้นได้

กระถินมีแร่ธาตุ โพแทสเซียม (K) เหล็ก (Fe) และแมงกานีส (Mn) สูงกว่าความต้องการของโครีดนม ส่วนแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ มีปริมาณใกล้เคียงกับความต้องการของโค ยกเว้น โซเดียม (Na) ที่พบว่ามีปริมาณต่ำกว่าความต้องการมาก ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับพืชอาหารสัตว์ชนิดอื่น ๆ ดังตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ปริมาณแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุปลีกย่อยในใบกระถินเทียบกับความต้องการของโครีดนม

Table 2.4 Macro and micro minerals in leucaena leaf compared with the requirement of milking cow.

	N	Ca	K	Mg	P	S	Cu	Fe	Mn	Na	Zn
	%DM						ppm				
Leucaena leaf[1/]	-	0.5	2.3	0.23	0.40	0.51	6	104	55	374	34
Leucaena leaf[2/]	4.53	0.71	1.84	0.31	0.26	0.27	8.0	164	185	300	29
Requirement of lactating cows[3/]	-	0.73-0.60	0.9-1.0	0.20	0.2-0.40	-	10	50	40	1800	40

ที่มา : [1/]Dalzell *et al.* (1998) [2/]Shelton and Brewbaker (1994) [3/] NRC (1988)

จากตาราง 2.5 พบว่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งของกระถินในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 3 ชนิด มีค่าที่แตกต่างกัน คือ แพะย่อยได้ดีกว่าแกะและโคตามลำดับ อย่างไรก็ดีข้อมูลในตารางนี้เป็นผลจากการทดลองที่ต่างเวลาและสถานที่กัน ดังนั้นนอกจากชนิดของสัตว์แล้วชนิดของอาหารที่ใช้ทดลองยังอาจมีความแตกต่างกันไปตามอายุและปัจจัยอื่น ๆ ด้วย อย่างไรก็ดีพบว่ากระถินมีการย่อยได้ของวัตถุแห้งอยู่ในช่วง 50-69% สอดคล้องกับรายงานของ Sethi and Kulkarni (no date) ที่พบว่าค่าการย่อยได้ของพืชตระกูลถั่วจะอยู่ในช่วง 50-70% และเมื่อพิจารณาในโค พบว่าอัลฟัลฟาย่อยได้ดีกว่ากระถิน

ตาราง 2.5 การย่อยได้ของใบกระถิน และถั่วอัลฟัลฟา ในสัตว์ชนิดต่าง ๆ

Table 2.5 Digestibility of leucaena and alfalfa leaves by different kinds of animals.

	DM	OM	CP	CF	EE	NFE	Ash	Animal
	% digestibility							
Leucaena leaf [1/]	64.1	65.9	64.8	44.3	42.7	76.3	45.1	Sheep
Leucaena leaf[2/]	68.6	-	-	-	-	-	-	Goats
,,	63.2	-	-	-	-	-	-	Sheep
,,	54.8	-	-	-	-	-	-	Cattle
Alfalfa[3/]	68.7	-	-	-	-	-	-	Lactating cows

ที่มา : [1/]Cheva-Isarakul (1982) [2/]Norton (1994) [3/]Merchen and Satter (1983)

ส่วนค่าการย่อยได้ของโภชนะรวม (TDN) ในใบกระถินแห้งที่ศึกษาในโคเนื้อมีค่าเท่ากับ 56% (Göhl, 1975)

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (*in vitro* dry matter digestibility, IVDMD) โดยวิธี Two stages และค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้งในกระเพาะรูเมน โดยวิธี *in sacco* ของถั่วอัลฟัลฟ่า กระถิน กระถินณรงค์ Tagasaste และ Sesbania ดังตาราง 2.6 กระถินมีค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้งสูงกว่าอัลฟัลฟ่า ไม่ว่าจะศึกษาโดยวิธี two stages หรือ *in sacco* แต่เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วยืนต้นชนิดอื่น ๆ พบว่ากระถินมีค่าการย่อยได้ต่ำกว่า Tagasaste และ Sesbania แต่สูงกว่ากระถินณรงค์ เมื่อพิจารณาอัตราการย่อยสลาย พบว่าอัลฟัลฟ่าย่อยสลายได้ดีที่สุด

ตาราง 2.6 การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (%) ในพืชตระกูลถั่ว วัดโดยวิธี Two stages และ *in sacco*
Table 2.6 Dry matter digestibity (%) of legume plants by two stages and *in sacco* methods.

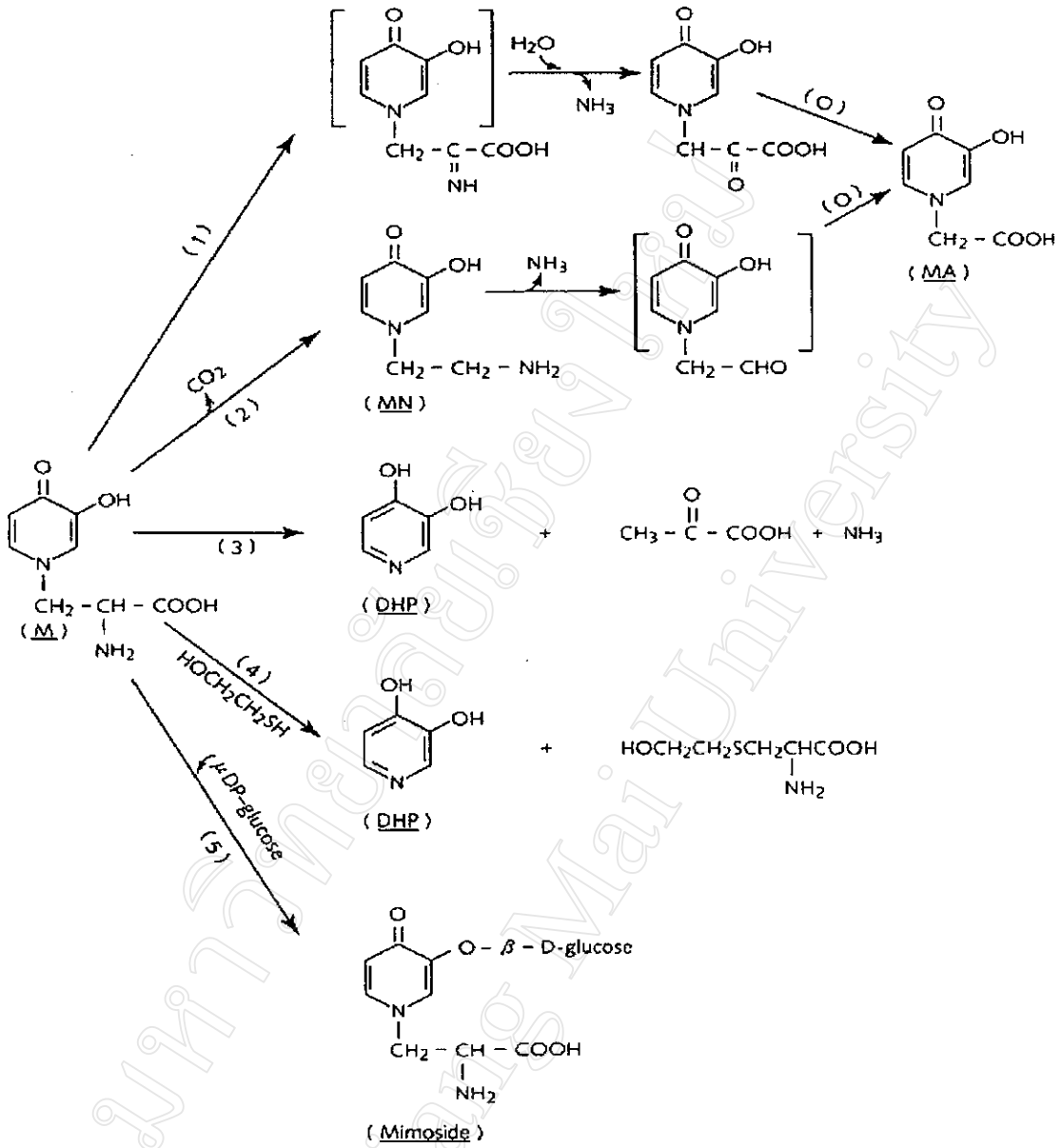
	Two stages	*In sacco*			
		a	b	a+b	c (h^{-1})
ถั่วอัลฟัลฟ่า (*Medicago sativa*)	62.3	42.0	35.7	77.7	0.105
กระถิน (*Leucaena leucocephala*)	66.5	43.5	42.5	86.0	0.036
กระถินณรงค์ (*Acacia angustissima*)	58.6	36.8	37.8	73.6	0.032
Tagasaste (*Chamaecytisus palmensis*)	67.8	56.9	36.8	93.7	0.037
Sesbania (*Sesbania sesban*)	72.3	41.7	50.8	92.5	0.085

a = ส่วนที่ย่อยสลายได้ทันที b = ส่วนที่ย่อยสลายได้เมื่อเวลาผ่านไป c(h^{-1}) = อัตราการย่อยสลายที่ เวลาต่าง ๆ
a+b = ค่าการย่อยสลายได้ทั้งหมด

ที่มา : ดัดแปลงจาก El hassan *et al.* (2000)

ข้อจำกัดของการใช้ใบกระถินเลี้ยงสัตว์

แม้ว่ากระถินจะมีคุณค่าทางอาหารสูง เมื่อเทียบกับพืชอาหารสัตว์ชนิดอื่น ๆ แต่ในธรรมชาติ พบว่ากระถินสามารถสังเคราะห์สารพิษชนิดหนึ่ง คือ มิโมซิน (mimosine) โดยมีกรดอะมิโนไลซีน (lysine) เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์ (Hylin, 1964) และมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ คือ L-mimosine synthase ซึ่งทำงานได้ดีที่ pH 7.8 (Murakoshi *et al.*, 1984) โครงสร้างของสารมิโมซิน และการเปลี่ยนไปเป็นสารอนุพันธ์อื่น ๆ แสดงในภาพ 2.1 สารมิโมซินนี้จัดอยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein amino acid) มีโครงสร้างคล้ายกับกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) มีชื่อทางเคมี คือ β-N-(3-hydroxy-4-pyridone)-α-amino propionic acid และมีสูตรทางเคมี คือ $C_8H_{10}O_4N_2$ สารชนิดนี้จึงมีคุณสมบัติเป็นสารแข่งขัน (antagonist) กับกรดอะมิโนไทโรซีน



M = mimosine, DHP = 3,4-dihydroxypyridine, MN = mimosinamine, MA = mimosinic acid

ภาพ 2.1 การเปลี่ยนมิโมซินไปเป็นสารอนุพันธ์อื่น ๆ

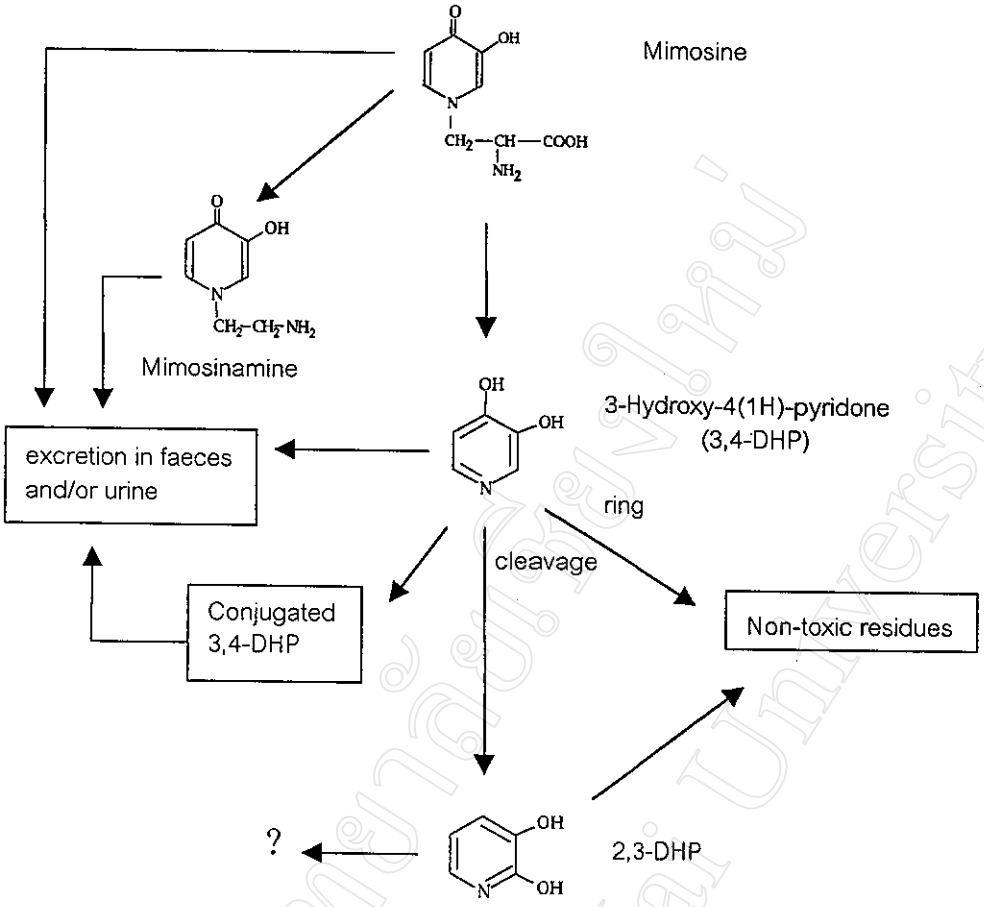
Figure 2.1 Scheme of the proposed metabolic pathway of mimosine. (Sethi and Kulkarni, no date)

สารมิโมซิน พบได้ในพืชตระกูลถั่วเขตร้อนโดยเฉพาะถั่วยืนต้นสกุล *Leucaena* แต่ปริมาณจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น *L. leucocephala* มีสารชนิดนี้เกือบทุกส่วนของต้นพืช โดยมีปริมาณแตกต่างกันไปตามส่วนต่าง ๆ และอายุการเจริญเติบโต เช่น ในช่วงที่เมล็ดเริ่มงอก มีมิโมซินคิดเป็นร้อยละของวัตถุแห้ง 12.3% ในใบมี 2.6-5.1% และในเมล็ดอ่อนมีมากกว่าเมล็ดที่แก่ คือเท่ากับ 6.2 และ 3.2 % ตามลำดับ (Sethi and Kulkarni, no date) และจากรายงานของ Jone (1994) ปริมาณสารมิโมซินนี้ พบมากบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโต เช่น ปลายรากที่เริ่มงอกจากเมล็ด เท่ากับ 8-12% ใบอ่อน 4-6% ในฝักอ่อนที่มีเมล็ด เท่ากับ 4-5% ส่วนในประเทศไทยพบว่าใบกระถินมีมิโมซิน 3-5% แต่กระถินป่นที่มีขายในท้องตลาดจังหวัดเชียงใหม่มีประมาณ 1.2% ใกล้เคียงกับกระถินพื้นเมืองในเขตอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม คือ 1.02-1.22% (วิสุทธิ์, 2530) และ Vearasilp *et al.* (1981) รายงานว่าพบปริมาณมิโมซินในใบกระถินเท่ากับ 6.0 % ของโปรตีนรวม หรือ เท่ากับ 1.2 % ของวัตถุแห้ง

พิษของมิโมซิน

ปัญหาความเป็นพิษของสารมิโมซินต่อสัตว์กระเพาะรวมมักเกิดขึ้นน้อย เนื่องจากเมื่อสัตว์เคี้ยวกระถิน เอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกมา ทำการเปลี่ยนสารมิโมซินไปเป็นสาร DHP ประมาณ 30% ของมิโมซินที่กินเข้าไปมีการเปลี่ยนแปลงก่อนถึงกระเพาะรูเมน (Lowry *et al.* 1983) เมื่อกระถินที่ถูกเคี้ยวผ่านมาถึงกระเพาะรูเมน ส่วนของมิโมซินที่เหลือมีการเปลี่ยนไปเป็นสาร DHP จนหมดในช่วงเวลาสั้น ๆ โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนแต่ถ้าสัตว์กินกระถินที่ตากแห้ง เอนไซม์ภายในเซลล์พืชจะถูกทำลาย ทำให้การเปลี่ยนมิโมซินไปเป็น DHP เกิดภายในกระเพาะรูเมนเท่านั้น (Jones and Megarrity, 1986; Kumar and D'Mello, 1995) โดยกลไกการเปลี่ยนแปลงของ DHP ไปเป็นสารที่ไม่มีพิษยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พอสรุปได้ ดังภาพ 2.2

ดังนั้นจึงพบว่าสัตว์ที่กินกระถินแห้งมีการขับสารมิโมซินออกทางปัสสาวะมากกว่าปกติ แต่ในกรณีที่สัตว์เคยได้กินกระถินสดหรือแห้งมาแล้วจะขับออกในรูปสาร DHP เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มที่เปลี่ยนสารมิโมซินไปเป็นสาร DHP มีการเพิ่มจำนวนประชากรที่เพียงพอต่อการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าว ด้วยเหตุนี้จึงพบว่าสัตว์ที่กินกระถินครั้งแรกมีอาการขนหางร่วงเนื่องจากพิษมิโมซิน ส่วนพิษของ DHP ไม่เกิดรวดเร็วแต่เป็นไปอย่างช้า ๆ นอกจากนี้พบว่าสารมิโมซินและสาร DHP ถูกดูดซึมผ่านผนังทางเดินอาหารได้อย่างรวดเร็ว และการกำจัดสารดังกล่าวมักเกิดขึ้นที่ไตมากกว่าตับ (Kudo *et al.*, 1989; Jones, 1994)



ภาพ 2.2 กระบวนการเปลี่ยนแปลงมิโมซินในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Figure 2.2 Mimosine metabolism in the ruminant. (Kumar and D'Mello, 1995)

อาการของสัตว์ที่กินกระถินปริมาณมากเป็นเวลานาน จะมีการหลั่งน้ำลายมากกว่าปกติ เกิดอาการคอพอก (goitre) ระดับไธรอกซิน (thyroxine) ในซีรั่มลดต่ำลง เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวไม่เพิ่มหรืออาจลดลง เกิดแผลในหลอดอาหารและกระเพาะรูเมน ขนร่วง มีแผลถลอกตามร่างกาย ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ลดลง ร่างกายอ่อนแอ ถ้าเป็นลูกโคจะมีน้ำหนักตัวเบากว่าปกติ และตายในที่สุด แต่อย่างไรก็ดี พบว่าสัตว์กระเพาะรวมที่แสดงอาการเป็นพิษเนื่องจากกินกระถินมีน้อยมาก แต่มักมีระดับไธรอกซินต่ำกว่า 30 nM (Jones, 1994) สาเหตุของอาการเหล่านี้เป็นผลมาจากสาร DHP ถูกดูดซึมเข้าทางกระแสเลือดซึ่งไปรบกวนการทำงานของต่อมไธรอยด์ โดยไปรบกวนการจับตัวของสารอินทรีย์กับไอโอดีนทำให้ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนไธรอกซินได้ ต่อมไธรอยด์จึงถูกกระตุ้นให้สร้างฮอร์โมนไธรอกซินมากขึ้น ก่อให้เกิดอาการคอพอกและเนื่องจากสารมิโมซินมีโครงสร้างคล้ายกับ L-tyrosine จึงมีผลขัดขวางและยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย เช่น ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pyridoxal containing transaminase, tyrosine

decarboxylase ทำให้มีการเจริญเติบโตช้าลง อีกทั้งสารมิโมซินยังไปรบกวนการทำงานของวิตามิน B_6 ซึ่งจำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ cystathionine synthetase และ cystathionase ที่ใช้ในกระบวนการเปลี่ยน methionine ไปเป็น cysteine จึงมีผลทำให้ขนร่วง (Liener, 1989) นอกจากนี้สัตว์กระเพาะเดี่ยวถ้ากินใบกระถินป่นมากกว่า 5-10% ของสูตรอาหารจะทำให้มีการเจริญเติบโตช้า ขนร่วง (alopecia) เป็นต้อกระจก (cataract) อัมพาต (paralysis) ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง ประสิทธิภาพการผลิตลดลง และถ้าได้รับปริมาณมิโมซินมากเกินอาจทำให้ตายได้ (Norton, 1994) สอดคล้องกับรายงานของ Jones and Hegarty (1984) ที่ศึกษาระดับของกระถินในสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ การทำหน้าที่ของต่อมไธรอยด์ และการขับออกของสาร DHP ในโคเนื้อ โดยเสริมใบกระถินระดับ 0, 10, 20, 40, 67 และ 100 % ในสูตรอาหารของโคเพศผู้ตอน พันธุ์ Kimberley Shorthorn จำนวน 12 ตัวน้ำหนักเฉลี่ย 153 $\pm$ 15.6 กิโลกรัม พบว่ากลุ่มที่กิน 0% มีการเพิ่มของน้ำหนักตัวที่คงที่ (0.3 กิโลกรัมต่อวัน) ตลอดการทดลอง 16 สัปดาห์ (112 วัน) ส่วนกลุ่มที่กิน 10, 20 และ 40 % มีน้ำหนักตัวเพิ่มมากกว่ากลุ่ม 0 % หลังทดลอง 12 สัปดาห์แรก หลังจากนั้นกลุ่มที่กิน 10 และ 40% มีน้ำหนักลดลง ส่วนกลุ่มที่กิน 67 และ 100 % ในช่วง 8 สัปดาห์แรกไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก แต่หลัง 8 สัปดาห์พบว่าน้ำหนักลดลง สำหรับปริมาณการกินได้ พบว่าเกือบทุกกลุ่มมีการกินได้ค่อนข้างคงที่ ยกเว้นกลุ่มที่กิน 67 และ 100% ที่ปริมาณการกินลดลงอย่างรวดเร็ว และที่ 10 สัปดาห์ กลุ่มที่กิน 40% มีการกินได้ลดลงเช่นเดียวกัน

ปริมาณการกินได้ของสารมิโมซิน และการขับออกของ DHP ทางปัสสาวะ พบว่าการขับออกของ DHP จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อสัตว์กินกระถินเพิ่มขึ้น หรือกินมิโมซินเพิ่มขึ้น คือปริมาณ DHP ที่ขับออกเท่ากับ 33.2, 40.2, 42.6, 38.0 และ 55.7% ของมิโมซินที่กินเข้าไป เมื่อกินกระถิน 10, 20, 40, 67 และ 100 %ในสูตรอาหารตามลำดับ ส่วนการทำงานของต่อมไธรอยด์ พบว่าระดับของฮอร์โมนไธรอกซินในเลือดของกลุ่มที่กิน 40, 67 และ 100% มีปริมาณต่ำกว่า 20 นาโนโมลต่อลิตร หลังจากกินแล้ว 6 สัปดาห์ ส่วนกลุ่มที่กินน้อยกว่า พบว่าระดับฮอร์โมนไธรอกซินเป็นปกติไม่มีการลดลง

จุลินทรีย์ในรูเมนของสัตว์ในแต่ละพื้นที่ที่มีผลต่อมิโมซิน และ DHP

ปี ค.ศ. 1979 ในฮาวาย พบว่าแกะที่กินกระถิน 50% และลูเซิร์น (lucern) 50% ซึ่งคิดเป็นปริมาณมิโมซินที่ได้รับเท่ากับ 16-21 กรัมต่อวัน ไม่มีอาการเจ็บป่วยอันเนื่องจากมิโมซิน และในการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับมิโมซินดังกล่าวไม่มีผลต่อความอยากกินอาหารระดับของไธรอกซินในเลือด และขนาดของต่อมไธรอยด์ อีกทั้งยังไม่พบแผลตามทางเดินอาหาร และที่น่าสนใจมากที่สุด คือ ไม่พบสาร DHP ในปัสสาวะเลย ซึ่งการทดลองครั้งนี้ต่างจากที่พบในประเทศออสเตรเลีย (Jones, 1994)

และในปี ค.ศ. 1981 คณะนักวิจัยของ Jones ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพน้ำรูเมนของแพะในประเทศอินโดนีเซีย พบว่าสามารถย่อยสลาย DHP ได้ ในการทดลองนี้ ได้นำแพะจากออสเตรเลียมาทำการทดลองที่อินโดนีเซีย จำนวน 4 ตัว โดย 2 ตัวมีการถ่ายน้ำรูเมนจากแพะที่เลี้ยงในอินโดนีเซียลงในแพะจากออสเตรเลีย พบว่าแพะจากออสเตรเลียสามารถย่อยสลาย DHP ได้ เมื่อทำการเลี้ยงได้ 5 วัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับการถ่ายน้ำรูเมนจากแพะอินโดนีเซีย (กลุ่ม 2) มี DHP ในปัสสาวะหลังวันที่ 5 น้อยกว่าเดิม แต่กลุ่มที่ไม่ได้รับการถ่าย (กลุ่ม 1 เป็นกลุ่มควบคุม) มี DHP ในปัสสาวะสูงเช่นเดิม ส่วนปริมาณอาหารที่กินได้ พบว่าหลังวันที่ 5 กลุ่ม 2 กินอาหารได้มากกว่าเดิม และมากกว่ากลุ่มควบคุมถึง 2 เท่า (Jones, 1994)

หลังจากนั้นได้มีการถ่ายน้ำรูเมนจากแพะกลุ่มที่ 2 ให้กับกลุ่มควบคุม พบว่าหลังการถ่าย 5 วันสาร DHP ในปัสสาวะของกลุ่มที่ 1 ลดลง และสามารถกินอาหารได้เพิ่มขึ้น จาก 200 เป็น 400 กรัมต่อวัน เช่นเดียวกับกลุ่ม 2

Jones and Megarrity (1983) ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการขับสาร DHP ทางปัสสาวะของแพะที่ออสเตรเลีย กับ แพะที่ฮาวาย ที่กินกระถินที่มีปริมาณมิโมซินเฉลี่ยเท่ากับ 20 กรัมต่อวัน พบว่า ปริมาณ DHP ที่ขับออกทางปัสสาวะของแพะที่ออสเตรเลีย เท่ากับ 6.9-13.8 กรัมต่อวัน ส่วนแพะที่ฮาวาย มีการขับออก ต่ำกว่า 0.05 กรัมต่อวัน และหลังสัปดาห์ที่ 3 พบว่าแพะที่ออสเตรเลียมีระดับฮอร์โมนไธรอกซินต่ำ ต่อมไธรอยด์โตขึ้น เกิดแผลที่ผนังทางเดินอาหารและที่ reticulo-rumen เมื่อนำน้ำรูเมนจากแพะที่กินกระถิน มาศึกษาการย่อยสลายของสาร DHP ในใบกระถิน แบบ *in vitro* พบว่าแพะที่ฮาวายสามารถเปลี่ยนสารมิโมซินไปเป็นสาร DHP ได้ภายใน 1 ชั่วโมง และหลังจากนั้นจะมีการย่อยสลาย DHP จนเหลือเท่ากับที่มีอยู่ในน้ำรูเมนเริ่มต้น ส่วนแพะที่ออสเตรเลีย พบว่าไม่มีการย่อยสลายสาร DHP ตลอด 25 ชั่วโมง

Kudo *et al.* (1984) ได้ศึกษาอัตราการทำลายมิโมซินโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนที่ได้จากโคและแกะในประเทศแคนาดา ที่กินอาหารข้นเต็มที่ เทียบกับที่กินอาหารหยาบเต็มที่ พบว่า น้ำรูเมนที่ได้จากการกินอาหารข้นจะมีอัตราการทำลายมิโมซินได้เร็วกว่าที่กินอาหารหยาบเต็มที่ กล่าวคือ โค มีอัตราการทำลาย เท่ากับ 2.17 vs 0.44 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร/ชั่วโมง ส่วนแกะ เท่ากับ 2.88 vs <1.87 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร/ชั่วโมง

หลังการค้นพบในครั้งนั้น ได้มีการศึกษาต่อโดยนำเชื้อจุลินทรีย์จากกระเพาะแพะที่เลี้ยงบนเกาะ Maui ที่กินกระถิน มาเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีสาร DHP และมิโมซิน พบว่าสารดังกล่าวถูกย่อยสลายหมด และพบจุลินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่มแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อน (gram negative rods) เป็นตัวย่อยสลาย จุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถอยู่ได้ในสภาพไร้ออกซิเจน จึงทดลองนำอาหารที่มีจุลินทรีย์กลุ่มนี้บรรจุลงในหลอดทดลอง 10 หลอด มีปริมาตร 9 ml นำไปถ่ายลงในกระเพาะ

รูเมนของโคที่แสดงอาการเป็นพิษเนื่องจากกินกระถิน ใน Townsville และ Oonoonba หลังจากได้รับการถ่ายเชื้อแล้ว พบว่า โคมีการขับถ่ายมิโมซิน และ DHP เพิ่มขึ้น และกินอาหารได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า จุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถย่อยสลายสารมิโมซิน และ DHP สามารถแพร่กระจายจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้เองโดยธรรมชาติภายใน 5 สัปดาห์ (Jones, 1994) ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้พบได้หลายประเทศ ดังตาราง 2.7

ตาราง 2.7 การกระจายของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสาร DHP

Table 2.7 Distribution of DHP degrading bacteria.

Countries with the DHP degrading bacteria	Countries without the DHP degrading bacteria
India	Africa
Indonesia	Australia
Malaysia	China
Mexico	Ethiopia
Seychelles	Fiji
Thailand	Japan
Vanuatu	Kenya
	Nigeria
	Papua New Guinea*
	South Africa
	Tanzania
	USA
	Zaire
	Zimbabwe

* Later samples, from the site at Lae, showed that DHP degrading bacteria were present. They were probably introduced via Javanese Zebu cattle from Indonesia.

ที่มา : Jones (1994)

จากการศึกษาและจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสาร 3,4-DHP และ 2,3-DHP พบว่ามีลักษณะเป็นท่อน (rod) มีขนาด 1 x 0.5 pm จัดอยู่ในประเภทแกรมลบ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพไร้ออกซิเจน และทนอุณหภูมิได้ 20-50^{o}C หากอุณหภูมิสูงเกิน 55^{o}C พบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะถูกทำลาย จากการศึกษาส่วนของผนังเซลล์พบว่ามีองค์ประกอบของเซลล์และ rRNA ต่างจากจุลินทรีย์อื่น ๆ จึงได้มีการตั้งชื่อจุลินทรีย์นี้ตามชื่อผู้ค้นพบ คือ *Synergistes jonesii* และเมื่อนำจุลินทรีย์กลุ่มนี้มาแยกเลี้ยงในอาหาร (media) สามารถเก็บรักษาเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 1

ปี เมื่อนำไปเพาะแยกในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ สามารถเจริญได้ดีและย่อยสลายสาร DHP ได้ (Allison *et al*., 1992)

แม้ว่าจะมีการค้นพบจุลินทรีย์ที่สามารถลดความเป็นพิษของสารมิโมซินลงได้ อย่างไรก็ดีเพื่อความปลอดภัยในการนำกระถินมาเลี้ยงสัตว์ ควรกำหนดปริมาณที่ให้สัตว์กิน แต่เนื่องจากความแตกต่างทางด้านสายพันธุ์ของสัตว์ สายพันธุ์กระถิน และ ความเคยชินในการกินของสัตว์ ดังนั้นปริมาณกระถินสดที่ควรให้สัตว์กินจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ดังนี้ ในวัว-ควาย ควรให้ไม่เกิน 30% แพะไม่เกิน 50% ของอาหารทั้งหมด (Kumar, 1992) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง คือ วัว-ควายสามารถกินปริมาณมิโมซินได้ไม่เกิน 0.18 g/kgBW แพะและแกะไม่เกิน 0.18 และ 0.14 g/kgBW ตามลำดับ (Kumar and D' Mello, 1995)

ผลการใช้ใบกระถินในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ในประเทศไทยได้มีการนำใบกระถินทั้งในรูปสด และแห้งมาใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังเช่น รายงานของ จินตนา และคณะ (2526) ได้ทดลองให้โคลูกผสมบราห์มัน ที่มีน้ำหนักตัวเริ่มต้น 120 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว กินใบกระถินสด คิดเป็นร้อยละ 50 ของอาหารทั้งหมด เป็นเวลา 232 วัน พบว่าโคมีอาการเป็นพิษไม่พร้อมกัน คือ โค 1 ตัว แสดงอาการเป็นพิษหลังจากกินกระถิน 80 วัน โค 2 ตัว แสดงอาการหลังกินได้ 8 เดือน และอีก 2 ตัว ไม่แสดงอาการเป็นพิษ โดยอาการดังกล่าวนั้น คือ น้ำตาไหลตลอดเวลา น้ำลายไหล และน้ำหนักตัวลด แต่อาการเหล่านี้จะหายไปเมื่อไม่ให้กินกระถิน ซึ่งต่างจากรายงานของ จินดา และคณะ (2529) ที่ใช้ใบกระถินสดเพียงอย่างเดียวขุนกระบือลูกผสมมูร่าห์เพศผู้ตอน อายุประมาณ 2 ปี 6 เดือน จำนวน 2 ตัว โดยให้กินอย่างเต็มที่นาน 768 วัน กระบือสามารถกินได้ 58.53 กิโลกรัมสด/ตัว/วัน หรือเท่ากับ 5.88 กิโลกรัมแห้ง/ตัว/วัน มีอัตราการเจริญเติบโตตลอดการทดลองเฉลี่ย 0.27 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการอันเนื่องจากพิษของมิโมซินทั้งลักษณะภายนอก และทางพยาธิของอวัยวะภายใน

บุญเสริม และบุญล้อม (2529) ได้ศึกษาการเสริม และไม่เสริมใบกระถินแห้ง ร่วมกับฟางปรุงแต่งยูเรีย 5% โดยทดลองในโครุ่นลูกผสม ขาว-ดำ อายุประมาณ 7 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 105 กิโลกรัม จำนวน 2 กลุ่ม ๆ ละ 6 ตัว โดยกลุ่มที่ 1 กินฟางปรุงแต่งเต็มที่ กลุ่มที่ 2 กินฟางปรุงแต่งเสริมใบกระถินแห้ง 0.5 กิโลกรัม/ตัว/วัน และทั้ง 2 กลุ่มได้รับรำละเอียด 1 กิโลกรัม/ตัว/วัน เป็นเวลา 98 วัน พบว่ากลุ่มที่ 2 กินอาหารได้มากกว่ากลุ่มที่ 1 คิดเป็นปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้ เท่ากับ 2.8 vs 2.4 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีผลให้อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่ม 1 อย่างมีนัยสำคัญ

บุญล้อม (2531) ได้ทดลองเปรียบเทียบให้แกะเพศผู้ น้ำหนักเฉลี่ย 19.8 กิโลกรัม แบ่งเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว แต่ละกลุ่มกินฟางข้าวหมักยูเรีย 4% +ใบกระถินสด 1 กิโลกรัม/ตัว/วัน และฟางข้าวราดยูเรีย 2% + กากน้ำตาล 10% + ใบกระถินสด 1 กิโลกรัม/ตัว/วัน เป็นเวลา 69 วัน พบว่าแกะมีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น และไม่มีอาการเป็นพิษเนื่องจากมิโมซินเช่นกัน แม้ว่าเมื่อคิดเป็นปริมาณกระถินแห้งที่กินต่อน้ำหนักตัว เท่ากับ 1.3%

Cheva-Isarakul and Potikanond (1986) ศึกษาการไม่เสริม และเสริมใบกระถินแห้งในโคเพศผู้ น้ำหนักเฉลี่ย 90 กิโลกรัม อายุ 6-7 เดือน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 กินอาหารข้น 960 กรัมแห้ง/ตัว/วัน และฟางปรุงแต่งยูเรีย 6% โดยให้กินเต็มที่ กลุ่มที่ 2 กินเช่นเดียวกับ 1 แต่เสริมใบกระถินแห้ง 0.5 กิโลกรัม/ตัว/วัน พบว่าโคกลุ่ม 1 และ 2 มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 0.42 vs 0.48 กิโลกรัม/วัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเท่ากับ 6.89 vs 6.51 กิโลกรัมอาหาร/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่โคกลุ่มที่ 2 ซึ่งกินกระถินมีต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัวต่ำกว่ากลุ่มที่ 1 (10.9 vs 12.4 บาท/กิโลกรัม)

นอกจากนี้ในรายงานของ Gupta and Atreja (1999) ที่ศึกษาในแพะรีดนม ลูกผสม Alpine x Beetal อายุ 2 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 30 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว โดยเพิ่มปริมาณใบกระถินแห้งในอาหารทุก ๆ 1 สัปดาห์ คิดเป็นร้อยละ 24, 47, 75 และ 100 ของอาหารในแต่ละสัปดาห์ หรือคิดเป็นปริมาณสารมิโมซินที่แพะกิน เท่ากับ 8.4, 14.8, 25.4 และ 28.6 กรัม/ตัว/วัน ตลอดระยะเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณน้ำนมลดต่ำลงในสัปดาห์ที่ 4 (1000-1473 vs 508 มิลลิลิตร/วัน) เนื่องจากสูตรที่มีกระถินสูงกว่า 75% ขาดสมดุลโภชนะจึงมีผลต่อการผลิตน้ำนม แต่เมื่อปรับให้อาหารมีโภชนะที่ดีขึ้นด้วยการลดปริมาณใบกระถินลง พบว่าปริมาณน้ำนมมีการเพิ่มขึ้น เมื่อนำตัวอย่างน้ำนมที่สุ่มเก็บทุก ๆ สัปดาห์มาวิเคราะห์ปริมาณสารมิโมซิน และสาร DHP ไม่พบสารดังกล่าวแต่อย่างใด แสดงให้เห็นว่าไม่มีการขนส่งสารดังกล่าวไปยังต่อมสร้างน้ำนมหรืออาจมีสารอื่นเป็นตัวขัดขวาง และในการทดลองนี้เมื่อเก็บตัวอย่างเลือดของแพะมาวิเคราะห์หาปริมาณสารมิโมซินและ DHP ในซีรั่ม ไม่พบสารมิโมซิน แต่พบสาร 3,4-DHP เป็นการแสดงให้เห็นถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงของสารมิโมซินเป็นสาร DHP เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในกระเพาะรูเมน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (Jones and Megarrity, 1986; Kumar and D'Mello, 1995)

นอกจากนี้การเสริมอาหารด้วย กรดอะมิโน Fe^{2+}, Al^{3+} Zn^{+2} และ $ZnSO_3$ (Zinc sulphate) พบว่าช่วยป้องกันการเกิดแผลถลอก (lesion) ตามร่างกาย และช่วยเพิ่มน้ำหนักตัว แต่ไม่มีผลต่อระดับไธรอกซินในซีรั่ม เป็นไปได้ว่า Zn และแร่ธาตุตัวอื่นจะรวมตัว (chelation) กับ มิโมซิน และ DHP ทำให้คุณสมบัติของสารทั้ง 2 เปลี่ยนแปลงไป จึงช่วยลดการเกิดความเป็นพิษได้ (Lopez *et al.*, 1979; Kumar, 1992)

กรรมวิธีลดปริมาณมิโมซิน

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาหาวิธีลดปริมาณสารมิโมซินเพื่อให้สามารถนำใบกระถินไปใช้เลี้ยงสัตว์ได้อย่างปลอดภัยขึ้น ดังรายงานต่อไปนี้

ไพโชค (2526) ได้นำใบกระถินสายพันธุ์พื้นเมือง และกระถินยักษ์ที่เกษตรกรใช้กันอย่างแพร่หลายในเขตอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี มาแยกส่วนที่เป็นกิ่งก้านออกใช้เฉพาะส่วนที่เป็นใบ พบว่าในใบกระถินพันธุ์พื้นเมือง และกระถินยักษ์มีมิโมซิน เท่ากับ 1.02 และ 1.22 %ของวัตถุแห้ง เมื่อนำมาลดมิโมซินโดยกรรมวิธีการตากแห้ง 11 ชั่วโมง นึ่งไอน้ำ 1 ชั่วโมง และแช่ใน 0.2 % $FeSO_4$ 15 นาที พบว่าสามารถลดมิโมซินในใบกระถินยักษ์ลงได้ 51.13, 13.96 และ 88.69% ส่วนกระถินพื้นเมืองลดลงเท่ากับ 33.8, 48.60 และ 90.79 % เมื่อเทียบกับในใบสด แสดงว่าวิธีที่ลดมิโมซินได้ดีที่สุด คือ การแช่ใน 0.2 % $FeSO_4$ 15 นาที เนื่องจาก $FeSO_4$ มีคุณสมบัติเป็นสารที่จับตัว (chelating agent) กับมิโมซินได้ดีทำให้มีการตกตะกอน และไม่สามารถดูดซึมผ่านผนังทางเดินอาหารได้ แต่การใช้สาร $FeSO_4$ ไม่ควรเกิน 0.2 % ในสูตรอาหารเนื่องจากมีแนวโน้มไปขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุตัวอื่น โดยเฉพาะหมู่ฟอสเฟต (Ross and Springhall, 1963)

สุวรรณา (2527) ได้นำใบกระถินที่ขึ้นภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม มาแยกใช้เฉพาะส่วนของใบ ได้ผลดังตาราง 2.8 พบว่าวิธีที่ลดมิโมซินได้ดีที่สุด คือนำใบกระถินแห้งมาแช่น้ำนาน 15 นาทีถึง 24 ชั่วโมงแล้วนำมาตากให้แห้ง หรือใช้ใบสดสับแช่น้ำ 24 ชั่วโมงแล้วนำมาตากให้แห้ง แต่ถ้าใช้ใบสดแช่น้ำเพียง 15 นาทีลดลงได้น้อยมาก (9.92%) ส่วนการนำใบสดแช่ใน $FeSO_4$ ได้ผลในการลดมิโมซินต่ำกว่าที่ ไพโชค (2526) รายงานไว้ แต่ถ้าเป็นใบกระถินแห้งแช่ใน $FeSO_4$ จะให้ผลใกล้เคียงกับการนำใบกระถินสดแช่ใน 0.2 % $FeSO_4$ 15 นาที ของไพโชค (2526) ส่วนวิธีการผึ่งลมและผึ่งแดด ทำให้ปริมาณมิโมซินลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นการลดมิโมซินที่ได้ผลควรทำโดยการนำใบกระถินไปแช่ในสารละลายเฟอรัสซัลเฟตหรือแช่ในน้ำก่อนแล้วนำมาผึ่งแดดให้แห้ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ธีระ (2530) ที่ได้ทดลองนำใบกระถินแห้งซึ่งมีปริมาณมิโมซิน 2.28% บรรจุในกระสอบป่านแล้วนำไปแช่ในน้ำไหลเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาผึ่งแดดจนแห้ง พบว่ามีปริมาณมิโมซินเหลืออยู่ 0.31 และ 0.27 % หรือคิดเป็นปริมาณที่ลดลง เท่ากับ 86.40 และ 88.16%ตามลำดับ วิธีการนี้อาจจะเหมาะสมเฉพาะบริเวณที่มีทางน้ำไหลผ่านและในช่วงฤดูกาลที่มีแสงแดดเพียงพอต่อการผึ่งใบกระถินให้แห้งเท่านั้น

ตาราง 2.8 กรรมวิธีลดปริมาณมิโมซินในใบกระถิน

Table 2.8 Treatments for reduction of mimosine in leucaena leaf.

Mimosine reduction method	Mimosine	
	% DM	% Reduction
ใบกระถินสด	3.93	0
ใบสดสับแช่ 0.2 % $FeSO_4$ 15 นาที ตากแห้ง	1.06	73.03
ใบสดสับแช่ 0.4 % $FeSO_4$ 15 นาที ตากแห้ง	0.87	77.86
ใบสดสับแช่น้ำ 15 นาที ตากแห้ง	3.54	9.92
ใบสดสับแช่น้ำ 24 ชั่วโมง ตากแห้ง	0.39	90.08
ใบกระถินตากแห้ง	3.36	14.50
ใบแห้งแช่ 0.2 % $FeSO_4$ 15 นาที ตากแห้ง	0.58	85.24
ใบแห้งแช่ 0.4 % $FeSO_4$ 15 นาที ตากแห้ง	0.40	89.82
ใบแห้งแช่น้ำ 15 นาที ตากแห้ง	0.39	90.08
ใบแห้งแช่น้ำ 24 ชั่วโมง ตากแห้ง	0.38	90.33
ใบแห้งบดแช่น้ำ 15 นาที ตากแห้ง	2.20	44.02
ใบกระถินผึ่งลมแห้ง	3.85	2.04

ที่มา : สุวรรณา (2527)

Wee and Wang (1987) ได้นำตัวอย่างใบกระถินที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย มาทำการวิเคราะห์ปริมาณมิโมซิน โดยนำใบกระถินมาตากจนแห้ง เป็นเวลา 2 วัน แล้วบดด้วยโกร่ง (pestle and mortar) พบว่ามิโมซินลดลงจากเดิม คือ 5.56 เป็น 3.00 %ของวัตถุแห้ง และเปรียบเทียบระหว่างใบกระถินสดที่หั่นด้วยมีด กับที่ไม่ได้หั่น ใส่ในถุง polyethylene แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ (30-100 °C) จากนั้นนำมาตากให้แห้งแล้ววิเคราะห์ปริมาณมิโมซิน ได้ผลดังตาราง 2.9

จะเห็นได้ว่าปริมาณการลดลงของมิโมซินหลังตากแห้ง มีความแตกต่างกันไปในแต่ละรายงาน ซึ่งน่าจะมีผลมาจากกระบวนการก่อนตาก เช่น การหั่น วิธีการหั่น และขนาดชิ้น เป็นต้น เนื่องจากการหั่น หรือการทำให้เซลล์พืชแตกออกอาจช่วยให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายสารมิโมซิน มีการสัมผัสกับสารต่าง ๆ ได้ดีขึ้น หรืออาจมีผลทำให้เอนไซม์มีการเสียสภาพได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ดี พบว่ากระถินที่หั่น กับที่ไม่ได้หั่น มีปริมาณมิโมซินไม่แตกต่างกัน คือ 2.87 vs 3.00 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการหั่นในการทดลองนี้ไม่ได้ช่วยให้เอนไซม์มีการทำงานที่ดีขึ้นจึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของมิโมซินและพบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นกับระยะเวลาในการแช่น้ำร้อนมีความสัมพันธ์กับการลดลงของมิโมซิน คือเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและ/หรือใช้ระยะเวลาในการแช่นานขึ้นยิ่งทำให้มิโมซินลดลง

ตาราง 2.9 ผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาในการแช่ ต่อการสลายตัวของมิโมซิน

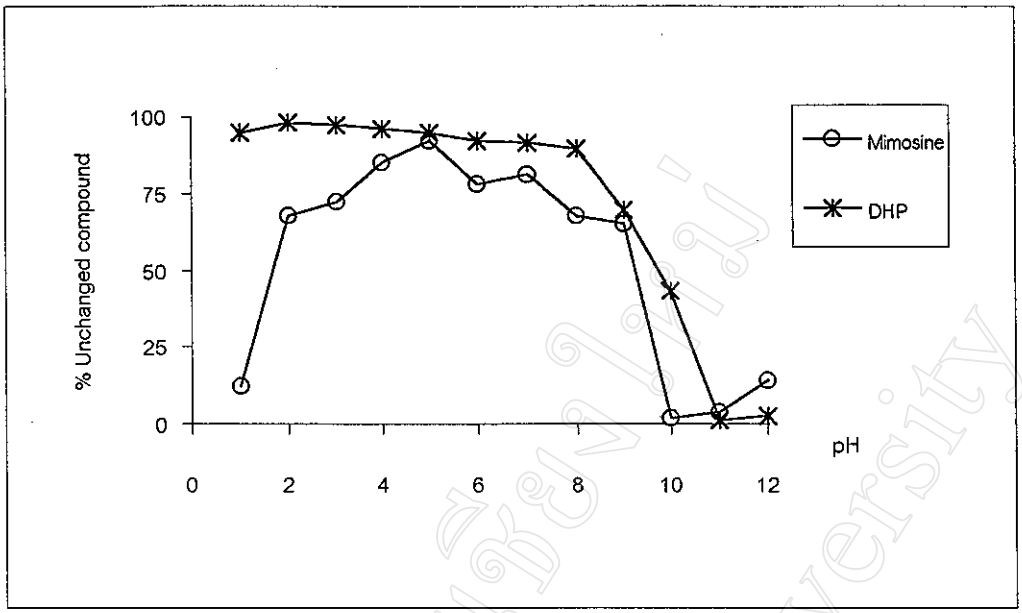
Table 2.9 Effect of water temperature and submergence time on mimosine degradation.

Submergence	Mimosine content (% DM)							
Time (minute)	0		5		10		20	
Temperature (°C)	WL	ML	WL	ML	WL	ML	WL	ML
30	3.00	2.87	2.68	2.48	2.56	2.42	2.40	2.26
45	3.00	2.87	1.88	1.68	1.76	1.57	1.52	1.44
60	3.00	2.87	1.44	1.36	1.30	1.21	1.15	1.00
75	3.00	2.87	1.32	1.24	1.26	1.08	1.04	0.82
90	3.00	2.87	1.12	0.96	0.88	0.64	0.60	0.48
100	3.00	2.87	0.62	0.36	0.32	0.24	0.21	0.16

WL = Whole leaves, ML = Macerated leaves ที่มา : Wee and Wang (1987)

ผลของ pH และอุณหภูมิ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของมิโมซิน และ DHP

Wills and Tangendjaja (1981) พบว่าปริมาณที่ลดลงของสารมิโมซินมีความสัมพันธ์กับปริมาณ DHP ที่เพิ่มขึ้น โดยการนำสารละลาย มิโมซิน (15.4 mg/l) และ DHP (19 mg/l) ปรับให้มี pH ต่างกัน ด้วยสาร 10 M HCl หรือ 5 M NaOH จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 118°C นาน 2 ชั่วโมง ได้ผลดังภาพ 2.3 พบว่าที่ pH < 2 และ > 9.5 ปริมาณมิโมซินลดลงเกือบหมด แต่ที่ pH 4-7 มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย และเป็นไปในทำนองเดียวกับปริมาณ DHP ซึ่งคงที่ในช่วง pH < 9.5 และลดลงจนเกือบหมดเมื่อมี pH ≥ 11 ทั้งนี้อาจเนื่องจากในช่วง pH 1-2 มิโมซินเปลี่ยนไปเป็น DHP แต่ที่ pH > 11 ทั้งมิโมซินและDHP มีการลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเกิดจากสารมิโมซินเปลี่ยนไปเป็นสารอื่นที่ไม่ใช่ DHP และเมื่อนำช่วง pH ที่มิโมซิน และ DHP ลดลงมาทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ได้ผลดังตาราง 2.10 พบว่า ปริมาณมิโมซินลดลงมากที่สุด (86-93 %) ที่ 120 °C ไม่ว่า pH จะอยู่ที่ระดับใด ส่วน DHP ที่ให้ความร้อนนาน 30 นาที พบว่าลดลงมากที่สุดที่อุณหภูมิ 120 °C pH 11.5 แต่ที่อุณหภูมิเพียง 80 °C pH 12.5 ก็สามารถลด DHP ลงได้มากเท่ากับที่อุณหภูมิ 100 หรือ 120 °C



ภาพ 2.3 ความเสถียรของมิโมซิน และ DHP ในสารละลายที่มี pH ต่างกัน ณ อุณหภูมิ 118°C นาน 2 ชม.

Figure 2.3 Stability of mimosine and DHP in solutions at different pH after heating at 118 °C for 2 hr. (Wills and Tangendjaja, 1981)

ตาราง 2.10 ความเสถียรของมิโมซิน และ DHP ในสารละลายด่าง เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

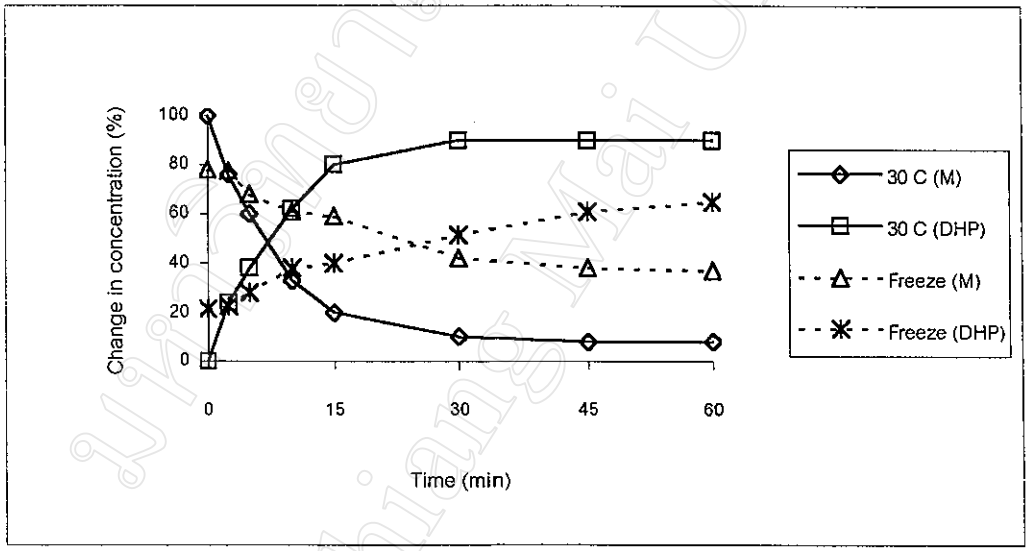
Table 2.10 Stability of mimosine and DHP after heating in alkaline conditions at different temperature.

Alkaline conditions	Temperature (°C)				
(pH)	40	60	80	100	120
% Mimosine unchanged after heating 2 hr					
10.0	95	86	79	39	5
11.5	85	65	33	9	4
12.5	89	80	78	59	17
% DHP unchanged after heating 30 minute					
10.0	99	94	91	82	41
11.5	100	89	63	20	10
12.5	98	67	14	14	15

ที่มา : Willls and Tangendjaja (1981)

จากรายงานของ Lowry *et al.* (1983) พบว่ากระบวนการเปลี่ยนแปลงมิโมซินไปเป็น 3-hydroxy-4-1(H) pyridone (DHP) สามารถเกิดขึ้นเองภายในเซลล์ของใบกระถินสด การนำใบกระถินสดที่ผ่านกรรมวิธีต่างกัน 2 วิธี คือ 1. แช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 0-60 นาที 2. แช่แข็งทันทีที่

–10°C จากนั้นนำออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26°C) เป็นเวลา 0-60 นาทีเช่นกัน จัดให้อยู่ในสภาพป้องกันการแห้งจากสภาวะภายนอก พบว่าการแช่น้ำอุ่นนานขึ้นทำให้มิโมซินเปลี่ยนไปเป็น DHP เพิ่มขึ้น หลังจากแช่ทิ้งไว้ 30 นาที การเปลี่ยนแปลงจะคงที่ทั้งนี้เนื่องจากน้ำที่แช่มีความเข้มข้นของสารสูงขึ้นจึงส่งผลให้เกิดความหนืดในการเปลี่ยนแปลงของสารมิโมซิน ส่วนใบกระถินสดที่แช่แข็งทันทีเมื่อนำกลับมาทิ้งในอุณหภูมิปกติ (26°C) มิโมซินจะเปลี่ยนเป็น DHP ได้น้อยกว่าใบสดที่แช่ในน้ำอุ่น แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์และสารที่อยู่ภายในเซลล์ยังสามารถทำงานได้อีกแม้ว่าจะน้อยกว่าใบสดที่แช่ในน้ำอุ่นก็ตาม อาจเป็นเพราะการแช่แข็งทำให้สารหรือเอนไซม์ภายในเซลล์เสียสภาพไปบางส่วน เมื่อนำใบกระถินสดส่วนที่เป็นใบย่อย (leaflets) มาแยกส่วนประกอบต่าง ๆ เพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์ในก้านใบ (petiole), เส้นกลางใบ (rachis) และเส้นใบย่อย (rachillae) พบว่าไม่ปรากฏปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสารมิโมซินไปเป็น DHP แม้ว่าในส่วนดังกล่าวมีมิโมซินประมาณ 25% ของมิโมซินทั้งหมด สำหรับส่วนของลำต้นที่มีเนื้อเยื่อสีเขียว (green stem tissue) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่มีการเปลี่ยนแปลงมากที่บริเวณยอด (apex)

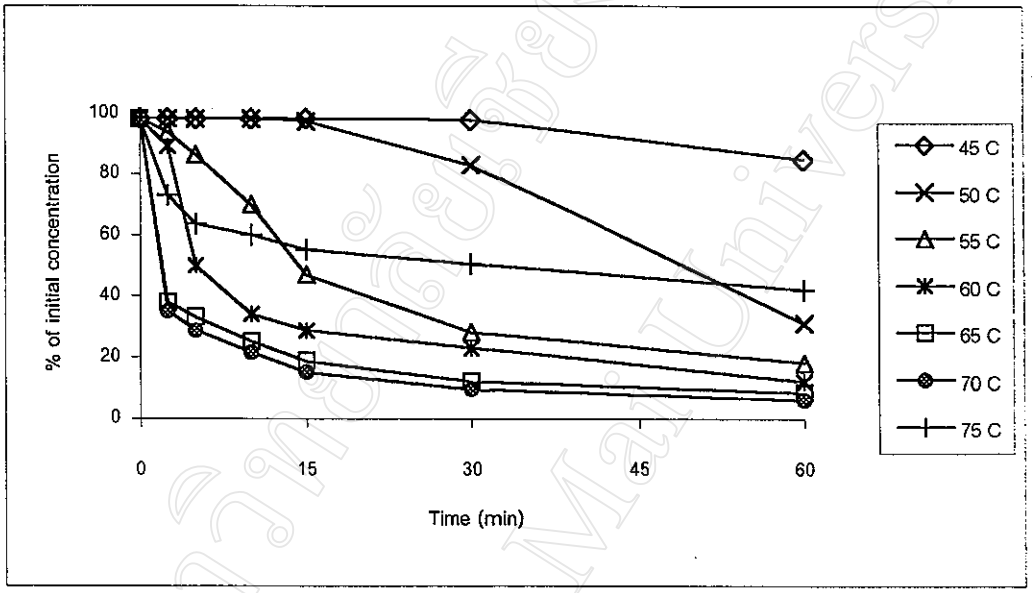


ภาพ 2.4 ความเข้มข้นของมิโมซิน และ DHP ที่เปลี่ยนแปลงไป (M = mimosine)

Figure 2.4 Changes mimosine and DHP relative molar concentration. (Lowry *et al.*, 1983)

เมื่อแยกส่วนของลำต้นมาทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ พบว่าส่วนที่อ่อนจะมีการทำงานของเอนไซม์ และมีสารมิโมซินมากกว่าส่วนที่แก่กว่า นอกจากนี้ในส่วนของฝัก (pod) จะมีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับใบ กล่าวคือส่วนของฝักจะมีลักษณะที่เป็นท่อลำเลียง (vascular tissue) คล้ายเส้นกลางใบซึ่งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของมิโมซินประมาณ 25% ของน้ำหนักสด แต่ส่วนของเปลือกที่เป็นสีเขียวซึ่งคล้ายกับส่วนของแผ่นใบ (lamina) มีการเปลี่ยนแปลงเกือบ 100%

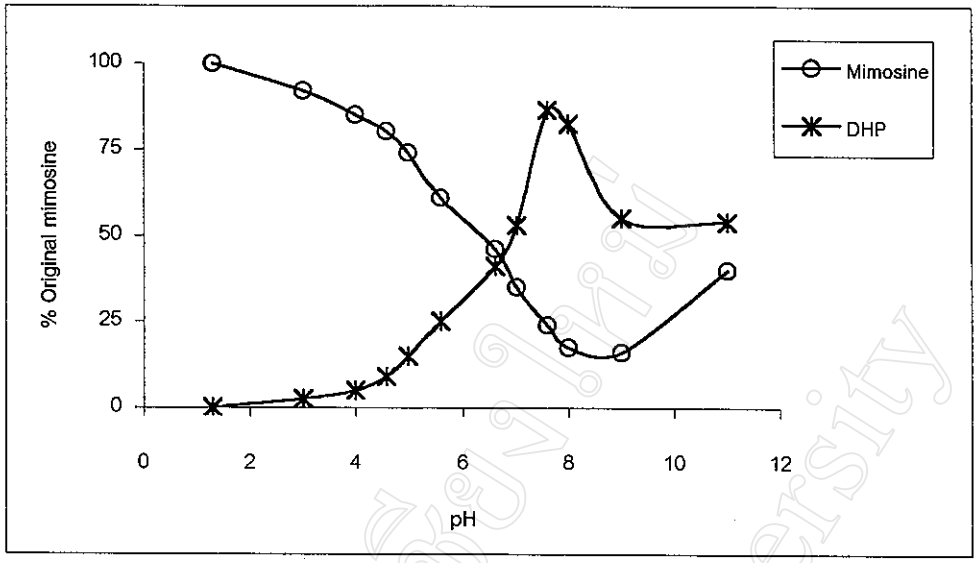
เมื่อนำใบกระถินรวมก้าน (whole leaves) มาให้ความร้อนแบบ drying ที่อุณหภูมิต่างกัน ดังภาพ 2.5 พบว่าที่อุณหภูมิ 65-70^{0}C มิโมซินลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนที่อุณหภูมิ 75^{0}C พบว่ามีอัตราการลดลงเร็วในระยะแรกแต่หลัง 15 นาที ไปแล้วอัตราการลดลงน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 55-70^{0}C สาเหตุเช่นนี้อาจเนื่องจากความร้อนช่วยทำลายโครงสร้างเซลล์พืช มีผลให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดลงของมิโมซินทำงานได้เร็วขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 75^{0}C อาจมีผลทำให้เอนไซม์เสียสภาพ อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55^{0}C มิโมซินแทบจะไม่ลดลงเลยหลังจากได้รับความร้อนในช่วง 15 นาทีแรก โดยเฉพาะที่ 45^{0}C แม้จะได้รับความร้อนนานกว่า 15 นาที ก็ตาม (Lowry *et al.*, 1983)



ภาพ 2.5 การลดลงของมิโมซินในใบกระถินรวมก้าน ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

Figure 2.5 Decreasing of mimosine in leaflets at different temperature. (Lowry *et al.*, 1983)

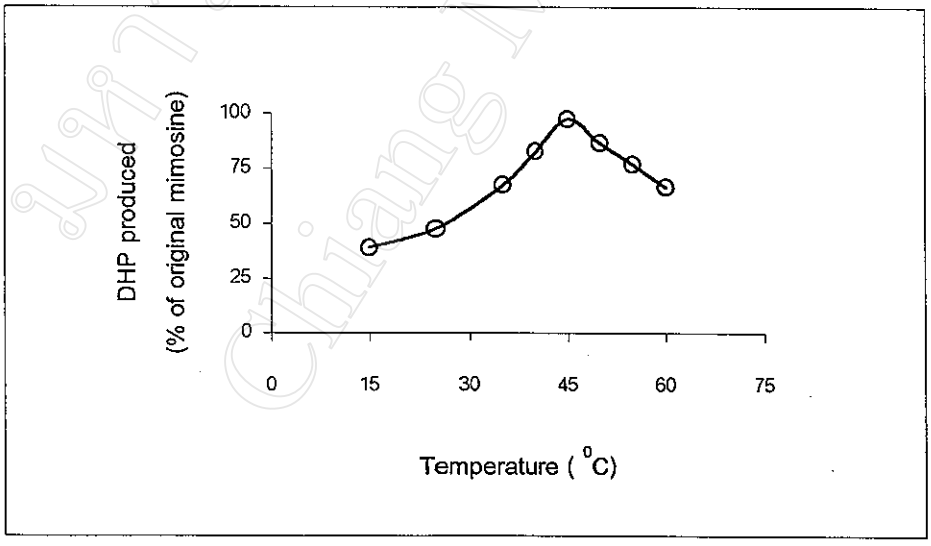
Tangendjaja *et al.* (1984) ได้นำใบกระถินสดสายพันธุ์ Cunningham หลังทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง (freeze dried) จากนั้นแยกเฉพาะส่วนใบย่อย บดให้มีขนาด 1 มม. นำไปแช่ในสารละลายที่ pH ต่าง ๆ เป็นเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิ 15 ^{0}C ได้ผลดังภาพ 2.6 ที่พบว่าในช่วง pH 8-9 มิโมซินมีการลดลงมากที่สุด ในขณะที่สาร DHP เพิ่มขึ้นสูงสุด แสดงว่าช่วง pH 8-9 ที่อุณหภูมิ 15 ^{0}C เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารมิโมซินไปเป็น DHP สามารถทำงานได้ดี และพบว่าปริมาณ DHP ที่เพิ่มขึ้นมีปริมาณใกล้เคียงกับสารมิโมซินที่ลดลง



ภาพ 2.6 การลดลงของมิโมซินและการเกิดขึ้นของ DHP เมื่อแช่ใบกระถินที่ pH ต่าง ๆ กันที่อุณหภูมิ 15 ^{0}C เป็นเวลา 30 นาที

Figure 2.6 Mimosine loss (%) and DHP production after incubation of leucaena leaf extract at different pH at 15^{0}C for 30 minutes. (Tangendjaja *et al.*, 1984)

เมื่อนำใบกระถินสดแช่ในสารละลายที่มี pH 8.0 แล้วให้ความร้อนที่มีอุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 10 นาที พบว่าการเปลี่ยนแปลงของมิโมซินไปเป็น DHP เกิดขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิ 45^{0}C ดังภาพ 2.7

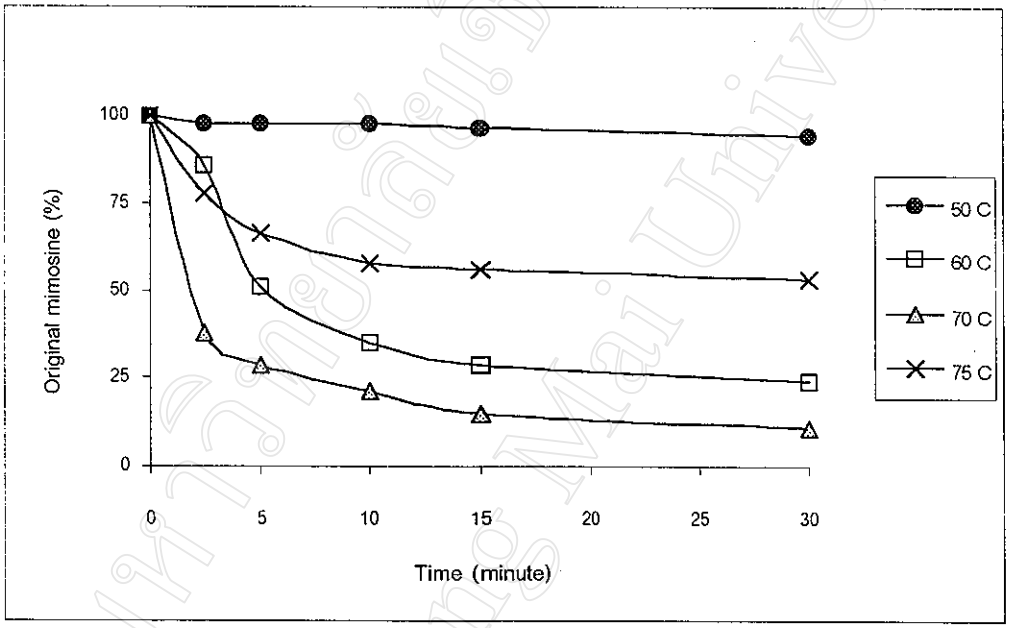


ภาพ 2.7 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณการเกิด DHP เมื่อแช่ใบกระถินที่ pH 8.0 เป็นเวลา 10 นาที

Figure 2.7 The effect of temperature on the amount of DHP formed after incubation of macerated leucaena at pH 8.0 for 10 minutes. (Tangendjaja *et al.*, 1984)

แสดงว่าที่สภาวะ pH 8.0 เอนไซม์สามารถทำงานได้ดี ในช่วงอุณหภูมิ 35-60 ^{o}C มีผลทำให้สารมิโมซินลดลงได้มากกว่า 65%

และในการทดลองเดียวกันของ Tangendjaja *et al.* (1984) ที่ศึกษาอัตราการทำลายมิโมซินในเซลล์พืชสด พบว่าเมื่อใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน ภายในเวลา 15 นาที มีการทำลายมิโมซินสูงสุดที่อุณหภูมิ 70^{o}C และต่ำสุดที่ 50^{o}C โดยมิโมซินถูกทำลายได้ 90% และ 40% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าที่อุณหภูมิ 75^{o}C มีการทำลายได้น้อยกว่าที่ 60^{o}C และ 70^{o}C สาเหตุเช่นนี้น่าจะเกิดจากความร้อนที่สูงกว่า 50^{o}C มีผลทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์พืชถูกทำลายมีผลให้เอนไซม์ได้สัมผัสกับมิโมซินได้เร็วขึ้นจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงได้เร็วขึ้น แต่ที่ความร้อนสูงกว่า 70^{o}C และที่เวลานานขึ้นเอนไซม์จะถูกทำลายมีผลให้การทำงานลดลง ดังภาพ 2.8 และให้ผลเช่นเดียวกับ (Lowry *et al.*, 1983)



ภาพ 2.8 ผลของการให้ความร้อนแก่ใบกระถินที่อุณหภูมิต่าง ๆ กันที่มีต่อปริมาณมิโมซิน

Figure 2.8 The effect of temperature on mimosine during heating of the intact fresh leaf. (Tangendjaja *et al.*, 1984)

สภาพการเก็บรักษาตัวอย่างที่มีผลต่อปริมาณมิโมซิน และ DHP

Hegarty *et al.* (1964) ศึกษาระดับที่ลดลงของมิโมซิน และ DHP ที่เกิดขึ้นของใบกระถินสด ที่เก็บรักษาในสภาพต่าง ๆ ได้ผลดังตาราง 2.11

ตาราง 2.11 ผลของการทรีตใบกระถินสดในสภาพต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณมิโมซิน และ DHP

Table 2.11 Effect of different treatments on mimosine and DHP content of fresh leucaena leaf.

Sample	Treatment	% Mimosine	% DHP
1	Fresh leaf in 0.1N HCl	8.7	Trace
2	Air-dried at room temperature	6.4	Trace
3	Dried at 45 ^{0}C for 10 hr in forced draught	6.3	0.2
4	Dried at 60 ^{0}C for 3 hr in forced draught	5.0	0.7

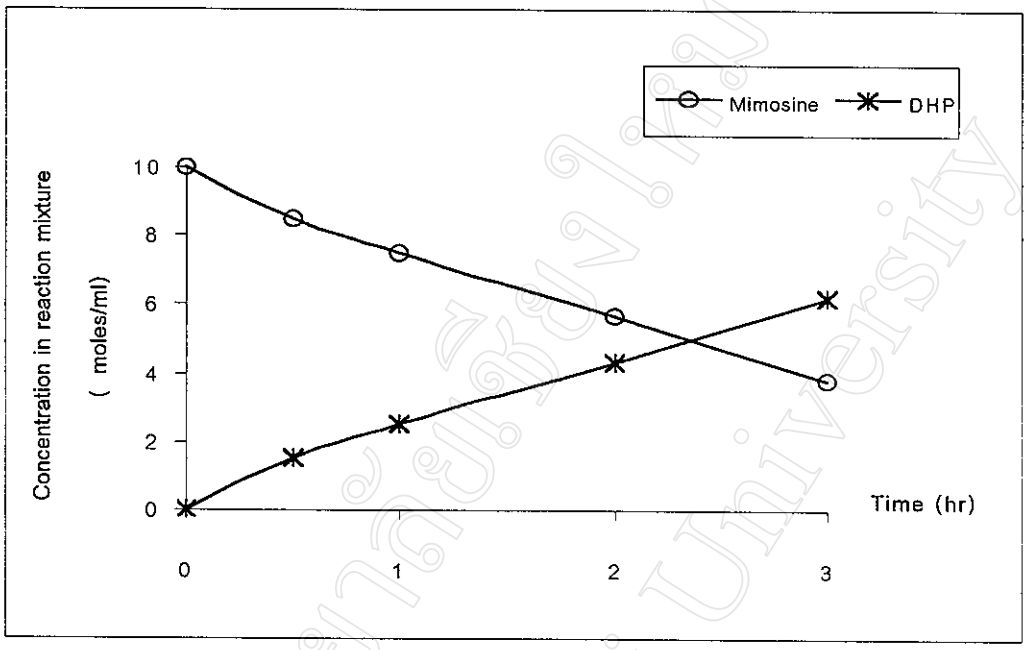
ที่มา: Hegarty *et al.* (1964)

จากตาราง 2.11 พบว่าใบกระถินสดที่จุ่มในสารละลาย 0.1 N HCl ทันที จะมีมิโมซินสูงกว่าใบกระถินสดที่ทำให้แห้งโดยการผึ่งลม หรือที่อบให้แห้งโดยใช้ความร้อนที่ 45^{0}C นาน 10 ชั่วโมง และที่ 60^{0}C นาน 3 ชั่วโมง ดังนั้นวิธีการเก็บตัวอย่างใบกระถินสดเพื่อวิเคราะห์มิโมซินที่ดีที่สุดคือจุ่มใน 0.1 N HCl ทันที และหากนำไปอบแห้งนอกจากปริมาณมิโมซินจะลดลงแล้วยังมีผลทำให้มี DHP เกิดขึ้นด้วย

เมื่อนำตัวอย่างใบกระถินสดมาสกัดด้วยสารละลาย 0.2 N HCl แล้วพบว่ามีการลดลงหากเก็บไว้ที่ 4 ^{0}C นาน 4 เดือน โดยลดลงจาก 8.7 เป็น 8.1 % ส่วนตัวอย่างใบกระถินแห้งแล้วแม้จะเก็บในภาชนะที่มีฝาปิด และเก็บในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง มีปริมาณมิโมซินลดลง จาก 5.0 เป็น 4.6 % เมื่อเก็บไว้นาน 6 เดือน และลดลงเหลือ 4.2 % หลังเก็บ 16 เดือน ส่วนตัวอย่างปัสสาวะ พบว่าปริมาณ มิโมซินไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บที่ –20 ^{0}C นาน 12 เดือน แต่มี DHP เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากเกิดกระบวนการ hydrolysis ขึ้นต่ำ และเป็นไปอย่างช้า ๆ

นอกจากนี้แล้วการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างที่แยกสารละลายอื่น ๆ ออกโดยผ่าน resin column chromatography ก่อนนำไปแยกสารมิโมซินให้บริสุทธิ์ด้วย paper chromatography ตามวิธีการของ Hegarty *et al.* (1964) พบว่ามีการสูญเสียมิโมซินในระหว่างเก็บรักษาต่างกัน เช่น ถ้าเป็นตัวอย่างปัสสาวะมีการสูญเสีย 25% เมื่อเก็บที่ 4 ^{0}C นาน 9 เดือน ส่วนสารละลายมิโมซินบริสุทธิ์ที่ได้จากพืชมีการสูญเสีย 40 % เมื่อเก็บนาน 5 เดือน ดังนั้นการวิเคราะห์สารมิโมซินจึงควรกระทำทันทีที่เก็บตัวอย่างมาแล้วเพื่อลดการสูญเสียมิโมซิน

Hegarty *et al.* (1964) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ มิโมซิน และ DHP หลังจากนำตัวอย่างใบกระถินสดมาสกัดโดยการต้มกับ 0.1 N HCl เป็นเวลาต่าง ๆ กัน จากนั้นนำสารละลายที่ต้มได้ มาวัดปริมาณ มิโมซิน และ DHP ได้ผล ดังภาพ 2.9



ภาพ 2.9 การเปลี่ยนมิโมซินไปเป็น DHP เมื่อต้มในสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 N

Figure 2.9 Conversion of mimosine to DHP in boiling 0.1 N HCl. (Hegraty *et al.*, 1964)

พบว่าการเปลี่ยนแปลงของสารทั้งสอง เป็นแบบผกผันกัน คือ DHP เพิ่มขึ้นเมื่อต้มนานขึ้น ในขณะที่มิโมซินกลับลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าวมีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณมิโมซิน ดังนั้นวิธีการสกัดสารมิโมซินในตัวอย่างโดยวิธีของ Hegraty *et al.* (1964) จึงไม่ใช้วิธีการต้มกับสารละลาย 0.1 N HCl แต่จะบดตัวอย่างกับสารละลาย 0.1 N HCl ด้วยโกร่ง

ผลของการหมักที่มีต่อปริมาณมิโมซิน

วิธีการลดปริมาณมิโมซินนอกจากการตากแห้ง แช่น้ำหรือแช่สารละลาย และการใช้ความร้อนโดยวิธีการต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว พบว่าสามารถลดได้โดยการหมัก

เนื่องจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถลดปริมาณสารมิโมซินได้ ดังนั้น Labadan (1969) จึงได้นำใบกระถินแห้งที่บดแล้วมาหมักร่วมกับน้ำรูเมนจากโคที่ถูกฆ่าใหม่ ๆ โดยน้ำรูเมนถูกกรองผ่านตะแกรงตาถี่ก่อนใช้หมัก จากนั้นนำไปผสมในอาหารเพื่อใช้เลี้ยงไก่ ซึ่งได้ผลดังตาราง 2.12

ตาราง 2.12 ปริมาณสารมิโมซินที่ลดลงหลังการหมักกระถินป่น ร่วมกับน้ำรูเมน

Table 2.12 Mimosine decreased after fermented leucaena meal with rumen fluids.

	Mimosine	
	% of DM	% Decreased
Control (untreated)	4.23	0
Fermented with rumen juice	3.00	29.08
Fermented with rumen juice + Molasses	3.58	18.16
Fermented with water only	3.68	13.00
Fermented with water and dried	3.26	22.93
Wash with water	1.50	64.54

ที่มา: ดัดแปลงจาก Labadan (1969)

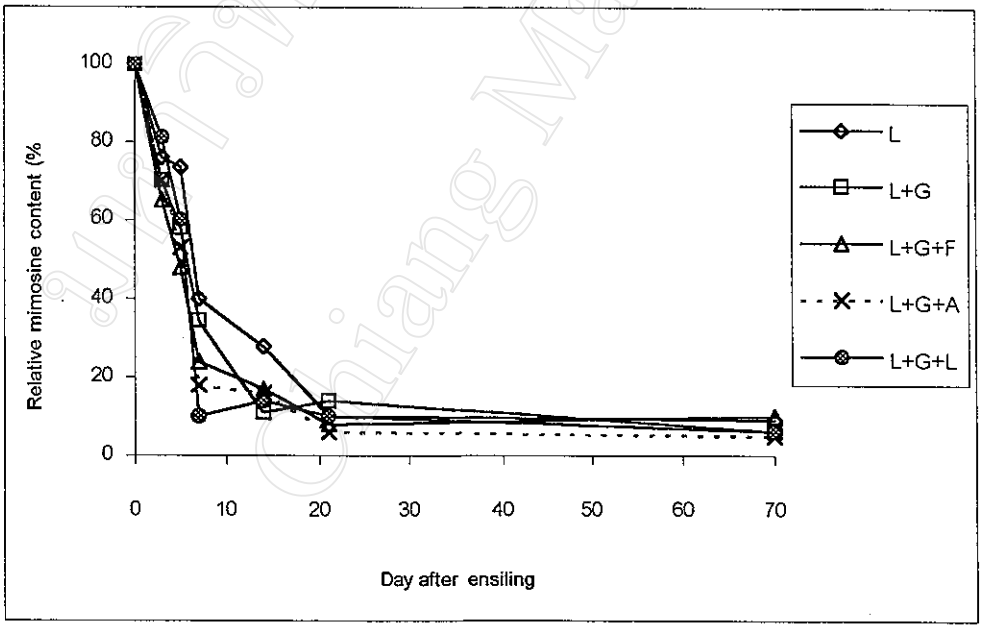
แม้ว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของโคสามารถเปลี่ยนสารมิโมซินไปเป็นสาร DHP ได้ 100 % ก็ตาม (Sethi and Kulkami, no date; Jones, 1994; Kumar and D'Mello, 1995) แต่ในการทดลองของ Labadan (1969) เมื่อนำใบกระถินป่นมาหมักกับน้ำรูเมน พบว่าสามารถลดมิโมซินลงได้เพียง 29.08% เท่านั้นทั้งนี้น่าจะมีผลมาจากสภาพการหมักไม่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงทำให้มิโมซินลดลงได้น้อยกว่าที่รายงานไว้ อีกทั้งโครงสร้างของเซลล์พืชที่แห้งก็น่าจะมีผลต่อการเข้าย่อยสลายสารที่อยู่ภายในเซลล์เช่นกัน อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้วิธีการล้างด้วยน้ำสามารถลดมิโมซินลงได้มากที่สุด แม้จะต่ำกว่าที่ ธีระ (2530) ได้รายงานไว้ คือ 86.40 - 88.16% ความแตกต่างนี้อาจมีผลจาก ระยะเวลาในการแช่ อัตราการไหลผ่านของน้ำในขณะที่แช่ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าเมื่อนำใบกระถินมาหมักโดยเติมและไม่เติมสารเสริมพบว่าช่วยลดปริมาณสารมิโมซินที่มีอยู่ในใบกระถินได้ ดังรายงานของ Hongo *et al.* (1986) ที่ได้ศึกษากรรมวิธีลดสารมิโมซินในกระถินโดยกระบวนการ freeze-dried, air dried, silage dried เพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงหนูเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้กินถั่วอัลฟัลฟ่า พบว่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น กับ ปริมาณที่กินได้ ในกลุ่มที่กินถั่วอัลฟัลฟ่า กับที่กินกระถินหมัก 20 % ให้ค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ส่วนอาการที่เป็นพิษเนื่องจากสารมิโมซินนั้น กลุ่มที่กินกระถินหมักไม่แสดงอาการดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสารมิโมซิน และสาร DHP ที่อยู่ในกระถินมีความแตกต่างกัน คือ กระถินสด, freeze-dried, air dried และ silage dried มีมิโมซิน เท่ากับ 2.61, 1.93, 0.90 และ 0.19 % ของวัตถุแห้ง ส่วน DHP มีเท่ากับ 0.13, 0.34 และ 0.22% ของวัตถุแห้ง ใน freeze-dried, air dried และ silage dried ตามลำดับ (ในกระถินสดไม่ได้วิเคราะห์ DHP) จากผลดังกล่าวแสดงว่าวิธีการลดสารมิโมซินที่ดีที่สุด คือ การหมัก ส่วนการทำแห้งแบบเยือกแข็งมิโมซินลดลงน้อยที่สุดทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นเพียงการ

หยุดการทำงานของเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารมิโมซินไปเป็น DHP แต่ไม่ได้ทำลายเหมือนการตากแห้ง หรือการหมัก สอดคล้องกับรายงานของ Lowry *et al.* (1983)

ผลการทดลองของ Hongo *et al.* (1986) ได้ผลเช่นเดียวกับ Sunagawa *et al.* (1989) ที่มีการปรับปรุงคุณภาพของกระถินเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยนำกระถินทั้งส่วน ใบ รวมทั้งต้น กิ่ง และ ก้าน มาตากแห้งแล้วอัดเม็ด กับวิธีการนำมาหมักแล้วอัดเม็ด พบว่ามีมิโมซินเหลือเท่ากับ 0.98 และ 0.30 % ของวัตถุแห้ง เทียบกับในใบสดที่มีเท่ากับ 2.6 % เมื่อนำไปใช้เลี้ยงแกะ พบว่ากลุ่มที่กินกระถินหมักไม่แสดงอาการเป็นพิษอันเนื่องจากสารมิโมซิน และ DHP ส่วนกลุ่มที่กินกระถินตากแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 10 สัปดาห์ พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์ glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) และ glutamic-pyruvic transaminase (GPT) สูงขึ้น ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีผลต่อการคั่งของเส้นเลือดดำบริเวณตับ และไต เป็นตัวบ่งชี้ถึงการทำงานของตับและไตในการขจัดสารพิษที่ตกค้าง ทั้งนี้เนื่องจากในกระถินตากแห้งมีปริมาณสารมิโมซินเหลืออยู่มากกว่ากระถินที่หมักแล้ว

Hongo *et al.* (1986) ได้ศึกษาการถูกทำลายของสารมิโมซินจากการหมัก เมื่อนำกระถินมาหมักโดยวิธีการต่างๆ คือ 1. กระถินอย่างเดียว (L) 2. กระถิน+กลูโคส (L+G) 3. กระถิน+กลูโคส+กรดฟอร์มิก (L+G+F) 4. กระถิน+กลูโคส+กรดอะซิติก (L+G+A) 5. กระถิน+กลูโคส+กรดแลคติก (L+G+L) ได้ผลดังภาพ 2.10



ภาพ 2.10 การเปลี่ยนแปลงของมิโมซินในใบกระถินหมักโดยการเสริมและไม่เสริมสารชนิดต่าง ๆ

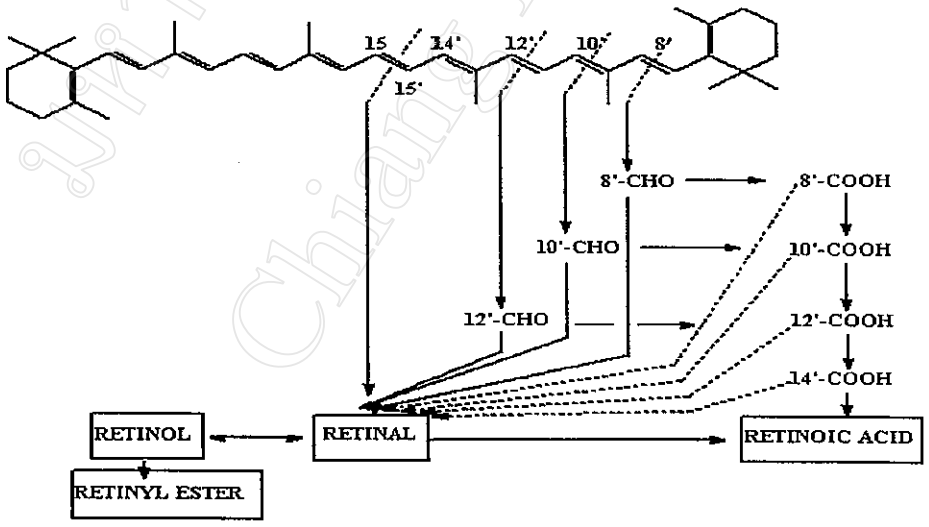
Figure 2.10 Changes of mimosine content in leucaena silage with or whitout additives. (Hongo *et al.*, 1986)

จะเห็นได้ว่าการหมักกระถินด้วยวิธีใดก็ตาม ปริมาณมิโมซินในใบกระถินลดลงหลังหมัก 7 วัน เหลือเพียง 20-40 % ของมิโมซินเริ่มต้น และหลังหมัก 14-21 วัน เหลือไม่เกิน 20 % เท่านั้น นอกจากนี้ในการทดลองนี้ยังพบว่าการหมักกระถินร่วมกับกรดอินทรีย์อื่น ๆ เช่น กระถิน+กลูโคส+กรดซัคซินิก กระถิน+กลูโคส+tartaric acid และ กระถิน+กลูโคส+กรดซิตริก ก็ได้ผลเช่นเดียวกับที่กล่าวแล้วข้างต้น ซึ่งการลดลงของสารมิโมซินเนื่องจากกระบวนการหมักนี้น่าจะมีผลมาจากปริมาณกรดอินทรีย์และความร้อนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก

จึงนับได้ว่าการหมักใบกระถินช่วยลดปริมาณมิโมซินได้ดีกว่าการผึ่งแดดและอาจให้ผลดีทัดเทียมกับการแช่น้ำหรือแช่สารละลายเฟอรัสซัลเฟต อีกทั้งยังสะดวกในทางปฏิบัติมากกว่าคือทำได้ทุกฤดูกาลโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนซึ่งมีกระถินเป็นจำนวนมาก

เบต้าแคโรทีน (β-carotene)

เบต้าแคโรทีน มีสูตรทางเคมี คือ $C_{40}H_{56}$ เป็นสารแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของวิตามินเอ เมื่อเบต้าแคโรทีนเข้าสู่ร่างกายจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้เป็นวิตามินเอ 1 หรือ 2 โมเลกุล ขึ้นอยู่กับตำแหน่งคาร์บอนที่แตกออก ดังภาพ 2.11 จากนั้นจะถูกลำเลียงไปยังตับ เพื่อส่งต่อไปตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายในรูปของ low-density lipoprotein (LDL) ผ่านทางระบบเลือด หน้าที่ที่สำคัญของวิตามินเอ คือ ช่วยในการบำรุงรักษาเซลล์เยื่อบุ เป็นภูมิคุ้มกัน ช่วยในการมองเห็น ควบคุมการทำงานของยีนส์ การเจริญเติบโตของร่างกาย กระดูกและช่วยให้ระบบสืบพันธุ์ทำงานตามปกติ (Stahl *et al.*, 1994)



ภาพ 2.11 การเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนเป็นวิตามินเอ

Figure 2.11 Metabolism of β-carotene to vitamin A (Stahl *et al.*, 1994)

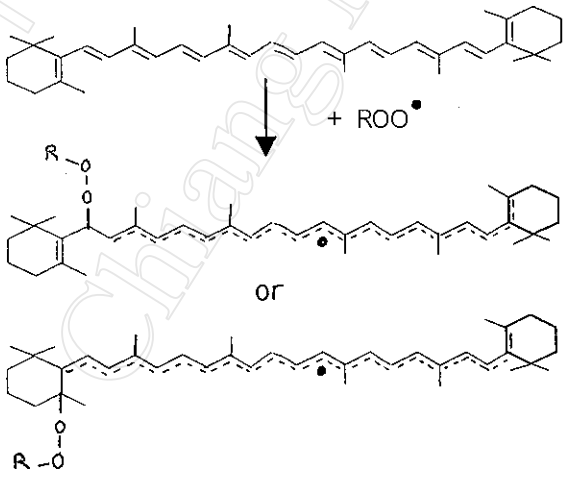
นอกจากนี้เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์บางชนิดที่ไม่ถูกเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ ยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นภายในร่างกาย ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวมีผลเนื่องมาจากออกซิเจนที่อยู่ในรูป reactive เช่น hydroxyl, superoxide anion radicals, hydrogen peroxide, singlet oxygen ($^1O_2$), hypochorite, nitricoxide radical และ peroxynitrite ซึ่งสารกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อการก่อให้เกิดการทำลาย DNA, โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เพื่อให้ร่างกายมีภาวะการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเป็นปกติ จึงจำเป็นที่จะต้องรักษาการเกิด prooxidant กับ antioxidant ให้อยู่ในภาวะสมดุล ดังนั้นหน้าที่ของสารแคโรทีนอยด์ต่อการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ที่สำคัญ เช่น การกำจัด $^1O_2$ ดังสมการดังนี้

$$^1O_2 + C \longrightarrow {}^3O_2 + {}^3C^* \qquad \text{---------- (1)}$$

$$^3C^* \longrightarrow C + \text{thermal energy} \qquad \text{---------- (2)}$$

โดยแคโรทีนอยด์ (C) เป็นตัวพาพลังงานที่เกิดขึ้นของ $^1O_2$ ให้เปลี่ยนรูปไปเป็น $^3O_2$ ซึ่งอยู่ในภาวะ ground state ขณะเดียวกันแคโรทีนอยด์จะเปลี่ยนเป็น triplet-excited carotenoid ($^3C^*$) ซึ่งพลังงานที่ได้ถูกเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปในขณะที่มีการเคลื่อนที่ และการสั่นสะเทือนของ $^3C^*$ หลังจากนั้นแคโรทีนอยด์จะกลับเข้าสู่สภาวะเดิม

หน้าที่ในการกำจัด peroxyl radical แสดงดังภาพ 2.12 ซึ่งเบต้าแคโรทีนเป็นตัวสำคัญในการรีดิวซ์ โดยเป็นตัวจับกับ peroxyl radical ($ROO^\bullet$)



ภาพ 2.12 บทบาทของเบต้าแคโรทีนในการกำจัด peroxyl radical ($ROO^\bullet$)

Figure 2.12 Peroxyl radical scavenging by β-carotene (Stahl *et al.*, 1994)

สำหรับความเป็นพิษต่อคนที่กินวิตามินเอ หรือเบต้าแคโรทีนมากเกินไปมีความแตกต่างกัน คือ เมื่อกินวิตามินเอโดยตรงมากเกินไปจะเกิดภาวะวิตามินเอเกินในร่างกายเนื่องจากวิตามินเอละลายได้ในไขมันจึงไม่มีการขับออกทางปัสสาวะแต่มีการสะสมในตับ อาการที่พบในคนไข้จำนวน 600 ราย คือ ผิวหนังแดงและลอก ผมร่วง เบื่ออาหารและเจ็บป่วย แต่อาการเหล่านี้จะหายไปเมื่อลดปริมาณการกินวิตามินเอลง สำหรับอาการรุนแรงที่พบเนื่องจากกินวิตามินเอมากเกินไป คือเกิดภาวะตับเสื่อมเนื่องจากมีวิตามินเอคั่งอยู่มากในตับ ส่วนความเป็นพิษของเบต้าแคโรทีนพบว่าไม่มี เนื่องจากเมื่อร่างกายเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอได้พอเพียงแล้วกลไกดังกล่าวจะหยุด ส่วนของเบต้าแคโรทีนที่เหลือจะถูกสะสมตามเนื้อเยื่อไขมันหรือขับทิ้งออกจากร่างกาย แต่พบอาการข้างเคียงที่เกิดจากกินเบต้าแคโรทีนสูง คือ ภาวะแคโรทีนอยด์ในเลือดสูงทำให้ผิวหนังเป็นสีเหลืองอ่อน ๆ แบบตากแห้ง ซึ่งเป็นที่นิยม กรณีนี้พบในคนที่กินเบต้าแคโรทีนมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อวัน แต่เมื่อหยุดกินอาการดังกล่าวจะหายไป (อรชุน, 2536)

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนในพืช

พืชตระกูลถั่วมีเบต้าแคโรทีนมากกว่าตระกูลหญ้า พืชที่มีอายุมากขึ้นจะมีเบต้าแคโรทีนลดลงโดยในหญ้าลดลงมากกว่าในถั่ว ดังตาราง 2.13

ตาราง 2.13 ผลของชนิดพืช และอายุการเจริญเติบโตที่มีต่อปริมาณเบต้าแคโรทีน (มก./กก.DM)
Table 2.13 Influence of plant origin and stage of maturity in beta carotene (mg/kg DM)

Forage and stages	Number of samples	Mean	Maximum	Minimum
Grasses				
Vegetative to ear	51	278	606	84
Early to end flowering	44	133	258	53
Mature	30	59	156	4
Legumes				
Vegetative to bud	62	309	552	140
Early to end flowering	34	192	488	97
Mature	7	130	252	80

ที่มา : Ballet *et al.* (2000)

Shelton and Brewbaker (1994) พบปริมาณเบต้าแคโรทีนในกระถิน เท่ากับ 536 mg/kg สูงกว่าที่ วรินทร์ดา (2541) พบในใบกระถินสด (เก็บเอง) และกระถินป่นที่ผลิตขายในจังหวัด

เชียงใหม่ซึ่งมีประมาณ 116.51-160.99 และ18.90 mg/kgDM ตามลำดับ สาเหตุที่กระถินป่นมีปริมาณต่ำเพราะมีส่วนของกิ่งก้านป่นมามากกว่าส่วนของใบ

บทบาทของเบต้าแคโรทีนในโคนม

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องเมื่อรูเมนพัฒนาเต็มที่แล้ว จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถสังเคราะห์วิตามินบางชนิดได้ เช่น กลุ่มวิตามินบี (thiamine, riboflavin, niacin etc.) และ วิตามินเค สำหรับวิตามินดี และ วิตามินซี สัตว์สามารถสังเคราะห์ได้ตั้งแต่เกิด จึงมักไม่มีปัญหาในเรื่องของการขาดวิตามินเหล่านี้ ส่วนวิตามินเอ และ อี สัตว์จะได้รับจากอาหาร ซึ่งความต้องการวิตามินเอ อี ดี และไนอาซิน ของโค ได้แสดงไว้ในตาราง 2.14

ตาราง 2.14 ปริมาณวิตามินที่สัตว์เคี้ยวเอื้องควรได้รับ

Table 2.14 Vitamin recommendations for ruminants

	Vit. A (IU/h/d)	Vit. E (mg/h/d)	Vit. D (IU/h/d)	Niacin (g/h/d)
Dairy cow, lactating	80,000 - 120,000	100 - 1,000	15,000 - 50,000	1 - 2
Dairy cow, dry	75,000 - 125,000	500 - 900	10,000 - 20,000	0 - 1
Finishing cattle	40,000 - 70,000	200 - 1,500	4,000 - 7,000	1 - 2

ที่มา : RPAN (1998 cited by Ballet *et al.*, 2000)

Weiss (1998) แนะนำว่าปริมาณวิตามิน เอ ที่โคนมแห้ง โคใกล้คลอด โคให้นมสูง และโคให้นมต่ำ ควรได้รับประมาณ 104,000, 121,000, 158,000 และ121,000 IU/วัน ตามลำดับ (400 IU of Vitamin A = 1 mg β-carotene) ในโคที่โตเต็มวัย จำเป็นต้องได้รับวิตามินเอ 76 IU/kgBW เพื่อใช้ในระบบสืบพันธุ์ และถ้าโคได้รับเบต้าแคโรทีนต่ำกว่า 0.18 mg/kgBW จะมีความเสี่ยงต่อการแท้งลูก หรือให้ลูกที่อ่อนแอ และอาจเกิดรกค้าง จากผลการศึกษาของ Swanson (1968; อ้างโดย Weiss, 1998) พบว่าโคที่ได้รับ วิตามินเอ 170,000 IU/วัน ตั้งแต่ก่อนคลอด 60 วัน จนถึงหลังคลอด 42 วัน ให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่าโคที่ได้รับวิตามินเอ 50,000 IU/วัน (40.2 เทียบกับ 35.8 กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ) แต่โคที่กินวิตามินเอ 50,000 IU/วัน เสริมด้วยเบต้าแคโรทีน 300 mg/วัน จะให้น้ำนมเพิ่มขึ้นประมาณ 3 กิโลกรัม/วัน

ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของวิตามินเอในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

การสังเคราะห์วิตามินเอ ถ้าอยู่ในรูปของ ester, retinyl acetate และรูปของ *trans* - isomer สามารถใช้ประโยชน์ได้ 100% แต่ถูกทำลายได้ง่ายจากแสง ความร้อน สารออกซิไดส์ และพบว่าภายในกระเพาะรูเมนของสัตว์บางชนิดสามารถทำลายวิตามินเอได้ นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ในรูปวิตามินเอ

ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น โคที่อยู่ในช่วงให้นมสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีน 1 มิลลิกรัม ให้เป็นวิตามินเอได้เท่ากับ 400 IU ขึ้นอยู่กับสุขภาพของโค ปริมาณที่กิน และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนซึ่งจะลดลงเมื่อมีการกินเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อสัตว์ได้รับวิตามินเอเพียงพอกับความต้องการแล้ว กลไกการเปลี่ยนเป็นวิตามินเอจะหยุด (Bondi and Sklan, 1984; อรชุน, 2536)

การสูญเสียของเบต้าแคโรทีนในกระเพาะรูเมนที่ศึกษาโดยวิธี *In vitro* และ *In vivo* มีค่าประมาณ 20% พบว่าการสูญเสียนี้ไม่มีผลเนื่องจากอาหารที่กิน ดังแสดงในตาราง 2.15 แต่มีผลจากกระบวนการออกซิเดชั่นหรือจากการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในกระเพาะรูเมน

ตาราง 2.15 ปริมาณเบต้าแคโรทีนที่สูญหายในกระเพาะรูเมน

Table 2.15 Ruminal disappearance of beta carotene.

Animal	Diet	% Disappearance	Method
-	-	31.9	*In vitro* 9 h
Dairy heifer	High-hay	25.2 ± 5.6	*In vitro* 7 h
Steer	High-roughage	24.4	*In vitro* 16 h
Mature wether	High-cellulose	23.1 ± 5.9	*In vivo*
	High-starch	23.3 ± 6.9	
Cow	High-concentrate	4.7 ± 1.7*	*In vitro* 24 h

* beta carotene from different source, pure beta carotene or commercial lucerne meal.

ที่มา : Ballet *et al.* (2000)

ส่วนการสูญเสียของวิตามินเอในกระเพาะรูเมน เมื่อทดสอบด้วยวิธี *in vitro* พบว่ามีค่าประมาณ 66% ขึ้นอยู่กับชนิดอาหารที่สัตว์กิน กล่าวคือ มีการสูญเสียมากขึ้นเมื่อกินอาหารข้นเพิ่มขึ้น และมากกว่าเมื่อกินอาหารหยาบ (67-72 vs 16-20%) (Rode *et al.*, 1990; Weiss *et al.*, 1995)

แต่เมื่อทดลองกับสัตว์ (*in vivo*) พบว่ามีการสูญเสียของวิตามินเอในกระเพาะรูเมนก่อนที่มาถึงลำไส้เล็ก ดังตาราง 2.16 โดยในโคเพศผู้ตอนที่โตเต็มวัย เมื่อกินอาหารข้นในปริมาณที่สูงมีการสูญเสียมากกว่าเมื่อกินอาหารข้นในปริมาณที่ต่ำ แต่ในโคเพศผู้ตอนที่ยังไม่โตเต็มที่แม้จะกินอาหารหยาบในปริมาณสูงก็พบว่ามีการสูญเสียวิตามินเอในกระเพาะรูเมนก่อนที่มาถึงลำไส้เล็กสูง ส่วนในแกะเมื่อกินอาหารข้นในปริมาณสูงส่งผลให้มีการสูญเสียวิตามินเอในกระเพาะรูเมนสูงเช่นเดียวกับโคเพศผู้ตอนที่โตเต็มวัย (Ballet *et al.*, 2000)

ตาราง 2.16 ปริมาณวิตามินเอที่สลายตัวไปในกระเพาะรูเมน

Table 2.16 Measurements of ruminal degradation of vitamin A *in vivo*.

Animal	Diet	Degradation (%)
Mature steer	High-roughage	57 (31-67)
Mature steer	20% concentrate	52
	40% concentrate	56
	60% concentrate	70
	80% concentrate	62
Steer	High-hay	73.9 (70-80)
Sheep	High-concentrate	64 $\pm$ 9

ที่มา : Ballet *et al.* (2000)

ปริมาณเบต้าแคโรทีนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถใช้ประโยชน์จากพืชได้มีเพียง 10% เนื่องจากในพืชมีปริมาณไขมันต่ำจึงละลายออกมาได้น้อย และถูกจำกัดในการดูดซึม (Ferrando, 1980) นอกจากนี้ยังพบว่ามีปริมาณเบต้าแคโรทีน 5-10% ที่ถูกดูดซึมไปใช้หลังจากผ่านกระเพาะรูเมนแล้วสามารถเปลี่ยนสารเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอได้แตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของสัตว์ด้วย เช่น แพะ และ แกะ สามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอที่เข้าไปยังตับได้หมด แต่กระบือไม่สามารถเปลี่ยนได้ทั้งหมด และพบว่าลูกโคพันธุ์โฮลสไตน์ สามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอได้ดีกว่าพันธุ์เกรินซี่ (Eaton *et al.*, 1959)

นอกจากนี้รายงานของ Yang *et al.* (1992) พบว่าการสะสมของสารแคโรทีนอยด์ในแกะ แพะ และโค มีความแตกต่างกัน คือ ไม่พบเบต้าแคโรทีนในซีรั่ม หรือไขมันใน แกะและแพะ แต่พบในรูปของ ลูเตอิน (lutein) ซึ่งต่างกับโคที่พบเบต้าแคโรทีนทั้งในซีรั่ม และไขมัน อย่างไรก็ดีพบสารเบต้าแคโรทีนมีการสะสมมากในตับ แต่พบในโคมากกว่าแกะ และแพะ แต่ไม่พบการสะสมของลูเตอินที่ตับในสัตว์ทั้ง 3 ชนิดแต่อย่างใด

ปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียเบต้าแคโรทีนในพืช

Ezell and Wilcox (1962) พบว่าอัตราการสูญเสียสารเบต้าแคโรทีนของใบพืชในระหว่างการเก็บรักษามีความสัมพันธ์กับความชื้นในอากาศ กล่าวคืออากาศที่มีความชื้นต่ำพืชจะมีอัตราการเหี่ยวเร็วทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นมากและเร็วมีผลให้สูญเสียเบต้าแคโรทีนสูง นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงส่งผลให้มีอัตราการสูญเสียของเบต้าแคโรทีนสูงขึ้นเช่นเดียวกัน

Wood and Carter (1983) ทำการศึกษาการสูญเสียสารแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ ของใบกระถินที่เก็บรักษาในสภาพต่างกัน พบว่า เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน อัตราการสูญเสียของแคโร

ทีนเกิดต่ำกว่าแซนโทฟิลล์ คือ 19-40 vs 29-53 mg/kg และใบกระถินที่ตากแห้งมีปริมาณสารสีค่อนข้างคงที่กว่าใบกระถินที่อบแห้ง ส่วนการอัดเม็ด หรือการใช้สารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นไม่มีผลต่อการลดลงของสารสีแต่อย่างใด

Kalač and McDonald (1981) พบว่าปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในพืชขึ้นกับ ชนิด สายพันธุ์ อายุการเจริญเติบโต และชนิดปุ๋ยที่พืชได้รับ แต่การสูญเสียที่เกิดขึ้นเป็นผลจากกระบวนการสังเคราะห์แสงที่ถูกกระตุ้นด้วยคลอโรฟิลล์ สาร haematins โดยเฉพาะที่อยู่ใน cytochrome c ซึ่งมีเอนไซม์ lipoxygenase เป็นตัวทำลายด้วยกระบวนการออกซิไดส์ จะเกิดมากเมื่ออยู่ในสภาวะที่มี pH เหมาะสม คือ 6.5-9.0 โดยเฉพาะในพืชหมักที่มีเชื้อคลอสตริเดียเจริญเติบโต มีรายงานว่าพืชหมักที่มี pH 4.0-4.5 ไม่มีการสูญเสียแคโรทีน แต่หากมี pH 4.5-4.7 จะมีการสูญเสียประมาณ 10% และถ้าพืชหมักมี pH มากกว่า 5.0 จะเกิดการสูญเสียแคโรทีนเพิ่มมากขึ้น แต่ในกระบวนการหมักที่มีการเสริมกรดเพื่อช่วยเร่งการหมักมักพบว่ามีสารแคโรทีนเพิ่มขึ้นสูงกว่าก่อนหมัก เช่นเดียวกับรายงานของ Watson and Nash (1960)

Kalač (1983) ได้รายงานถึงปริมาณการสูญเสียสารเบต้าแคโรทีนในระหว่างการหมัก และช่วงที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ของพืชตระกูลถั่วและพืชตระกูลหญ้า พบว่าการสูญเสียในระหว่างการหมักเกิดสูงในถั่วมากกว่าหญ้า โดยไม่ขึ้นกับคุณภาพทางกายภาพของพืชหมัก กล่าวคือ แม้พืชหมักจะมีคุณภาพดี มี pH ต่ำกว่า 4.0 แต่อาจมีการสูญเสียมากกว่าพืชหมักที่มีคุณภาพด้อยกว่า นอกจากนี้ในช่วงที่ใช้เลี้ยงสัตว์ยังมีการสูญเสียเนื่องจากระยะเวลาที่เปิดหลุมหมักทิ้งไว้ คือถ้าเปิดหลุมไว้นาน หรือปล่อยทิ้งให้สัตว์กินนานขึ้นจะมีการสูญเสียมากขึ้น โดยการสูญเสียขึ้นอยู่กับชนิดของพืชแต่ไม่ขึ้นกับคุณภาพของพืชหมัก

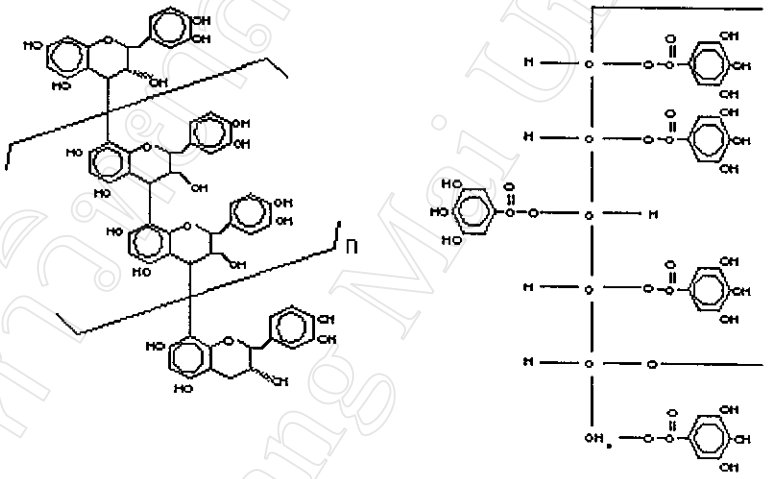
นอกจากนี้ยังพบว่าสารไนไตรท์ในพืชช่วยให้มีการสูญเสียแคโรทีนเพิ่มขึ้น และเกิดมากสุดที่ pH 3 โดยสารดังกล่าวพบมากในพืชที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณสูง หรือจากสารที่เสริมลงในพืชหมัก Kalač and McDonald (1981)

แทนนิน (Tannin)

สารแทนนิน พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1796 เรียกว่า tannare เป็นภาษาละติน แปลว่าเปลือกต้นโอ๊ค มีรสฝาด แทนนินสามารถรวมตัวกับโปรตีนของหนังสัตว์ทำให้ไม่เน่าเปื่อย อีกทั้งยังเปลี่ยนสภาพของหนังดิบสด ๆ ให้เป็นหนังฟอก หรือหนังสำเร็จรูปได้ (Throstensen, 1976 อ้างโดย วัฒนา, 2539) ในปัจจุบันสารแทนนินในพืชเป็นสิ่งที่นักพยาธิวิทยา และนักกีฏวิทยา ให้ความสนใจมากขึ้น เนื่องจากช่วยให้พืชมีความทนทานต่อการเกิดโรค และการถูกทำลายจากแมลง นอก

จากนี้นักโภชนศาสตร์สัตว์ก็ให้ความสำคัญมากขึ้นเนื่องจากแทนนินจับตัวกับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตได้ดี จึงทนต่อการถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

สารแทนนินจัดเป็นสารประกอบจำพวกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน (phenolic compound) ที่ละลายน้ำได้ และสามารถจับกับโปรตีนทำให้ตกตะกอน สารแทนนินแบ่งเป็น 2 ชนิด ตามลักษณะโครงสร้างและปฏิกิริยากับสารละลาย คือ Hydrolyzable tannin (HTs) และ Condensed tannin (CTs) ดังภาพ 2.13 โดย HTs มี CHO เป็นส่วนประกอบในตำแหน่ง hydroxyl groups เช่น กลุ่มของสาร gallic acid หรือ m-digallic acid (gallotannins) หรือ hexahydroxydiphenic acid และแทนนินกลุ่มนี้สามารถถูกย่อยสลายได้ดีในสารละลายที่มีความเป็นกรด-ด่าง พบได้ในส่วนของใบ ผล ฝัก และในใบเลี้ยง สารที่ให้รสขม (galls) ในพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น oak, chestnut แต่ไม่พบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Kumar and D'Mello, 1995) ส่วนแทนนินชนิด CTs ได้จากส่วนของ proanthocyanidins ซึ่งเป็นโครงสร้างของสาร flavonoid, epicatechin และ catechin ที่เชื่อมกับสารอื่น พบได้ในพืชทั่วไป



Condensed tannin Hydrolyzable tannin

ภาพ 2.13 โครงสร้างของ Condensed tannin และ Hydrolyzable tannin

Figure 2.13 Structure of Condensed tannin and Hydrolyzable tannin (Kumar and D'Mello, 1995)

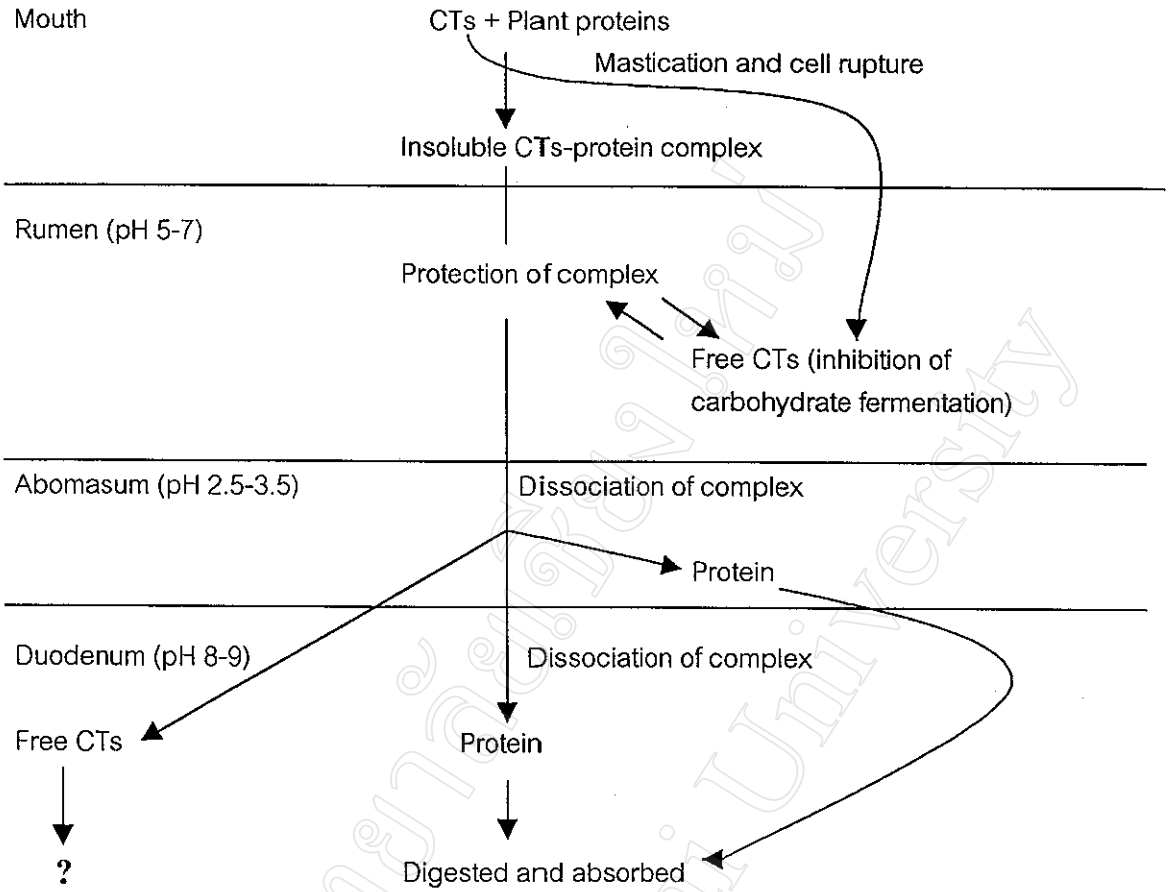
แทนนินที่พบในกระถินสกุล *Leucaena* ส่วนใหญ่เป็นชนิด CTs มีประมาณ 4-7%DM (Salam Abdullah and Rajion, 1997) แต่ปริมาณสารแทนนินมีความผันแปรไปตามชนิด และระยะการเจริญเติบโตของพืช เช่น พืชในเขตร้อนได้รับความเข้มของแสงมากมีผลให้เกิดสารแทนนินมากขึ้น อุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยเพิ่มการสร้าง CTs ในใบพืชมากขึ้น (Lees *et al.*, 1994) และพืช

ที่เจริญเติบโตในดินที่มีคุณภาพต่ำ และมีความเป็นกรดมีผลให้มีการสร้าง CTs เพิ่มขึ้น (Kelman and Tanner, 1990)

บทบาทของสารแทนนินในอาหารสัตว์

ช่วยป้องกันการเกิดอาการท้องอืดอันมีสาเหตุมาจากการกินพืชตระกูลถั่วที่มีโปรตีนละลายได้สูง โดยแทนนินที่มีในพืชจะจับตัวกับโปรตีนดังกล่าว ช่วยลดการเกิดฟองแก๊ส ซึ่งกลไกการทำงานของแทนนินกับโปรตีนมีดังนี้ เมื่อแทนนินจับกับโปรตีนจะได้สารประกอบที่เรียกว่า tannin-protein โดยเชื่อมด้วยพันธะ H-bond ระหว่างหมู่ phenolic ของสารแทนนินกับหมู่ ketoimide ของโปรตีนและบางครั้งเกิดจากการเชื่อมกันระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ คือส่วนวงแหวนของแทนนิน (aromatic ring) กับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน ซึ่งโครงสร้างของสารประกอบ tannin-protein สามารถเปลี่ยนแปลงได้ อย่างไรก็ตามถ้าโปรตีนและแทนนินมาพบกันในสภาพเป็นอัลคาร์ไลน์ และที่มีออกซิเจน ส่วนของ polyphenol เมื่อถูกออกซิไดซ์ได้เป็นสารควิโนน ซึ่งเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์กับ nucleophelic amino acid เช่น ไลซีน หรือ ซิสเตอีน จะได้สารประกอบ แทนนิน-โปรตีน ที่เปลี่ยนกลับไม่ได้ การเกิดพันธะ 2 รูปแบบนี้ ขึ้นกับขนาดโมเลกุลของโปรตีน และโครงสร้างของกรดอะมิโน และพบว่าโปรตีนที่มีขนาดใหญ่เมื่อจับกับสารแทนนินแล้วโปรตีนมักใช้ประโยชน์ไม่ได้

นอกจากนี้แทนนินสามารถจับกับเอนไซม์ที่หลั่งออกมาได้เนื่องจากเอนไซม์ก็คือโปรตีนนั่นเอง หากกินอาหารที่มีแทนนินในปริมาณมากมีผลให้สัตว์หลั่งเอนไซม์ที่ใช้ย่อยโปรตีนมากกว่าปกติ แต่เมื่อไม่มีอาหารในกระเพาะและลำไส้เอนไซม์ที่หลั่งออกมาจะย่อยผนังชั้นในของทางเดินอาหารทำให้เซลล์ตายในที่สุดซึ่งมีผลต่อการดูดซึมโภชนะต่าง ๆ ในทางตรงกันข้ามหากสัตว์ได้รับแทนนินไม่มากเกินไป คือ 3-6%DM มักไม่เกิดปัญหาแต่กลับเป็นประโยชน์มากกว่า ในกรณีที่อาหารมีโปรตีนมากเกินความต้องการของจุลินทรีย์ ส่วนที่เหลือจะจับกับแทนนินได้เป็นโปรตีนไหลผ่านไปยังกระเพาะแท้และถูกดูดซึมในส่วนของลำไส้เล็ก ดังภาพ 2.14 เนื่องจากการเชื่อมกันระหว่างแทนนินกับโปรตีน สามารถถูกย่อยสลายได้ในกระเพาะที่มีสภาพเป็นกรด และไม่มีผลทำให้โปรตีนจากจุลินทรีย์ลดลง ซึ่งประโยชน์เหล่านี้ช่วยให้สัตว์มีการดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น (Perez-Maldonado *et al.*, 1995; McNeil *et al.*,1998)



ภาพ 2.14 การป้องกันการถูกย่อยของโปรตีนโดย Condensed tannins

Figure 2.14 Condensed tannins and protein protection in the rumen (Kumar and D'Mello, 1995)

อย่างไรก็ดี พบว่าแทนนินที่มีปริมาณสูงมีผลให้ปริมาณอาหารที่กินลดลง และการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมน รวมทั้งการใช้ประโยชน์ได้ของซัลเฟอร์ลดลงเช่นเดียวกัน ส่งผลให้ปริมาณน้ำนมลดลง ส่วนพิษของสารแทนนินโดยตรงพบว่าก่อให้เกิดการทำลายผนังของลำไส้ ตับ ม้าม ไต นอกจากนี้พบส่วนที่เป็นเมือกในปัสสาวะ และก่อให้เกิดอาการท้องผูกได้ (Kumar and Singh, 1984) อย่างไรก็ดีระดับแทนนินที่ต่ำช่วยให้โปรตีนสามารถถูกย่อยและดูดซึมได้เพิ่มขึ้นในลำไส้เล็กที่ตำแหน่ง duodenum แต่ยังไม่มีรายงานระดับแทนนินในพืชที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ได้ของสัตว์ เนื่องจากการใช้ประโยชน์ได้ขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น โปรตีนที่อยู่ในพืช พลังงานที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ชนิด และปริมาณของแทนนิน (Kumar and D'Mello, 1995)

Upadhyaya (1985) พบว่า แกะเพศผู้ที่กินพืชที่มี CTs ในปริมาณ 0.85 g/kg BW นาน 15 วัน มีลักษณะเป็นเกล็ด (flaky sediment) ในปัสสาวะ ส่วนแทนนินชนิด HTs มักมีผลต่อการ

เจริญเติบโต และการผลิตไข่ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว และพบว่าแกะสามารถย่อยสลาย HTs ได้ในกระเพาะรูเมน เมื่อถูกดูดซึมจะขับออกทางปัสสาวะในรูป glucuronides อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าแกะได้รับสารแทนนินชนิด HTs ในปริมาณ 0.9 g/kg BW นาน 15 วัน หรือ แพะได้รับกรดแทนนิก 1.1 g/kg BW นาน 40 วัน จะแสดงอาการเป็นพิษ คือ มีเนื้อตายที่ไต ตับอ่อน และผิวหนังเล็กน้อย แต่ไม่พบว่าตับถูกทำลาย (Tripathi *et al.*, 1984)

Van Hoven and Furstenburg (1992) พบว่าสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่ควรกินพืชที่มี CTs สูงกว่า 60 g/kg เนื่องจากลดความน่ากิน และยับยั้งการย่อยได้ของ DM ทำให้มีการดูดซึมสารอาหารลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Reed *et al.*, (1990) และ Barry and Duncan (1984) ที่พบว่าปริมาณ CTs 7-10% มีผลให้สัตว์เคี้ยวเอื้องกินอาหารและมีการย่อยได้ลดลง ซึ่งให้ผลเหมือนกันกับรายงานของ Miller and Ehlke (1994) ได้ทำการทดลองแบบ *in vitro* พบว่าอาหารที่มี CTs ประมาณ 2.7% มีผลให้การย่อยได้ของโปรตีนลดลงโดยไม่มีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง แต่ CTs ในระดับ 8.5% นอกจากจะทำให้การย่อยได้ของโปรตีนลดลงแล้วยังมีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้งด้วยเล็กน้อย

McNeil *et al.* (1998) ทดลองให้แกะกินกระถินต่างสปีชี่ส์กัน พบว่า *L. leucocephala* ซึ่งมี CTs เท่ากับ 3.75 %DM มีการย่อยสลายของอินทรียวัตถุ และไนโตรเจนได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่มี CTs สูง นอกจากนี้ยังมีการสะสมของไนโตรเจนในร่างกายสูงกว่าอีกด้วย และเมื่อศึกษาการแตกพันธะระหว่าง โปรตีน กับแทนนิน ที่ระดับ pH ต่างกันในทางเดินอาหาร พบว่า *L. leucocephala* มีการแตกของพันธะดังกล่าวได้มากสุดที่ทุกระดับ pH

Waghorn *et al.* (1987) พบว่าปริมาณ CTs ในระดับ 2.2%DM ใน *Lotus corniculatus* ช่วยเพิ่มการดูดซึมของกรดอะมิโนที่จำเป็นในบริเวณลำไส้เล็กของแกะ โดยไม่มีผลให้ปริมาณการกินหรือการย่อยเยื่อใยลดลง และพบว่าแกะที่กิน CTs มีปริมาณแอมโมเนีย และการย่อยได้ของไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนต่ำ มีผลให้ไนโตรเจนที่ไม่ใช่แอมโมเนียผ่านไปยังลำไส้เล็กสูงกว่าแกะที่ไม่ได้กิน CTs และระดับ CTs 1-4% ในอาหารแกะช่วยเพิ่มการดูดซึมของกรดอะมิโนที่ส่วนหลังของกระเพาะรูเมนมากกว่าแกะที่ไม่ได้กิน CTs อย่างมีนัยสำคัญ (Barry and Manley, 1984; Barry *et al.*, 1986)

การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารที่มีแทนนินยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ เนื่องจากสัตว์บางชนิดมีการหลั่ง proline-rich protein (PRP) ซึ่งเป็นสารที่สามารถจับกับแทนนินได้เป็นสารประกอบ tannin-PRP มีผลให้แทนนินไปจับกับโภชนะตัวอื่นได้น้อยลง และสารประกอบ tannin-PRP ทนต่อการย่อยสลายของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ และเอนไซม์จากตัวสัตว์เอง ความสามารถในการหลั่ง PRP แตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ เช่น กวาง สัตว์ฟันแทะ (rodent) กระต่าย ลิง แพะ และมนุษย์

มี PRP ในน้ำลาย ส่วนกลุ่มของ โค แกะ แฮมสเตอร์ ไก่ ไม่มี PRP ในน้ำลาย (Austin *et al.*, 1989; D'Mello, 1992) แต่ Mole *et al.* (1990) พบสาร PRP ในน้ำลาย โค แกะ และหมู แต่มีน้อยจึงไม่เพียงพอที่จะรวมตัวกับแทนนินได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าผนังกระเพาะรูเมนของแพะสามารถผลิตเอนไซม์ tannase ได้ จึงทำให้สารแทนนินไม่มีผลต่อการกินได้ การย่อยได้ และปริมาณ N-retention ภายในตัวแพะ (Holechek *et al.*, 1990)

Niezen *et al.* (1993) พบว่าแทนนินในอาหารช่วยลดจำนวนไข่ของพยาธิในมูล โดยไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด เหมือนกับรายงานของ Makkar *et al.* (1995) ที่พบว่าแทนนินในอาหารช่วยลดจำนวนของโปรโตรซัว entodinimorphs และ holotrichs ในกระเพาะรูเมน

นอกจากนี้ได้มีการนำสารแทนนินมาใช้ในกระบวนการทำพืชหมัก ดังรายงานของ Salawu *et al.* (1999) ที่ได้ใช้แทนนิน 3 ชนิด เป็นสารเสริมในหญ้า *Perennial ryegrass* หมัก คือ mimosa, myrabolum และ quebracho ในสัดส่วน 5-50 กรัม/กิโลกรัมแห้งของพืช โดยละลายกับน้ำในสัดส่วน 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม พบว่าแทนนินช่วยลดการเกิดไนโตรเจนที่ละลายได้ และแอมโมเนียในพืชหมัก

วิธีลดปริมาณสารแทนนิน

1. การทำให้แห้งนอกจากช่วยลดปริมาณสารแทนนินแล้ว ยังมีผลให้มีการกินเพิ่มขึ้น เพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใย และมีไนโตรเจนในร่างกายเพิ่มขึ้น Ahn *et al.* (1989) พบว่าการทำแห้งโดยการอบที่ 50^{0}C ช่วยลดการทำงานของแทนนิน และเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมนได้ 35%
2. สกัดส่วนของเปลือกที่หุ้มอยู่ออก แล้วแช่น้ำ (Butler, 1989)
3. เติมสารบางชนิดลงในอาหารที่มีแทนนิน เพื่อให้แทนนินมีการจับตัวเป็นสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งจะช่วยลดการทำงานของสารแทนนินลงได้ เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมคาร์บอเนต (Salunkhe *et al.*, 1990) หรือยูเรีย มีรายงานว่าการให้ถั่วที่มีแทนนินร่วมกับหญ้าที่เสริมยูเรีย ช่วยลดการทำงานของแทนนินในตัวสัตว์ลงได้ (Hill *et al.*, 1986)
4. จุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Streptococcus bovis* ที่พบในมูลของสัตว์ที่กินพืชที่เป็นไม้ยืนต้น เช่น koala, ringtail possum และ กวาง สามารถย่อย CTs และ HTs ที่จับกับโปรตีน

การทำพืชหมัก

การหมักเป็นการถนอมอาหารในรูปแบบหนึ่งที่ได้มีการทำมาตั้งแต่สมัยโบราณทั้งในแง่อาหารมนุษย์ และอาหารสัตว์ นิยมทำเมื่อมีอาหารเหลือเป็นจำนวนมากซึ่งไม่สามารถเก็บไว้ได้นานในสภาพสด วิธีการการถนอมอาหารที่ดีควรเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก ราคาไม่แพง มีการสูญเสียโภชนะต่ำ หรือช่วยปรับปรุงให้อาหารนั้นมีคุณภาพดีขึ้น และสามารถรักษาสภาพความน่ากินให้คงอยู่ได้นาน นอกจากการหมักแล้วการถนอมอาหารมีหลายวิธี เช่น การแช่แข็ง การทำแห้ง และการหมัก เป็นต้น ซึ่งการแช่แข็งมักจะใช้ในการถนอมอาหารของมนุษย์มากกว่าอาหารสัตว์ การทำแห้งมักถูกจำกัดด้วยเรื่องของฤดูกาล แต่ปัจจุบันสามารถทำได้ทุกฤดูโดยการสร้างโรงอบ หรือการใช้ลมร้อนซึ่งมีค่าใช้จ่ายที่สูง ส่วนการถนอมโดยการหมักไม่ถูกจำกัดด้วยฤดูกาลแต่มีค่าใช้จ่ายสำหรับอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการหั่น การอัด และการบรรจุ เช่น บ่อหมัก เป็นต้น

ข้อดีของการหมักเมื่อเทียบกับการทำแห้ง (Alberta, no date; บุญล้อม และคณะ, 2543) คือ

1. การหมักกระทำได้ทุกฤดูกาล โดยเฉพาะช่วงที่มีฝนซึ่งเป็นช่วงที่พืชมีผลผลิต และคุณค่าทางโภชนะสูง
2. การหมักทำให้พืชมีการสูญเสียคุณค่าทางโภชนะต่อพื้นที่น้อยกว่าวิธีทำแห้ง
3. ไม่จำกัดชนิด หรือลักษณะของพืช
4. การหมักหากมีการเก็บรักษาที่ดีจะช่วยลดการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางโภชนะ ทำให้ง่ายต่อการจัดสัดส่วนอาหารในการเลี้ยงสัตว์ ลดความเป็นฝุ่นของอาหาร อีกทั้งสัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชได้ดี เนื่องจากการหมักมักต้องมีการหั่นให้มีขนาดชิ้นเล็ก ทำให้สัตว์มีโอกาสเลือกกินได้น้อย
5. พืชหมักช่วยลดปริมาณสารพิษที่มีอยู่ในพืช เช่น ไนเตรท กรดไฮโดรไซยานิก และมิโมซิน
6. ช่วยลดปัญหาสุขภาพสัตว์ที่เกิดจากอาหารได้ เช่น อาการท้องอืด (bloat)

ส่วนข้อเสียของพืชหมักเมื่อเทียบกับการทำแห้ง คือ

1. ต้องใช้ไซโล หลุม หรืออุปกรณ์อื่น ๆ ในการหมัก รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการอัด หรือดูดอากาศเพื่อให้พืชหมักอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น
2. พืชที่ได้มีวิตามินดีน้อยกว่าการตากแห้ง
3. เสียพื้นที่ในการเก็บมากกว่าเพราะพืชหมักมีลักษณะอวบน้ำ
4. มีน้ำหนักมากจึงไม่สะดวกต่อการขนย้าย ดังนั้นการหมักจึงควรกระทำใกล้กับบริเวณที่ใช้เลี้ยงสัตว์

5. หากต้องใช้สารเสริมเพื่อช่วยในการหมักก็จะเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น
6. ได้ปริมาณสารอินทรีย์ที่จะกลับคืนลงสู่ดินน้อยกว่าเพราะโภชนะอินทรีย์บางส่วนถูกเปลี่ยนสภาพไปในระหว่างกระบวนการหมักเกิดเป็นกรดขึ้น
7. มักมีกลิ่นรบกวนที่เกิดจากการหมัก ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงบริเวณที่ทำการหมัก

ในด้านคุณค่าทางโภชนะ การหมักมีการสูญเสียของโภชนะต่ำกว่าการทำแห้ง แม้ว่าการหมักจะมีการสูญเสียน้ำตาล และโปรตีน อันเนื่องมาจากการทำลายโดยจุลินทรีย์ก็ตาม แต่การทำแห้ง มีการสูญเสียมากกว่า เนื่องจากอิทธิพลของดินฟ้าอากาศ และการหลุดร่วงของใบ เมื่อเทียบโภชนะของพืชหมักกับพืชแห้ง มีความแตกต่างกันดังนี้ พืชหมักมีส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate, WSC) ต่ำกว่าพืชสด เนื่องจากถูกใช้ในกระบวนการหมัก แต่ไม่มีผลต่อคุณค่าทางอาหารมากนักเนื่องจากกรดอินทรีย์ที่เกิดจากการหมักของ WSC สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้ สำหรับโปรตีนที่ถูกทำลายในกระบวนการหมัก บางส่วนถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น กรดอะมิโนอิสระ อะมีน แอมโมเนีย ซึ่งสารเหล่านี้อยู่ในรูปที่ใช้ประโยชน์ไม่ได้ และอะมีน ยังก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่อาจเป็นอันตรายต่อสัตว์ มีผลทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลง นอกจากนี้พืชที่มีสีเขียวและอยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ หากหมักโดยไม่มีความร้อนเกิดขึ้นสูงสามารถเป็นแหล่งของวิตามินเอแก่สัตว์ได้ แต่พืชที่ทำแห้งโดยแสงแดดจะเป็นแหล่งของวิตามินดีได้ดีกว่า (Alberta, no date)

กรรมวิธีหมักพืชโดยทั่วไป คือนำพืชสด ที่มีวัตถุแห้ง ประมาณ 30-35 % มาบรรจุให้แน่นและทำให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน (anaerobe) เพื่อให้เกิดกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน เพื่อรักษาสภาพของพืชไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงซึ่งเรียกสภาพนี้ว่า preserved state (Mahanna, 1993) กระบวนการหมักแบ่งได้เป็น 6 ระยะ (phase) ดังนี้

ระยะที่ 1 เกิดจาก เซลล์ของพืช เอนไซม์ภายในเซลล์พืช และจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน มีการหายใจโดยใช้ออกซิเจนที่หลงเหลืออยู่ในไซโล (silo) และระหว่างชิ้นส่วนของพืชเอง ถ้าไซโลมีการปิดที่ดี ออกซิเจนที่อยู่ภายในจะถูกใช้หมดไปประมาณ 90% ในระยะเวลา 15 นาที และลดเหลือ 0.5 % ภายใน 30 นาที กระบวนการที่เกิดขึ้นในระยะที่ 1 นี้ช่วยให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจน ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการหมักในระยะที่ 2- 4 ต่อไป และในระยะที่ 1 ยังช่วยให้เกิดสารยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์บางกลุ่ม (antimycotic) เกิดสารประกอบทางเคมี ขณะเดียวกันก็มีความสูญเสียโดยเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่ดีสำหรับ lactic bacteria และตัวสัตว์เอง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดความร้อนซึ่งถ้ามีมากเกินไปจะเกิดปฏิกิริยาที่เรียกว่า Maillard

reaction ทำให้สูญเสียการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ปฏิกิริยานี้มักเกิดกับพืชที่มีวัตถุแห้งมากกว่า 50 % โดยมีกลิ่นคล้ายกลิ่นยาสูบ เรียกกลิ่นนี้ว่า cooked odors

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระยะนี้ ส่วนหนึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ภายในพืชเอง ก่อให้เกิดกระบวนการ hydrolysis ของแป้ง และ hemicellulose กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) ซึ่งถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกในกระบวนการหมัก ในขณะเดียวกันเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน เปลี่ยนโปรตีนให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ รวมทั้งไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน กรดอะมิโน แอมโมเนีย และสารอะมีน Muck (1988) พบว่ามากกว่า 50 % ของโปรตีนในพืชมักถูกทำลายลงในระยะที่ 1 นี้ แต่กระบวนการย่อยสลายโปรตีนจะเกิดมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับอัตราการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด ถ้าเป็นกรดอย่างรวดเร็วการย่อยสลายโปรตีนเกิดน้อยลงเนื่องจากความเป็นกรดจะทำลายเอนไซม์และมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง

ระยะที่ 2 เกิดหลังจากที่ออกซิเจนถูกใช้หมดไปในระยะที่ 1 จึงเกิดกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterofermentative bacteria และ Entero-bacteria ซึ่งทนต่อ acetate และความร้อน การเปลี่ยนน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 โมเลกุล (hexose) ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส (fructose) และน้ำตาล 5 โมเลกุล (pentose) ได้แก่ ไซโลส และไรโบส ให้เป็นกรดอะซิติก เอธานอล กรดแลคติก และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ มีผลให้ในระยะนี้มี pH ลดเหลือประมาณ 5 ซึ่งจะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterofermentative bacteria ระยะนี้เกิดนานประมาณ 24-27 ชั่วโมง

ระยะที่ 3 เรียกว่า transitional phase โดย pH จะลดลงเรื่อย ๆ ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่ม homofermentative ทำให้เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้นด้วย เป็นผลให้ pH ลดลงอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องการให้เกิดขึ้นในพืชหมัก

ระยะที่ 4 เป็นระยะที่ต่อเนื่องจากระยะที่ 3 โดยมีอุณหภูมิคงที่ แต่จุลินทรีย์ในกลุ่ม homofermentative และกรดแลคติก ยังคงเพิ่มขึ้น ทำให้ความเป็นกรดของพืชหมักลดลงซึ่งช่วยรักษาสภาพของพืชหมักไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง และพบว่าปริมาณกรดแลคติกควรเกิดขึ้นตั้งแต่ 60% ขึ้นไปของกรดอินทรีย์ทั้งหมด เนื่องจากสัตว์ที่กินพืชหมักใช้เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ระยะที่ 4 นี้ใช้เวลานานที่สุดในกระบวนการหมัก เมื่อระดับ pH ต่ำลงจนสามารถยับยั้งการทำงานของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดในพืชหมัก โดยปกติกระบวนการหมักจะสิ้นสุดลงในเวลาประมาณ 10-21 วัน ขึ้นอยู่กับ ชนิด ความชื้น ความแก่-อ่อน ของพืชที่นำมาหมัก

ระยะที่ 5 เป็นระยะที่พืชอยู่ในสภาวะสิ้นสุดกระบวนการหมัก หรืออยู่ในสภาวะการเก็บรักษา (preserved state) ซึ่งเป็นระยะที่มีค่า pH ต่ำสุด ค่าความเป็นกรดในระยะนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช เช่น พืชตระกูลถั่วซึ่งมี WSC ประมาณ 4-6 % และมีค่า buffering capacity (BC) สูง มักได้ค่า

ความเป็นกรดสุดท้ายประมาณ 4.5 ถ้าเป็นข้าวโพดซึ่งมีค่า WSC สูง และมีค่า BC ต่ำ จะได้ค่าความเป็นกรดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักประมาณ 4.0 นอกจากนี้ปริมาณความชื้นยังมีผลต่อระยะเวลาการสิ้นสุดของกระบวนการหมัก กล่าวคือ พืชที่มีความชื้นสูงจะใช้เวลาหมักนานกว่าพืชที่มีความชื้นต่ำ พืชหมักที่อยู่ในระยะนี้จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นถ้าไม่มีออกซิเจนเข้าไป

แต่พบว่าถ้าพืชที่นำมาหมักมีความชื้นมากกว่า 70% มีผลทำให้กระบวนการที่เกิดขึ้นในระยะที่ 4 นี้แตกต่างออกไป คือ แทนที่จะมีเฉพาะจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกเกิดขึ้นเป็นส่วนใหญ่ กลับมีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่ม clostridia เกิดขึ้นมากกว่า ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้จัดเป็น anaerobic bacteria ก่อให้เกิดการแตกตัวของ lactate และ กรดอะมิโน เป็นกรดบิวทีริก มากกว่ากรดแลคติก มีผลให้ค่า pH ที่เกิดขึ้นมากกว่า 5 หรือ 4 ทำให้พืชหมักเน่าเสีย และไม่มีความน่ากิน

ระยะที่ 6 เป็นระยะที่มีการนำพืชหมักออกไปใช้ ระยะนี้มีความสำคัญ พบว่าปริมาณวัตถุแห้งของพืชหมักมีการสูญเสียประมาณ 50% เมื่อเกิดภาวะ secondary aerobic spoilage ซึ่งมักเกิดบริเวณส่วนผิวของพืชหมักที่สัมผัสอากาศภายนอก โดยปกติพืชหมักที่ทำจากหญ้า หรือ หญ้าผสมถั่ว จะมีความทนต่อการถูกทำลายเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในระยะนี้มากกว่าพืชหมักที่ทำจากข้าวโพด หรือธัญญพืช (cereal)

นอกจากนี้ยังพบว่าการถูกทำลายของพืชหมักเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนภายนอกยังขึ้นอยู่กับ

1. จำนวนประชากรของยีสต์ รา และแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (aerobic bacteria) ที่มีอยู่ในพืช
2. ส่วนของ WSC ที่เหลือจากกระบวนการหมัก
3. ระยะเวลาที่พืชหมักถูกเปิดให้สัมผัสกับอากาศภายนอก
4. ส่วนของพืชหมักที่เน่าเสีย
5. การปนเปื้อนหรือสัมผัสกับพื้นดิน

การหมักพืชตระกูลถั่ว

ข้อจำกัดของการนำพืชตระกูลถั่วมาหมัก คือ เครื่องจักรที่ใช้ในการริดหรือตัด ที่เหมาะสมกับพืชตระกูลถั่ว (Alberta, no date) และปัญหาที่เกิดจากคุณสมบัติของพืชตระกูลถั่วเอง คือ มีปริมาณโปรตีนสูง จึงมีความต้านทานการเป็นกรดสูง มีส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ต่ำ และมีปริมาณวัตถุแห้งต่ำ (McDonald *et al.*, 1991) ดังนั้นการนำพืชตระกูลถั่วมาหมักจำเป็นที่จะต้องเพิ่มส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ และวัตถุแห้ง โดยการเติมกากน้ำตาล มันสำปะหลัง หรือรำข้าว ดังรายงานของ Alli *et al.* (1984) ที่ทำการหมักกระถิน โดยไม่เสริม (C) และเสริมกากน้ำตาลที่ระดับ 2.25 และ 4.5 % ตามลำดับ ในไซโลขนาดเล็กที่มีความจุประมาณ 0.5

กิโลกรัม ในห้องทดลอง (laboratory silos) วัดการเปลี่ยนแปลงที่ 2, 8 และ 28 วัน ดังแสดงในตาราง 2.17

ตาราง 2.17 องค์ประกอบทางเคมีในระยะการหมักต่าง ๆ ของกระถินที่หมักโดยไม่เสริมและเสริมกากน้ำตาล

Table 2.17 Chemical composition of leucaena in stage of fermentation with or without molasses.

		Fermentation period (days)			
		0	2	8	28
pH	C	6.58	6.00	5.05	4.72
	T1	6.57	5.79	4.84	4.31
	T2	6.58	5.74	4.58	4.14
Dry matter (%)	C	40.5	39.9	40.3	37.7
	T1	40.1	40.3	38.9	38.1
	T2	39.9	39.7	39.8	38.0
Crude protein	C	18.9	18.7	16.9	17.5
	T1	18.6	18.6	17.3	18.1
	T2	18.6	18.5	17.6	18.1
Lactic acid	C	ND	0.25	0.57	2.03
	T1	ND	0.36	1.11	4.12
	T2	ND	0.87	2.18	5.06
Acetic acid	C	Trace	0.15	0.29	0.43
	T1	Trace	0.37	0.51	0.61
	T2	Trace	0.47	0.58	0.69
Butyric acid	C	ND	0.01	0.03	Trace
	T2	ND	0.01	0.01	0.02

C = control, T1 = 2.25%, T2 = 4.50 % of molasses, ND = not detected

ที่มา : Alli *et al.* (1984)

พบว่าความเป็นกรดของกระถินหมักที่เสริมกากน้ำตาลเกิดได้เร็ว และมีค่า pH ต่ำกว่าที่ไม่ได้เสริม โดยมีค่าใกล้เคียงพืชหมักคุณภาพดี คือ ต่ำกว่า 4.2 (Alberta, no date; McDonald *et al.*, 1991) นอกจากนี้ยังมีการสูญเสียวัตถุแห้ง และโปรตีนน้อยกว่า แต่มีกรดแลคติกเกิดขึ้นเร็วและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมกากน้ำตาลด้วย ทั้งนี้เนื่องจากกากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ที่ช่วยในกระบวนการหมัก จึงมีผลทำให้เกิดสภาพเป็นกรดที่เร็วขึ้น เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก ดังจะเห็นได้จากตาราง 2.17 พบว่ากรดในกลุ่มที่เสริมกากน้ำตาลเกิดได้เร็วกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม เมื่อหมักที่ 2 วันขึ้นไป การที่กลุ่มไม่เสริมกากน้ำตาลมี

ปริมาณกรดแลคติกต่ำเนื่องจากกระถินมีส่วนที่เป็นน้ำตาลที่ย่อยได้ง่ายต่ำ ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ จึงเกิดกรดน้อย

สำหรับในประเทศไทยพบว่ามีเพียงรายงานของ เรณู (2544) ที่ได้มีการนำใบกระถินยักษ์สายพันธุ์ซัลวาดอร์มาหมัก โดยใช้ส่วนของใบรวมก้านมาหั่นให้มีขนาดชิ้นประมาณ 3-5 เซนติเมตร แล้วหมักร่วมกับสารเสริมชนิดต่าง ๆ ในถุงขนาดบรรจุ 1 กิโลกรัม ดังตาราง 2.18

ตาราง 2.18 การสูญเสียวัตถุแห้ง และคุณภาพของกระถินที่หมักกับสารเสริมชนิดต่าง ๆ

Table 2.18 Dry matter and quality of leucaena fermented with additives.

Additives	DM loss	Lactic acid	Acetic acid	Butyric acid	pH
	(%)		MEq/100 g		
ไม่เสริม	17.91	13.89	13.03	0.08	6.11
เกลือ 10 กรัม	17.18	11.19	10.19	0.06	5.95
เกลือ 20 กรัม	15.98	11.76	10.58	0.04	5.91
ยูเรีย 30 กรัม	22.72	8.89	18.98	0.31	8.71
ยูเรีย 60 กรัม	26.06	8.90	23.45	0.12	8.94
มันเส้นบด 200 กรัม	14.34	17.36	20.01	0.42	5.11
มันเส้นบด 300 กรัม	11.95	14.54	13.70	1.05	4.93
รำละเอียด 200 กรัม	16.67	20.52	11.11	0.16	5.13
รำละเอียด 300 กรัม	16.04	22.93	11.74	0.01	5.09
กากน้ำตาล 50 กรัม	3.84	7.04	8.45	0.07	5.12

สารเสริมแต่ละชนิดจะใช้ร่วมกับน้ำ (มิลลิลิตร) ในอัตราที่เท่ากับปริมาณสารเสริมที่ใช้

ที่มา : เรณู (2544)

พบว่ากลุ่มที่เสริมด้วยกากน้ำตาลมีการสูญเสียวัตถุแห้งและเกิดกรดแลคติกต่ำสุด ส่วนกลุ่มที่เสริมด้วยรำละเอียดมีปริมาณกรดแลคติกสูงสุด ส่วนความเป็นกรดพบว่าต่ำสุดในกลุ่มที่เสริมด้วยมันเส้นบดแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เสริมด้วยรำละเอียด ส่วนกลุ่มที่เสริมด้วยยูเรียพบว่ามีคุณภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นสารเสริมในกระถินหมัก เนื่องจากยูเรียมีความเป็นด่างสูงซึ่งการทำพืชหมักต้องการให้เกิดความเป็นกรดสูงและเกิดได้เร็วเพื่อช่วยรักษาคุณภาพและสภาพพืชหมักให้อยู่ได้นาน

ในการพิจารณาคุณสมบัติของสารเสริมที่ควรนำมาใช้นอกจากช่วยเพิ่มน้ำตาลให้พืชหมักแล้ว ควรคำนึงถึงเรื่องของราคา การหาได้ง่ายในท้องถิ่น การขนส่งและเก็บรักษาได้ง่ายด้วย ซึ่งจากตาราง 2.18 พบว่าสารเสริมที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ คือ มันเส้นบด กับรำละเอียด แม้ว่ามันเส้นบดจะมีแป้งในปริมาณสูง แต่พบว่ามี โปรตีน ไขมัน และฟอสฟอรัส เท่ากับ 1.95, 0.46 และ 0.06 % ซึ่งต่ำกว่ารำละเอียด เท่ากับ 14.17, 17.92 และ 1.86 % ตามลำดับ นอกจากนี้รำละเอียดสามารถหาซื้อได้ทั่วไปเพราะเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าวที่มีอยู่เกือบทุกภาค ส่วนมันเส้นมักจะจำกัดอยู่แถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนใหญ่

นอกจากนี้ เรณู (2544) ยังทำการหมักกระถินร่วมกับรำละเอียดในอัตราส่วน 20% ของน้ำหนักกระถินสด เพื่อใช้เลี้ยงโครีดนม พบว่ามีแนวโน้มที่สามารถใช้ทดแทนอาหารข้นได้ 25 %ของน้ำหนักสด (17%ของน้ำหนักแห้ง) โดยช่วยเพิ่มไขมันในน้ำนมและช่วยลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University