การเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอล ด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารสัตว์

โดย

นายประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอล ด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารสัตว์

โดย

นายประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ADDED VALUE OF CASSAVA RESIDUE FROM ETHANOl PRODUCTION PLANTS BY DIFFERENT MICROORGANISMS FOR ANIMAL FEED

BY

MR. PRAPAT THUNGPHOOMRAPEEWONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (AGRICULTURAl TECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2015

COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นายประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์

เรื่อง

การเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอล
ด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆเพื่อเป็นอาหารสัตว์

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)

เมื่อ วันที่ 14 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2559

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร วิทยาคุณ)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดรุณี ศรีชนะ)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโชค ปัญจะ)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี คอนโด)

คณบดี _____
(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารสัตว์
ชื่อผู้เขียน	นายประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดรุณี ศรีชนะ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโชค ปัญจะ
ปีการศึกษา	2558

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้ประกอบด้วย 2 การทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพิ่มคุณค่าของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ และศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก

การทดลองที่ 1 มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) มี 9 ทรีตเมนต์ จำนวน 3 ซ้ำ คือ 1) กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่ไม่มีการหมัก (CT) 2) กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 4 วัน (LP4) 3) เชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 8 วัน (LP8) 4) เชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน (RO4) 5) เชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน (RO8) 6) เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นเวลา 4 วัน (BS4) 7) เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นเวลา 8 วัน (BS8) 8) เชื้อ *S. cerevisiae* เป็นเวลา 4 วัน (SC4) และ 9) เชื้อ *S. cerevisiae* เป็นเวลา 8 วัน (SC8) ทำการหมักด้วยเชื้อเห็ด เชื้อราและยีสต์ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนเชื้อแบคทีเรียทำการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 และ 8 วัน ผลการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 12.26 - 18.40 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมที่มีโปรตีน 9.43 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) โดยการหมักเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วันช่วยปรับปรุงให้ค่าโภชนะโปรตีน การย่อยได้วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน NDF และ ADF สูงที่สุด การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง

จากโรงงานผลิตเอทานอลโดยใช้จุลินทรีย์สามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนะ และการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน จึงเหมาะที่จะนำไปใช้หรือเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้

การทดลองที่ 2 มีการวางแผนการทดลองแบบ 3X3 แฟคเทอร์เรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 2 ปัจจัย โดยปัจจัย A คือกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 3 ระดับ (0, 5, 10 เปอร์เซ็นต์) ปัจจัย B คือยูเรีย 3 ระดับ (0, 2, 4 เปอร์เซ็นต์) จำนวน 3 ซ้ำ ทำการหมักหญ้าขนเป็นเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างหญ้าหมักที่ได้เพื่อวิเคราะห์ทางเคมี และประเมินการย่อยได้โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบแบชคัลเจอร์ (bacth culture) ผลศึกษาพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์และยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์เป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมักทำให้วัตถุแห้ง และอินทรียวัตถุมีปริมาณสูงสุด 25.53 และ 91.21 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าหญ้าขนหมักด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ โปรตีน NDF ADF เท่ากับ 19.25 72.53 และ 45.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันกับการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 10 ร่วมกับ ยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพการย่อยได้ของหญ้าขนหมักที่มีการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน NDF และ ADF สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ ดังนั้นการทำหญ้าขนหมักโดยใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ค่าโภชนะ และค่าการย่อยได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: กากเอทานอล, การหมักแบบอาหารแข็ง, ค่าโภชนะ, จุลินทรีย์, หญ้าขนหมัก

Thesis Title	Added Value of Cassava Residue from Ethanol Production Plants by Different Microorganisms for Animal Feed.
Author	Mr. Prapat Thungphoomrapeewong
Degree	Master of Science (Agricultural Technology)
Department/Faculty/University	Agricultural Technology Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Darunee Srichana
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Paichok Panja
Academic Year	2015

ABSTRACT

Two experiments were conducted in the thesis to investigate the value added of cassava residue from ethanol production plant by different microorganism and to determine nutrient values and digestibility of Para grass silage ensilaged with cassava residue from ethanol production plant and urea additive.

The first experiment was designed in a completely randomized design (CRD) with 9 treatments and 3 replications. The treatments were cassava residue fermented with 1) *Lentinus polychrous* 4 days (LP4), 2) *L. polychrous* 8 days (LP8), 3) *Rhizopus oryzae* 4 days (RO4), 4) *R. oryzae* 8 days (RO8), 5) *Bacillus subtilis* 4 days (BS4), 6) *B. subtilis* 8 days (BS8), 7) *Saccharomyces cerevisiae* 4 days (SC4), 8) *S. cerevisiae* 8 days (SC8) and 9) cassava residue without fermentation (control, CT). The fermentation conditions and period were at room temperature for LP, RO, SC and at 37 °C for BS, for 4 and 8 days respectively. The results showed that cassava residue fermented by LP, RO, SC and BS had protein contents in the range of 12.26 to 18.40 % which were significantly higher than that of the CT (9.43 %; $P < 0.05$). The digestibility of dry matter, organic matter, protein, acid detergent fiber (ADF) and neutral detergent

fiber (NDF) were significantly higher than that of the CT (P<0.05) especially cassava residue fermented with *R. oryzae* for 8 days. Therefore, the microbial fermentation can improve the nutritiive value of cassava residue from ethanol production by-product. In addition cassava residue fermented with microorganisms also improves the ruminal digestibility. It is suitable to be used or combined in the ruminant feed.

The second experimental design was 3x3 factorial arrangement in completely randomized designs with 2 factors and 3 replications. Factor A was cassava residue from ethanol production plant with 3 levels (0, 5, 10 %) and factor B was urea with 3 levels (0, 2, 4 %). After ensiling period of 30 days, the samples were collected and analyzed for chemical analysis and digestibility in the rumen with bacth culture method for 24 h. The results showed that Para grass silage added with 10% cassava residue and 4% urea had highest dry matter and organic matter content, 25.53% and 91.21% respectively (P<0.05). However, the silage with 5% cassava residue and 4% urea addition contained 19.25% protein, 72.53% NDF and 45.57% ADF which were not different from those of the silage with 10% cassava residue and 4% urea addition. The assessment of the digestibility showed that Para grass silage with 5% cassava residue from ethanol production plant and 4% urea addition had highest digestibility of dry matter, organic matter, protein, NDF and ADF. It was concluded that 5% cassava residue and 4% urea addition in Para grass silage had the most improvement in the nutrients and ruminal digestibility.

Keywords: ethanol residue, solid state fermentation, nutrient, microorganisms, para grass silage

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดรุณี ศรีชนะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและให้คำแนะนำและข้อคิดต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ และมีประโยชน์เป็นอย่างมากในการดำรงชีวิต อีกทั้งยังได้ช่วยเรียบเรียงและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ที่เกิดขึ้นซึ่งส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโชค ปัญจะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ช่วยเหลือในการแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร วิทยาคุณ ที่สละเวลาเพื่อเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และช่วยให้คำแนะนำเพื่อให้งานวิจัยนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี คอนโด ที่สละเวลาเพื่อเป็นกรรมการคุมสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยชี้แนะและให้คำปรึกษาและแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ภายใต้”ทุนวิจัยทั่วไป” ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ และภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ศูนย์รังสิต ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณบริษัท ทรัพทิพย์ จำกัดที่เอื้อเฟื้อกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณ คุณวิชัย สุทธิธรรม และคุณพิสมัย โพธิ์ศรี เจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่คอยช่วยเหลือดูแล และให้คำปรึกษาด้วยดีมาตลอด

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา และมารดา ที่เป็นผู้ให้กำลังใจและโอกาสในการศึกษาตลอดมา รวมทั้งเป็นแบบอย่างที่ดีสอนให้รู้ถึงความพยายามและอดทนต่ออุปสรรคต่างๆ และขอขอบคุณตลอดจนผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ด้วย คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และที่สำคัญยิ่งคือ วงการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

หากการศึกษาครั้งนี้มีข้อบกพร่องประการใด ผู้ศึกษาขอน้อมรับไว้เพื่อนำไปปรับปรุงแก้ไขในการศึกษาครั้งต่อไป

นายประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญภาพ	(12)
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง	3
1.3 ขอบเขตของการทดลอง	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 มันสำปะหลัง	5
2.2 การใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลเป็นอาหารสัตว์	8
2.3 เห็ดขอนดำ	11
2.3.1 เอนไซม์จากเห็ดขอนดำ	12
2.3.2 งานวิจัยในการใช้เห็ดหมักวัสดุต่างๆ	13

2.4 *Bacillus subtilis* 16
2.4.1 งานวิจัยในการใช้แบคทีเรียในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าโภชนะ 17
2.5 เชื้อรา *Rhizopus oryzae* 20
2.5.1 งานวิจัยในการใช้ *R. oryzae* ในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าโภชนะ 21
2.6 ยีสต์ *Saccharomyces* cerevisiae 24
2.6.1 งานวิจัยในการใช้ *S. cereviseae* ในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าโภชนะ 25
2.7 หญ้าขน 26
2.8 พืชอาหารหมัก (silage) 28
2.8.1 จุลชีววิทยาของพืชอาหารหมัก (silage microbiology) 29
2.8.2 กระบวนการหมักของพืชอาหารหมัก 29
2.8.3 ประเภทของสารเสริมในพืชอาหารหมัก (silage additive) 30
2.8.3.1 สารที่ทำให้เกิดความเป็นกรดโดยตรงต่อพืชอาหารหมัก 30
2.8.3.2 สารกลุ่มที่สามารถยับยั้งกระบวนการหมัก 30
2.8.3.3 สารกลุ่มที่กระตุ้นกระบวนการหมัก 30
2.8.3.4 สารกลุ่มที่สามารถต่อต้านจุลินทรีย์โดยเฉพาะ 30
2.8.3.5 สารกลุ่มที่เป็นแหล่งโภชนะ 30
2.8.4 การใช้พืชหมักเป็นอาหารสัตว์ 31

บทที่ 3 วิธีการวิจัย 39

3.1 การทดลองที่ 1: การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 39
3.1.1 การวางแผนการทดลอง 39
3.1.2 การเตรียมการทดลอง 39
3.1.2.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล 39
3.1.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 39
3.1.2.3 การเตรียมสารละลายเกลือแร่ 39
3.1.2.4 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 40
3.1.3 การประเมินคุณค่าทางโภชนะศาสตร์ด้วยวิธีทางเคมี 40
3.1.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ 41

3.2 การทดลองที่ 2: การใช้กากมันสำปะหลังและยูเรียเป็นสารเสริมในหญ้าขนหมัก 42
3.2.1 การวางแผนการทดลอง 42
3.2.2 การเตรียมหญ้าขนและการหมัก 42
3.2.3 การประเมินคุณค่าทางโภชนะศาสตร์ด้วยวิธีทางเคมี 42
3.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ 42

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 43

4.1 การทดลองที่ 1: การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 43
4.1.1 ค่าโภชนะของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 43
4.1.1.1 การสูญเสียวัตถุแห้ง 43
4.1.1.2 วัตถุแห้ง 43
4.1.1.3 อินทรียวัตถุ 44
4.1.1.4 โปรตีน 44
4.1.1.5 NDF 45
4.1.2.6 ADF 45
4.1.2 การย่อยได้ของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 47
4.1.2.1 การย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ 47
4.1.2.2 การย่อยได้โปรตีน 47
4.1.2.3 การย่อยได้ NDF 47
4.1.2.4 การย่อยได้ ADF 48
4.2 การทดลองที่ 2: การใช้กากมันสำปะหลังและยูเรียเป็นสารเสริมในหญ้าขนหมัก 50
4.2.1 ค่าโภชนะของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ 50
4.2.1.1 วัตถุแห้ง 50
4.2.1.2 อินทรียวัตถุ 51
4.2.1.3 โปรตีน 52

4.2.1.4 NDF 54
4.2.1.5 ADF 55
4.2.2 การย่อยได้ของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ 58
4.2.2.1 การย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ 58
4.2.2.2 การย่อยได้โปรตีน 59
4.2.2.3 การย่อยได้ NDF และ ADF 60

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 63

5.1 สรุปผลการวิจัย 63
5.2 ข้อเสนอแนะ 63

รายการอ้างอิง 64

ภาคผนวก 77

ภาคผนวก ก การหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 78
ภาคผนวก ก-1 กากมันสำปะหลังเปียกจากโรงงานเอทานอล 78
ภาคผนวก ก-2 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลอบแห้ง 78
ภาคผนวก ก-3 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเห็ดขอนดำ 79
ภาคผนวก ก-4 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* 79
ภาคผนวก ก-5 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* 80
ภาคผนวก ก-6 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อ *S.cerevisiae* 80
ภาคผนวก ข การหมักหญ้าขนโดยใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริม 81
ภาคผนวก ข-1 หญ้าขนที่ผ่านเครื่องสับให้มีขนาดประมาณ 1นิ้ว 81
ภาคผนวก ข-2 ยูเรีย 81
ภาคผนวก ข-3 การผสมสารเสริมลงในหญ้าขนหมัก 82
ภาคผนวก ข-4 การคลุกเคล้าส่วนผสมในหญ้าขนหมัก 82

ภาคผนวก ข-5 การบรรจุหญ้าขนที่ผสมแล้วลงในถุงซิปล็อค 83
ภาคผนวก ข-6 การดูดอากาศออกจากถุงด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ 83
ภาคผนวก ข-7 การหมักหญ้าขน 84
ภาคผนวก ข-8 ลักษณะของหญ้าขนหมักโดยใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริม 84
ภาคผนวก ค วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะ (proximate analysis) 85
ภาคผนวก ค-1 วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น 85
ภาคผนวก ค-2 วิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุ 87
ภาคผนวก ค-3 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน 89
ภาคผนวก ค-4 วิเคราะห์หาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ADF) 92
ภาคผนวก ค-5 วิเคราะห์หาปริมาณผนังเซลล์ (NDF) 93
ภาคผนวก ง การศึกษาการย่อยได้ด้วยวิธี bacth culture 95
ภาคผนวก ง-1 โคนมเพศผู้เจาะกระเพาะรูเมน 95
ภาคผนวก ง-2 การดูดของเหลวในกระเพาะรูเมน 95
ภาคผนวก ง-3 ศึกษาการย่อยได้ด้วยวิธี bacth culture 96
ภาคผนวก ง-4 เครื่องเขย่าแนวราบ 96

ประวัติผู้เขียน 97

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ค่าโภชนะของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์	46
4.2 การย่อยได้ของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์	49
4.3 ค่าโภชนะของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังและยูเรีย	56
4.4 การย่อยได้ของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังและยูเรีย	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง	7
2.2 รูปร่างลักษณะของเห็ดขอนดำ	12
2.3 ลักษณะของเชื้อ *B. subtilis*	17
2.4 เชื้อรา *R. oryzae* (กำลังขยาย 40 เท่า)	20
2.5 ยีสต์ *S. cerevisiae* กำลัง ขยาย 100 เทา	24
2.6 หญ้าขน (*B. mutica*)	26
4.1 อิทธิพลของการเสริมกากมันสำปะหลังต่อปริมาณวัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก	50
4.2 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อปริมาณอินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก	51
4.3 อิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อปริมาณโปรตีนในหญ้าขนหมัก	52
4.4 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อปริมาณ NDF ในหญ้าขนหมัก	53
4.5 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อปริมาณ ADF ในหญ้าขนหมัก	54
4.6 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อการย่อยได้วัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก	57
4.7 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อการย่อยได้อินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก	57
4.8 อิทธิพลร่วมกันระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียต่อการย่อยได้โปรตีนในหญ้าขนหมัก	59
4.9 อิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้ NDF ในหญ้าขนหมัก	60
4.10 อิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้ ADF ในหญ้าขนหมัก	61

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ	คำเต็ม/คำจำกัดความ
ADF	เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber)
NDF	เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber)
KH_2PO_4	โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate)
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	แม็กนีเซี่ยมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (magnesium sulfate heptahydrate)
SSF	กากหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation)

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังมีกากมันเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเป็นจำนวนมาก การผลิตเอทานอล 150,000 ลิตร ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในการผลิต 350-370 ตัน (มีความชื้น 12-16 เปอร์เซ็นต์ และมีกากมันเปียกเกิดขึ้นซึ่งมีความชื้น 70-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 100-200 ตัน) (สถาบันคนคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร, 2549) ในปัจจุบันไทยมีโรงงานเอทานอลที่เปิดดำเนินการแล้ว 21 แห่ง กำลังการผลิตรวม 4.2 ล้านลิตรต่อวัน โดยเป็นกำลังผลิตจากมันสำปะหลัง 33.4 เปอร์เซ็นต์ ใน พ.ศ. 2556 มีการใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลมากถึง 1.7 ล้านตัน (ธนาคารแห่งประเทศไทย, 2557) ดังนั้นกากมันที่เหลือจากการผลิตเอทานอลจึงมีจำนวนมากในแต่ละปี เนื่องจากกากมันมีความชื้นสูงและเมื่อปล่อยทิ้งไว้จะมีกลิ่นเหม็น และเป็นภาระของโรงงานในการกำจัดทิ้ง และในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าการเลี้ยงปศุสัตว์นั้นมีค่าใช้จ่ายที่สูงมากโดยเฉพาะค่าใช้จ่ายทางด้านอาหารสัตว์ซึ่งสูงถึงประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการผลิต จึงทำให้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการนำวัสดุพลอยได้ทางการเกษตรมาปรับปรุงเพื่อทดแทนวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีราคาแพง อย่างไรก็ตามมีความพยายามในการนำกากมันจากโรงงานเอทานอลไปเป็นอาหารสัตว์ แต่เนื่องจากกากมันจากโรงงานเอทานอลเยื่อใยสูงถึง 35.72 เปอร์เซ็นต์ (สุกัญญา และวราพันธุ์, 2552) จึงเป็นอุปสรรคต่อการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยการพัฒนาคุณค่าทางโภชนะในกากมันจากโรงงานเอทานอลและพัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์กากมันจากโรงงานเอทานอลเพื่อเป็นอาหารสัตว์

มีรายงานการใช้จุลินทรีย์ปรับปรุงคุณภาพวัสดุพลอยได้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร เช่น Darwish et. al (2012) รายงานการใช้เชื้อเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) ผสมกับยีสต์ *S. cerevisiae* ในการหมักตอซังข้าวโพด ช่วยให้ตอซังข้าวโพดมีโภชนะโปรตีน และปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น มีปริมาณเยื่อใยและลิกนินลดลง นอกจากนี้ยังช่วยทำให้มีการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น Adamovic (1997) รายงานการใช้เห็ดนางรมย่อยสลายฟางข้าว

สาลีทำให้เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน มีปริมาณลดลง และมีการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น Schmidt and Furlong (2012) ศึกษาการใช้เชื้อรา *R. oryzae* (CCT 1217) หมักรำข้าว พบว่ารำข้าวขนาด 0.18 มิลลิเมตร ที่เติมด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำให้รำข้าวมีโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการหมักด้วยเชื้อราดังกล่าวถึง 53 เปอร์เซ็นต์ และลดสารฟีนอลิกลงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ Omafuvbe et. al (2002) รายงานการใช้แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* และ *B. subtillis* หมักถั่วเหลืองกะเทาะเปลือกพบว่าช่วยเพิ่มกรดอะมิโนอิสระ Shoda and Mizumoto (2011) รายงานกากนมถั่วเหลืองหมักด้วย *B. subtillis* ช่วยลดเฮมิเซลลูโลสจาก 52 เหลือ 15 เปอร์เซ็นต์

การใช้กากมันเป็นสารเสริมในการทำหญ้าหมักเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์กากมันจากโรงงานเอทานอล มีรายงานการใช้สารเสริมต่างๆในการทำหญ้าหมัก เช่น ดุจดาว และพิชิตร์ (2553) ทดลองนำหญ้าแฝกมาหมักร่วมกับสารเสริมต่างๆ คือ เสริมกากน้ำตาล เสริมรำละเอียด เสริมกรดฟอร์มิค เสริมอีเอ็ม (EM) พบว่าสามารถเพิ่มโภชนะในหญ้าแฝกหมักได้ และ Mao et. al (2014) ทดลองนำหญ้ายักษ์ (king grass) มาหมักร่วมกับสารเสริมต่างๆดังนี้ น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลกลูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ กากน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์เซลลูเลส 0.02 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ผสมสารเสริมร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส พบว่ากลุ่มที่เสริมกากน้ำตาลร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสนั้นมีโปรตีนสูงสุดที่ 9.55 เปอร์เซ็นต์ บุญส่ง และคณะ (2555) นำหญ้ากินนีสีม่วงหมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์และ หญ้าเนเปียร์ยักษ์หมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หญ้าเนเปียร์ยักษ์หมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้โดยมีคุณภาพการหมักอยู่ในเกณฑ์ปานกลางได้นาน 6 เดือน และมีคุณค่าทางอาหารสูง คือ มีโปรตีนอยู่ในช่วง 11.10-14.88 เปอร์เซ็นต์ หญ้ากินนีสีม่วงหมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในช่วงอายุการเก็บรักษา 1-3 เดือน มีลักษณะทางกายภาพดี และมีโปรตีนอยู่ในช่วง 9.64-11.02 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ในการปรับปรุงค่าทางโภชนะและการย่อยได้ของกากมันจากโรงงานเอทานอลจากการหมักด้วยเห็ด รา ยีสต์ และแบคทีเรีย และหาแนวทางการใช้กากมันจากโรงงานเอทานอลโดยการนำมาเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก เพื่อเป็นอาหารหยาบคุณภาพดีสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องในช่วงฤดูแล้ง ทั้งนี้เนื่องจากหญ้าขนเป็นหญ้าที่หาได้ง่ายและมีปริมาณมากในช่วงฤดูฝน ดังนั้นการพัฒนาคุณค่าของกากมันจากโรงงานเอทานอลทั้งสองแนวทางนี้ จะเป็นทางออกให้กับเกษตรกรที่ต้องการใช้ประโยชน์เป็นอาหารสัตว์ และเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลน

อาหารหยาบคุณภาพดีสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉพาะโคนมในช่วงฤดูแล้ง นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางให้กับโรงงานผู้ผลิตเอทานอลในการแก้ปัญหาการจัดการกำจัดกากมันทิ้ง

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1.2.1 เพื่อหาแนวทางการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันจากโรงงานเอทานอลโดยใช้จุลินทรีย์

1.2.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าโภชนะและการย่อยได้กากมันจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

1.2.3 เพื่อศึกษาการใช้กากมันจากโรงงานเอทานอลเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก

1.2.4 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าโภชนะและการย่อยได้ของหญ้าขนหมักที่มีกากมันจากโรงงานเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริม

1.3 ขอบเขตของการทดลอง

จุลินทรีย์ 4 ชนิดที่นำมาใช้ในการหมักประกอบด้วยด้วยเห็ดขอนดำ (*L. polychrous*) เชื้อรา *R. oryzea* เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ ยีสต์ (*S. cerevisiae)* โดยใช้กระบวนการหมักแบบ solid state fermentation (SSF) และนำกากมันจากโรงงานเอทานอลมาใช้เป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมักร่วมกับยูเรีย และศึกษาค่าโภชนะและการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอลและนำกากมันสำปะหลังดังกล่าวไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ต้นทุนต่ำได้

1.4.2 นำความรู้ดังกล่าวไปถ่ายทอดให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์และผู้ที่สนใจ เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตอาหาสัตว์ต้นทุนต่ำ

1.4.3 สามารถเป็นแนวทางให้กับโรงงานผู้ผลิตเอทานอลในการแก้ปัญหาการจัดการกำจัดกากมันทิ้ง และสามารถนำกากมันสำปะหลังที่เหลือทิ้งมาเพิ่มมูลค่าและใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.4.4 การผลิตหญ้าขนหมักที่ใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริมทำให้มีคุณค่าทางโภชนะมากขึ้น

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Manihot esculenta (L.) Crantz* มีชื่อสามัญเรียกหลายชื่อตามภาษาต่าง ๆ ได้แก่ cassava, yuca, mandioa, manioc, tapioca และชื่ออื่นในภาษาไทยตามภาษาท้องถิ่น ได้แก่ ต้าวน้อย ต้าวบ้าน (ภาคเหนือ) มันต้น มันไม้ (ภาคใต้) มันสำโรง สำปะหลัง (ภาคกลาง) มันหิ่ว (พังงา) มันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิดแถบที่ลุ่มเขตร้อน (lowland tropics) มีหลักฐานแสดงว่าปลูกกันในโคลัมเบีย และเวเนซูเอลา มานานกว่า 3,000-7,000 ปีมาแล้ว ส่วนประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าเพื่อใช้ทำแป้งและสาคูในภาคใต้ โดยปลูกระหว่างแถวของต้นยางพารากันมากว่า 70 ปีแล้ว โดยเฉพาะที่จังหวัดสงขลามีอุตสาหกรรมทำแป้งและสาคูจำหน่ายไปยังปีนังและสิงคโปร์ แต่การปลูกมันสำปะหลังทางภาคใต้ค่อยๆ ลดลงเมื่อมีการขยายการปลูกยางพารา ต่อมาได้มีการปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออก ในจังหวัดชลบุรี ระยอง และจังหวัดใกล้เคียง และเมื่อความต้องการของตลาดในด้านผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์และอุตสาหกรรมมีมากขึ้นทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังจังหวัดอื่นๆโดยเฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งในปัจจุบันเป็นพื้นที่ปลูกมากที่สุดของประเทศไทย (กรมวิชาการเกษตร) มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน จุลินทรีย์นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็วในกระเพาะหมัก และสามารถใช้ประโยชน์ได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับแหล่งโปรตีนที่ถูกย่อยสลายได้เร็วส่งผลให้จุลินทรีย์ได้รับพลังงานและไนโตรเจนเพียงพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เซลล์ของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Wanapat, 2000) ทำให้ได้โปรตีนจุลินทรีย์ซึ่งเป็นประโยชน์โดยช่วยให้สัตว์เคี้ยวเอื้องเจริญเติบโต และให้ผลผลิตดี

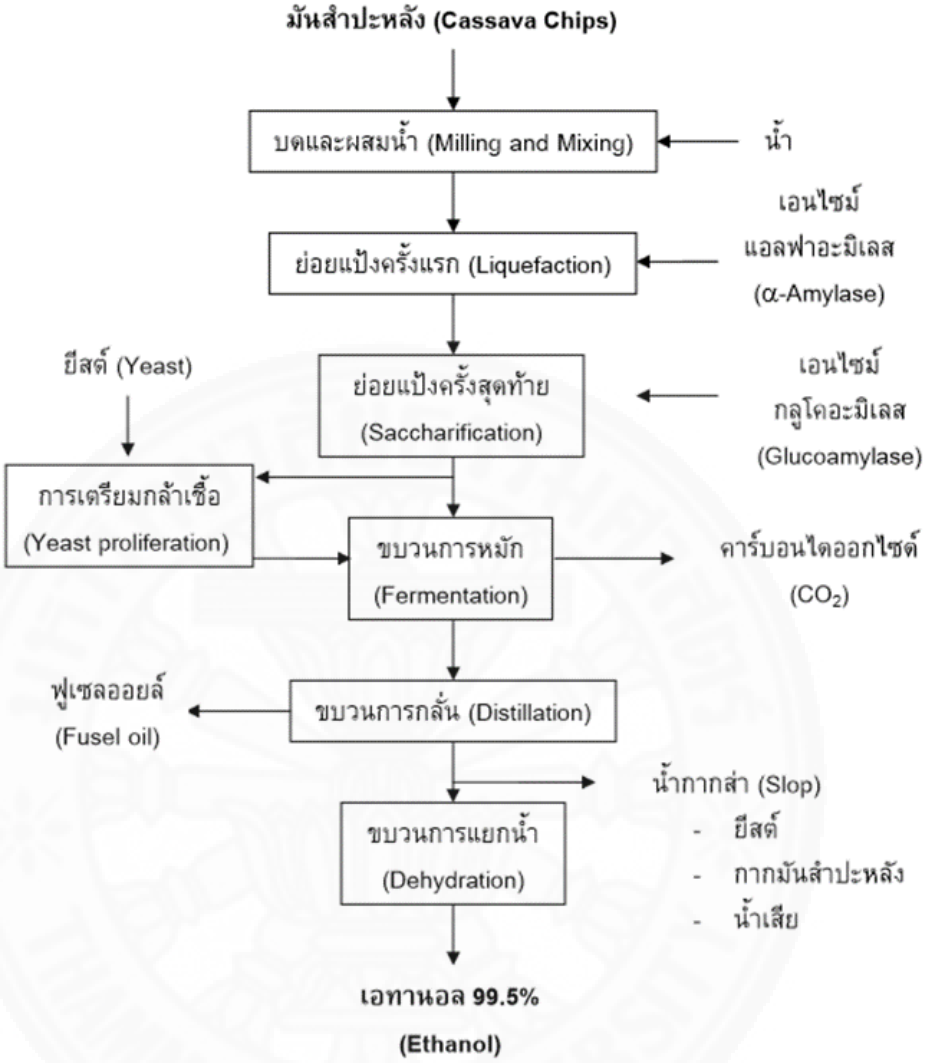
มันสำปะหลังแบ่งได้ออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดหวาน ซึ่งเป็นมันสำปะหลังที่ใช้เพื่อการบริโภค มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคต่ำ ไม่มีรสขม สามารถใช้หัวสดทำอาหารได้โดยตรง โดยนำไปนึ่ง เชื่อม หรือทอด ซึ่งได้แก่ พันธุ์ห้านาที พันธุ์ระยอง 2 ส่วนชนิดขม มีรสขมเนื่องจากมีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคสูง จึงไม่เหมาะสำหรับการบริโภคโดยตรง ต้องนำไปแปรรูปอัดเม็ดหรือมันเส้นแล้วจึงนำไปเลี้ยงสัตว์ได้ ซึ่งได้แก่ พันธุ์ระยอง 1 ระยอง 3 ระยอง 5 ระยอง 60 ระยอง 90 ระยอง 72 เกษตรศาสตร์ 50 และ ห้วยบง 60 สำหรับในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นชนิดขมพันธุ์ดั้งเดิม คือพันธุ์พื้นเมืองซึ่งสันนิษฐานว่านำเข้ามาจากประเทศมาเลเซีย ต่อมากรมวิชาการเกษตร และ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้มีการวิจัยปรับปรุงพันธุ์เป็นพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 5 ระยอง 60 ระยอง 90 รวมทั้งพันธุ์ใหม่ซึ่งได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 และห้วยบง 60 ในปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้เอทานอล เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิง ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังนั้นแป้งจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงใช้ยีสต์หมัก 2-4 วัน ได้แอลกอฮอล์ 6-10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นแยกกากเอทานอลและยีสต์ออกมาเพื่อนำแอลกอฮอล์ 6-10 เปอร์เซ็นต์ ไปกลั่นเป็นเอทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์ต่อไป (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2553)

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร (2549) ได้อธิบายถึงวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง (ทั้งหัวมันสด และมันเส้น) โดยมันสำปะหลังจะมีแป้งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เมื่อนำแป้งมาผ่านกระบวนการย่อย (hydrolysis) ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักเอทานอลได้ (ภาพที่ 2.1) โดยปัจจุบันจะนิยมย่อยแป้งด้วยเอนไซม์มากกว่ากรด เนื่องจากสามารถควบคุมการย่อยได้ง่ายกว่าและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์มีความบริสุทธิ์มากกว่าการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์จะประกอบด้วยการย่อย 2 ครั้ง คือ

1. การย่อยแป้งครั้งแรกหรือการทำให้แป้งเหลว (liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 1-2 ชั่วโมง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เด็กทรินซ์ (dextrin)

2. การย่อยแป้งครั้งสุดท้ายหรือการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (saccharification) ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ย่อยเด็กทรินซ์ที่อุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส ให้ได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งยีสต์สามารถใช้หมักเป็นเอทานอลได้ โดยกระบวนการหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2553)

ปัจจุบันประเทศไทยมีโรงงานเอทานอลที่เปิดดำเนินการแล้ว 21 แห่ง โดยมีโรงงานที่ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอยู่ 6 แห่ง ซึ่งมีสัดส่วนผลผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง 33.4 เปอร์เซ็นต์ของกำลังการผลิตรวม กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังจะได้น้ำกากส่าซึ่งมีส่วนผสมของกากมันอยู่เป็นจำนวนมาก (ธนาคารแห่งประเทศไทย, 2556) ในการผลิตเอทานอล 150,000 ลิตร ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในการผลิต 350-370 ตัน (มีความชื้น 12-16 เปอร์เซ็นต์) และมีกากมันเปียกซึ่งมีความชื้น 70-80 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้น จำนวน 100-200 ตัน (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร, 2549) กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล

มีความชื้นสูง มีคุณค่าทางโภชนะโปรตีน 7.27 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูงถึง 35.72 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันเล็กน้อย คือ 1.07 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนของคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง 40-45 เปอร์เซ็นต์ (สุกัญญา และวราพันธุ์, 2552) กากมันจากโรงงานเอทานอลสามารถเป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งพลังงานสำหรับสัตว์ได้ แต่เนื่องจากมีเยื่อใยสูงและมีโปรตีนต่ำ จึงเป็นอุปสรรคต่อการนำไปใช้ประกอบในสูตรอาหารสัตว์

2.2 การใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลเป็นอาหารสัตว์

การศึกษาวิจัยการใช้กากมันจากโรงงานเอทานอลเพื่อเป็นอาหารสัตว์ยังมีน้อย วิรชัย และคณะ (2536) ศึกษาการใช้กากจากโรงงานเอทานอลในอาหารไก่ไข่ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้แบบปรากฏ และโปรตีนใช้ประโยชน์ได้สุทธิแบบปรากฏของกากมันมีค่าเท่ากับ 2,229.85 กิโลแคลลอรี่ และ 24.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการใช้กากมันทดแทนข้าวโพดในสูตรอาหาร 5 ระดับ คือ 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่พันธุ์อิซ่าบราวน์ พบว่าไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมกากมันมีความสามารถในการผลิตไม่แตกต่างไปจากกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติทั่วไป (P>0.05) และมีน้ำหนักไข่ ความหนาของเปลือกไข่ ค่าฮอฟ์ยูนิตของไข่ไม่แตกต่างกันด้วย (P>0.05) แต่การเสริมกากมันที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มว่าจะมีอัตราการไข่ที่ลดลง ดังนั้นการเสริมกากมันจากโรงงานเอทานอลที่ระดับ 10 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพของผลผลิต ยกเว้นสีของไข่แดงซีดกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติที่ไม่มีกากมันผสมอยู่ อย่างไรก็ตาม สุกัญญา และวราพันธ์ (2552) รายงานว่ากากมันจากขบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล มีค่าความเป็นกรดและสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ration) สูง ไม่เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นปุ๋ยให้กับพืช ส่วนการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์นั้นยังพบว่ามีโปรตีนต่ำและเยื่อใยสูง และมีส่วนของคาร์โบไฮเดรตอยู่ 40-45 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังมีความเป็นกรดสูงจึงไม่สามารถใช้เป็นอาหารโคได้มากนัก ส่วนการใช้เป็นอาหารสุกรสามารถใช้ในสูตรอาหารสุกรระยะขุน และแม่อุ้มท้องซึ่งมีความทนต่อระดับเยื่อใยที่สูงได้ อย่างไรก็ตามการใช้กากเอทานอลชนิดนี้เป็นอาหารสัตว์ควรคำนึงถึงปริมาณเยื่อใยในสูตรอาหารด้วย ดังนั้นระดับเยื่อใยในกากเอทานอลชนิดนี้จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้ในสูตรอาหารสำหรับการเลี้ยงสัตว์ ณรกมล (2556) ศึกษากระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองเจาะกระเพาะที่ได้รับกากมันแห้งจากโรงงานเอทานอลเสริมลงในสูตรอาหาร โดยเสริมที่ 0, 15, 30, และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร จากการศึกษาพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง, โปรตีน, NDF, ADF และคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณแอมโมเนีย

ไนโตรเจนทุกกลุ่มเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือเพิ่มขึ้นหลังจากให้อาหาร 1 ชั่วโมง และลดลงในชั่วโมงที่ 2, 3 และ4 การสลายตัวของวัตถุแห้งของกลุ่มที่ไม่เสริมกากมัน และกลุ่มที่เสริมกากมัน 15 เปอร์เซ็นต์ นั้นสูงกว่ากลุ่มที่เสริมกากมัน 30 และ45 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวมย่อยได้และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ของกลุ่มที่เสริมกากมัน 15 เปอร์เซ็นต์นั้นสูงกว่าระดับอื่นๆ ดังนั้นการใช้กากมันจากโรงงานเอทานอล 15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารเป็นระดับที่เหมาะสมโดยไม่ส่งผลเสียต่อระบบการย่อยอาหารของโคพื้นเมือง ศุภกิจ และคณะ (2555) หาแนวทางเพิ่มโปรตีนและรักษาสภาพของกากมันจากโรงงานเอทานอลเพื่อเป็นอาหารสัตว์โดยการนำมาหมักร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* และยูเรีย จากการศึกษาพบว่าการหมักกากมันจากโรงงานเอทานอลด้วยยีสต์ร่วมและยูเรีย 2.0 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล 6.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเป็นเวลา 15 วันทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นคิดเป็น 27 เปอร์เซ็นต์ (จาก 20.0 เป็น 25.4 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่การหมักกากมันจากโรงงานเอทานอลด้วยยีสต์ร่วมกับยูเรีย 2.0 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล 9.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 10 วันทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นคิดเป็น 22 เปอร์เซ็นต์ (จาก 19.0 เป็น 24.4 เปอร์เซ็นต์) วรางคณา และฉลอง (2557) ศึกษาการใช้ประโยชน์เศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล หรือกากเอทานอล หลังการหมักด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) และเชื้อรา (*A. niger*) ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ ต่อการย่อยได้และผลผลิตแก๊สจากกระบวนการหมัก โดยใช้เทคนิคการผลิตแก๊สในห้องปฏิบัติการ วางแผนงานทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยสูตรอาหารทดลองทั้งหมด 7 สูตรจะนำกากเอทานอลแห้ง 1 กิโลกรัมมาใช้ผสมกับสูตรอาหารดังนี้ สูตรอาหารไม่เสริมกากเอทานอลหมัก เสริมกากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 5 มิลลิลิตร เสริมกากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 25 มิลลิลิตร เสริมกากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 50 มิลลิลิตร เสริมกากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 5 มิลลิลิตร กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 25 มิลลิลิตร เสริมกากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 50 จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสูตรอาหารที่มีกากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ส่งผลให้มีค่าการย่อยได้และผลผลิตแก๊สสะสมสูงกว่าการใช้กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา และการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 50 มิลลิลิตร มีค่าผลผลิตแก๊สสะสมสูงที่สุด แต่กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 25 มิลลิลิตร มีค่าการย่อยได้สูงที่สุดที่ 57.5 เปอร์เซ็นต์

กากมันจากโรงงานผลิตแป้งมันมีคุณสมบัติต่างจากกากมันจากโรงงานเอทานอล เนื่องจากกากมันจากโรงงานเอทานอลมียีสต์เป็นองค์ประกอบและยังพบว่าลักษณะทางกายภาพที่ได้หลังจากกระบวนการกลั่นเอทานอลยังมีความร้อน และมีลักษณะเปียกมาก อย่างไรก็ตามเนื้อของกากเอทานอลจะมีสภาพคล้ายกับกากมันจากโรงงานแป้งมันแต่มีลักษณะหยาบเป็นชิ้นเยื่อใยสูงมากกว่า และมีสีแตกต่างกันคือ มีทั้งสีเหลือง สีน้ำตาล และสีเทา มีกลิ่นของแอลกอฮอล์ และกลิ่นเปรี้ยวโดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 3.67-3.84 และเมื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมี

ของกากมันจากโรงงานเอทานอลกับกากมันที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมัน พบว่ากากเอทานอลมีโปรตีน เถ้า และเยื่อใยสูงกว่ากากมันสำปะหลังที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมัน (ศศิธร, 2556)

อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาการใช้กากมันจากโรงงานผลิตแป้งมันเป็นอาหารสัตว์ ดังนี้ วริยา และคณะ (2552) ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของกากมันสำปะหลังโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในแถบภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า กากมันสำปะหลังที่ได้จากการสุ่มจากโรงงานมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 347 กรัมต่อลิตร และทราย 2.16 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยการย่อยได้ของไขมัน และโปรตีนในสุกรเล็กน้ำหนัก 25 กิโลกรัม เท่ากับ 76.48 และ66.20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ค่าเฉลี่ยการย่อยได้ของไขมันและโปรตีนในสุกรใหญ่น้ำหนัก 50 กิโลกรัม เท่ากับ 71.51 และ67.12 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยพลังงานใช้ประโยชน์ได้ในสุกรเล็กและสุกรใหญ่เท่ากับ 2,462 และ2,571 กิโลแคลลอรี่ต่อกิโลกรัม โดยที่ไม่พบการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราชนิดต่างๆ ในกากมันสำปะหลังจากทุกโรงงาน และค่าเฉลี่ยไซยาไนด์เท่ากับ 4.17 ส่วนต่อล้านส่วน จากการศึกษาพบความแปรปรวนในลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของการมันสำปะหลังนั้นจะขึ้นอยู่กับสถานที่และกรรมวิธีการผลิตของแต่ละโรงงาน อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังมีความหนาแน่นต่ำจึงควรมีการพิจารณาก่อนนำไปประกอบสูตรและผสมอาหารเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาการใช้กากมันจากโรงงานแป้งมันเป็นอาหารสัตว์โดย Suksombat et. al (2006) ทดลองนำกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตแป้งมันเสริมลงไปในอาหารข้นโคนมสายพันธุ์ โฮสไตน์ ฟรีเชี่ยน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตของโคที่อยู่ในช่วงกลางของการให้นม โดยที่โคทั้งหมดได้รับน้ำและอาหารหยาบอย่างอิสระและเต็มที่ และมีการเสริมกากมันสำปะหลังในอาหารโดยแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ 35 40 และ45 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง ปริมาณการกินได้โปรตีนและปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) เมื่อผสมกากมันสำปะหลังลงในอาหาร 45 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตของโค อย่างไรก็ตามการใช้กากมันในสูตรอาหาร 45 เปอร์เซ็นต์ อาจทำให้มีโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein) ไม่เพียงพอต่อความต้องการของโคนม และกรณีที่โคได้รับพลังงานมากเกินความต้องการจะทำให้สะสมในรูปไขมัน ซึ่งส่งผลกระทบต่อพลังงานที่นำไปใช้ในการผลิตน้ำนม ทำให้ผลิตน้ำนมลดลง ดังนั้นการประกอบสูตรอาหารต้องใช้วัตถุดิบที่มีโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะรูเมนสูง เพิ่มลงในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังอีกด้วย ปิตุนาถ (2547) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในอาหารข้นต่อปริมาณน้ำนมส่วนประกอบของน้ำนม น้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลงของโครีดนมในช่วงกลางระยะให้นม ของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน ระดับเลือดไม่ต่ำกว่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ และอยู่ในช่วงกลางของการให้นม พบว่า การกินได้ของโคที่ได้รับจากอาหารข้นเสริมกากมันสำปะหลังได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ และใช้

หญ้าหมักเป็นแหล่งของอาหารหยาบ มีการกินได้วัตถุแห้ง การกินได้โปรตีน และ การกินได้พลังงานสุทธิของของโคนมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณน้ำนม (กิโลกรัม/วัน) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้โปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (rumen degradable protein) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RUP) ของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าไม่เพียงพอต่อความต้องการของโคนมทั้ง 3 กลุ่ม ดังนั้นการใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในสูตรอาหารในระดับสูงสุด 45 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหารควรได้รับการเสริมแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารควบคู่ไปด้วย ไพบูลย์ (2551) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันทดแทนมันสำปะหลังในสูตรอาหารเลี้ยงโคนมลูกผสมเพศผู้ (พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนระดับเลือดไม่ต่ำกว่า 43.75 เปอร์เซ็นต์ x บราห์มันระดับเลือด 50 เปอร์เซ็นต์) โดยมี 4 ทรีตเมนต์ ได้แก่ กากมันสำปะหลังทดแทนมันสำปะหลัง ที่ระดับ 0, 33.3, 66.6 และ100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณการกินได้ทั้งอาหารข้นและอาหารหยาบ อัตราการเจริญเติบโต ความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในเลือด ความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย ภายในกระเพาะหมักของกลุ่มโคทุกกลุ่ม ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) จึงสรุปได้ว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังมันสำปะหลังทดแทนมันสำปะหลังในสูตรอาหารข้นสำหรับโคนมลูกผสมเพศผู้ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์โดยไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการผลิตของโคนมลูกผสมเพศผู้

2.3 เห็ดขอนดำ

เห็ดขอนดำ (*L. polychrous* Lev.) มีอีกชื่อหนึ่งว่า เห็ดลม หรือเห็ดกระด้างอยู่ในสกุล Lentinus เป็นเห็ดขอนชนิดหนึ่งที่รับประทานได้เห็ดขอนดำมีจำหน่ายมากในปลายฤดูฝน และต้นฤดูหนาวทางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยผู้ขายเก็บมาจากขอนไม้ในป่าเห็ดขอนดำจัดว่าเป็นเห็ดมีเนื้อแห้งและเหนียวคล้ายหนัง ชาวบ้านจะเก็บเห็ดชนิดนี้ร้อยเป็นพวงมาลัยหรือขายปนกับผักที่ใช้ประกอบแกงแคที่มีชื่อเสียงของภาคเหนือมีลักษณะดอกเห็ดเป็นดอกเดียว มีโคนก้านดอกเล็กปลายดอกบานออกเป็นปากแตรหรือรูปกรวย ตรงกลางดอกเห็ดบุ๋มลึกลงไปเป็นรูปกรวยมีสีกากีหรือสีน้ำตาล มีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่ที่บริเวณด้านบนของดอกเห็ด ด้านล่างมีครีบหมวกเรียงเป็นรัศมีรอบก้านและยาวขนานกับก้านดอกลงไปเกือบถึงโคนก้านดอก ดอกเห็ดด้านล่างมีซี่หมวกสีน้ำตาลเข้มกว่าด้านบนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มปนแดงเมื่อดอกเห็ดแก่ ขอบของหมวกเห็ดบางกว่าส่วนกลางเพราะครีบหมวกค่อยๆเรียวเล็กเชื่อมติดกับขอบหมวกครีบหมวกแคบบางและไม่ลึกเหมือนเห็ดอื่นๆทั่วไป ขอบหมวกจะโค้งงอเล็กน้อยหมวกเห็ด มีความกว้างประมาณ 5-10

เซนติเมตร ก้านดอกเห็ดสั้นแข็งแรงและเหนียวมีความกว้างประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร ผิวเรียบและมีสีน้ำตาลอ่อน ดังแสดงในภาพที่ 2.2 (ดำเกิง, 2547)

ภาพที่ 2.2 รูปร่างลักษณะของเห็ดขอนดำ
ที่มา: ดำเกิง (2547)

2.3.1 เอนไซม์จากเห็ดขอนดำ

ปิติกานต์ (2551) ได้ทำการศึกษาการหมักเปลือกเมล็ดทานตะวันโดยใช้เชื้อเห็ดขอนดำ (*L. polychrous* Lev. LP-SW-3) เพื่อลดปริมาณลิกนินในเปลือกเมล็ดทานตะวัน ทำการทดลองหมักที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส โดยมีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของเปลือกเมล็ดทานตะวันเป็น 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 พบว่าเชื้อเห็ดขอนดำสามารถลดปริมาณลิกนินและผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียสและค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 5.0-5.5 และผลิตเอนไซม์แมงกานีสเพอออกซิเดสได้ดีในช่วงอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่าง ทุกช่วงที่ทำการศึกษา อย่างไรก็ตามการหมักเปลือกเมล็ดทานตะวันตะวันกับเชื้อเห็ดขอนดำควรเติมแหล่งไนโตรเจนลงด้วยในการทดลองนี้ใช้ 30 mM-N KNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจนสามารถลดปริมาณลิกนินได้มากถึง 51.54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 30 วันในขณะที่หากไม่เติมแหล่งไนโตรเจนจะสามารถลดลิกนินได้เพียง 15.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ปัทมา และภคมน (2551) ที่รายงานว่าเชื้อเห็ดขอนดำสามารถผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนิโนไลติกที่สามารถกำจัดสีย้อมผ้าได้

2.3.2 งานวิจัยการใช้เห็ดในการหมักวัสดุต่างๆ

น้ำฝน และคณะ (2555) ได้นำกากส้มเขียวหวานซึ่งเป็นของเหลือที่ได้หลังจากการคั้นน้ำผลไม้มาปรับปรุงด้วยการใช้เส้นใย *L. polychrous* Lev. ในการเพิ่มโปรตีนให้แก่กากส้ม โดยศึกษาการเลี้ยงเส้นใย *L. polychrous* Lev. บนกากส้มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยแปรผันปัจจัย 2 ปัจจัย คือความชื้น 70 และ75 เปอร์เซ็นต์ และลักษณะก้อนของกากส้ม ก้อนกลม และ แบน ซึ่งทั้งสองลักษณะนั้นจะใช้กากส้มนำหนักเท่ากันคือ 42 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยก้อนกลมจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมนตร และก้อนแบนจะมีความสูงประมาณ 0.2 เซนติเมตร จากผลการทดลองพบว่าที่ความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์ และ ลักษณะกากส้มก้อนแบนจะให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ 21.74 เปอร์เซ็นต์ จากเดิมคือกากส้มที่ไม่ได้ผ่านการหมักที่มีโปรตีนเพียง 1.13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณสารฟีนอลิคที่มีจากเดิมหลังทำการฆ่าเชื้อของกากส้มจะมีสารฟีนอลิคอยู่ประมาณ 2500 GAE ต่อกากส้ม 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แต่จะแปรผกผันกับการเจริญเติบโตของเส้นใย *L. polychrous* Lev. และปริมาณโปรตีน คือเมื่อเส้นใยเจริญมากยิ่ง หรือปริมาณโปรตีนมีมากขึ้น ปริมาณสารฟีนอลิคจะลดลงเป็นอย่างมาก

จิรชยา และคณะ (2554) นำเหง้ามันสำปะหลังมาใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยของเห็ดขอนดำ ศึกษาปัจจัยในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน ขนาดของวัสดุเหง้ามัน และอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง โดยวัดการเจริญของเส้นใยเห็ดบนเหง้ามันจากเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้ง โดยเจริญอยู่ในสภาวะต่างๆ 3 สัปดาห์ พบว่าความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดมากที่สุด สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง คือ ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันอยู่ในช่วง 50 - 70 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของเหง้ามันอยู่ในช่วง 0.85 – 1.85 มิลลิเมตร อุณหภูมิขณะทำการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 34 - 37 องศาเซลเซียส โดยทำให้เปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มีเส้นใยเห็ดชนิดนี้เจริญอยู่ มีค่าอยู่ในช่วง 17.14 – 22. 46 เปอร์เซ็นต์

จารุวรรณ (2548) ศึกษาการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสของเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) พบว่ามีการสร้างเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส เอนไซม์เอวิเซลเลส และเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ในการเข้าย่อยสลายโมเลกุลของเซลลูโลสที่เป็นแหล่งคาร์บอน อีกทั้งยังสร้างเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสเพียงเพื่อช่วยให้เอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสเข้าถึงซับสเตรทได้ดียิ่งขึ้น โดยจะแบ่งการบ่มเป็น 2 แบบ คือในสภาวะอาหารเหลว mushroom minimal medium (MMM) และอาหารแข็งที่ประกอบด้วย ขี้เลื่อย 1 กิโลกรัม รำละเอียด 50 กรัม แคลเซียมคาร์บอเนต 10 กรัม แมกนีเซียมคลอไรด์ 2 กรัม ยิปซัม 20 กรัม และน้ำกลั่น 50-60 เปอร์เซ็นต์โดยใช้ระยะเวลาการบ่ม 50 วันโดยจะเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อทุกๆ 5 วัน ซึ่งระยะเวลาในการบ่มเชื้อเป็นปัจจัยให้เห็ดนางรมมีรูปแบบการ

สร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสที่แตกต่างกันเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน กล่าวคือในสภาวะอาหารเหลวเห็ดนางรมสร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสในปริมาณสูงตลอดช่วงการเพาะเลี้ยงที่ทดลองนาน 15 วัน ขณะที่ในสภาวะอาหารแข็ง เห็ดนางรมสร้างเอนไซม์ปริมาณต่ำในช่วงแรก แต่การสร้างเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญเติบโต ใช้เวลานาน 40-45 วัน แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการสร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสแต่ละชนิด พบว่าในสภาวะอาหารเหลวและอาหารแข็ง เส้นใยเห็ดนางรมสร้างเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนสในปริมาณใกล้เคียงกันรองลงมาได้แก่ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เอนไซม์แลคเคส และเอนไซม์เอวิเซลเลส ตามลำดับ

Adamovic (1997) ศึกษาการใช้เห็ดนางรมย่อยสลายฟางข้าวสาลีเพื่อเป็นอาหารโค ซึ่งทำการทดลองโดยใช้ฟางข้าวสาลีสับและผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นจึงนำมาเพาะเห็ดนางรม รอจนกระทั่งเห็ดออกดอกแล้วจึงทำการเก็บดอกเห็ดจำนวน 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างของฟางข้าวสาลีสับที่ผ่านการเพาะด้วยเห็ดนางรมที่ได้มาวิเคราะห์ พบว่า ฟางข้าวสาลีสับที่ได้จากการเพาะเชื้อเห็ดนางรมมีปริมาณ NDF ลดลงจาก 824 เป็น 485 กรัมต่อกิโลกรัม และADF ลดลงจาก 561 เป็น 412 กรัมต่อกิโลกรัม ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฟางข้าวสาลีนั้นสามารถถูกย่อยสลายได้จากเอนไซม์ของเห็ดนางรม อย่างไรก็ตามจากการทดลองนำไปให้สัตว์กินพบว่าสัตว์จะกินอาหารที่มีการผสมฟางข้าวสาลีที่ผ่านกระบวนการเพาะเห็ดผสมไม่เกิน 17 เปอร์เซ็นต์

Neifara et. al (2013) ได้ศึกษาการใช้เห็ด *Fomes fomentariusso* ปรับปรุงค่าทางโภชนะของกากมะกอกที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำมันมะกอกเนื่องจากกากมะกอกเป็นปัญหาให้กับโรงงานอุตสาหกรรมในการกำจัดทิ้ง เพื่อยกระดับคุณค่าทางโภชนาการและการย่อยได้ของกากมะกอกให้สามารถใช้เป็นอาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ ในการศึกษานี้ พบว่าการใช้ *F. fomentariusso* หมักกากมะกอกเป็นเวลา 30 วันทำให้กากมะกอกมีโปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุดจาก 6.5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 22 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่า NDF, ADF และลิกนิน มีปริมาณลดลงจากเดิมที่มีอยู่ 69, 45 และ31เปอร์เซ็นต์ เหลือ 23, 13 และ10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการมีย่อยได้วัตถุแห้งในกระเพาะรูเมนในห้องปฏิบัติการเพิ่มขึ้นจาก 9 เป็น 25 เปอร์เซ็นต์อีกด้วย

ยิ่งลักษณ์ (2543) ศึกษาการย่อยสลายหญ้าแฝกด้วยเชื้อเห็ดนางฟ้า *(Pleurotus sajorcaju)* เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะ เตรียมแฝกโดยนำมาสับเป็นชิ้นขนาด 3-5 เซนติเตรโดยแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปตากแห้งแล้วอีกส่วนหนึ่งเอาไปผ่านกระบวนการเพาะเห็ดนางฟ้าโดยบรรจุถุงละ 800 กรัม ใช้เวลาในการบ่มประมาณ 4 สัปดาห์เพื่อให้เส้นใยเห็ดเดินเต็มก้อนเชื้อ และเปิดก้อนเห็ดเพื่อเก็บดอกเห็ดอีก 4 สัปดาห์ แล้วจึงนำก้อนเห็ดที่ได้มาตากแห้งแล้วนำไปตรวจสอบค่าทางโภชนะ พบว่า แฝกหลังการเพาะบ่มด้วยเชื้อเห็ดนางฟ้าที่ 0, 30, 60 และ120

วันมีโปรตีนเท่ากับ 3.95, 8.38, 7.24 และ4.29 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ ที่ระยะบ่ม 30 วัน ซึ่งหญ้าแฝกมีโปรตีนสูงสุด และมีปริมาณลิกนินลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของหญ้าแฝกเริ่มต้น และมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสลดลงจาก 31.1 เป็น 20.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณเซลลูโลสไม่เปลี่ยนแปลง ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าเชื้อเห็ดนางฟ้าสามารถเพิ่มคุนค่าทางโภชนาการของหญ้าแฝกได้โดยเพิ่มระดับของโปรตีนและลดระดับของเยื่อใยที่เป็นส่วนของผนังเซลล์ อย่างไรก็ตามการใช้หญ้าแฝกเพาะเห็ดเพียงอย่างเดียวเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นสิ่งที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากโภชนะหลายชนิดยังต่ำกว่าความต้องการของสัตว์

Darwish et. al (2012) ที่ศึกษาการใช้เห็ดนางรมผสมกับยีสต์ *S. cerevisiae* หมักตอซังข้าวโพด โดยการสับตอซังข้าวโพดให้มีความยาว 1-2 เซนติเมตรแล้วนำไปใส่ในถุงพลาสติก แล้วปรับความชื้นของตอซังข้าวโพดให้อยู่ที่ 70 เปอร์เซ็นต์แล้วจึงใส่เชื้อเห็ด 10-12 กรัมผสมและยีสต์ ในระดับต่างๆที่ 15, 30 และ45 มิลลิลิตร โดยหมักที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-28 วัน พบว่าการหมักด้วยเห็ดและยีสต์ดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุ และที่สำคัญเพิ่มโภชนะโปรตีนได้สูงสุดหลังจากการบ่ม 7 วัน โดยเพิ่มจาก 3.60 เปอร์เซ็นต์ เป็น 11.80 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีแนวโน้มว่ามีการลดปริมาณเยื่อใย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น สำหรับการศึกษาด้านการย่อยได้วัตถุแห้งของกระเพาะรูเมนในห้องปฏิบัติการพบว่าช่วยเพิ่มการย่อยได้วัตถุแห้ง จาก 15.35 เปอร์เซ็นต์ เป็น 27.85 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการหมักตอซังข้าวโพดโดยใช้เห็ดนางรมและยีสต์ร่วมกันสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนและปรับปรุงค่าการย่อยได้ให้ดีขึ้นได้

Kewalramani et. al (1988) ศึกษาการใช้เชื้อเห็ดนางฟ้า *P. sajorcaju* ปรับปรุงค่าโภชนะของชานอ้อยโดยใช้เวลาในการหมักตั้งแต่ 0-40 วัน พบว่าการหมักที่ระยะเวลา 40 วันสามารถลดปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ได้ 12, 42 และ26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังสามารถเพิ่มการย่อยได้ในวัตถุแห้งในห้องปฏิบัติการได้อีก 19 เปอร์เซ็นต์เมื่อเมื่อเทียบกับชานอ้อยที่ไม่ได้รับการปรับปรุง

El-Sayed et. al (1994) รายงานการใช้เห็ดนางรมเพื่อเพิ่มโปรตีนในชานอ้อย ศึกษาโดยใช้ชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมคลอไรด์ แล้วนำมาหมักกับเห็ดนางรม โดยหมักที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 22.6 และ18.0 เปอร์เซ็นต์ เป็น 26.4 และ23.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Zadrazil and Puniya (1995) ศึกษาการใช้เห็ด *Pleurotus* sp หมักชานอ้อยขนาดต่างๆกัน ตั้งแต่ขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร 1-3 มิลลิเมตร 3-5 มิลลิเมตร และ 5-10 มิลลิเมตร โดยหมักที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า *Pleurotus eryngii* ลดปริมาณลิกนินและ

เพิ่มการย่อยได้ในชานอ้อยทุกขนาดที่ศึกษา ขณะที่ *Pleurotus* sp. P1 ลดปริมาณลิกนินและเพิ่มการย่อยได้ในชานอ้อยที่มีขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร ถึง 3 มิลลิเมตร

Okano et. al (2007) ที่รายงานการใช้ *P. eryngii* ในการหมักร่วมกันกับสารตั้งต้นคือชานอ้อยผสมกับรำข้าวโดยผสมกันในอัตราส่วน 9:1 หมักเป็นเวลา 35 วัน ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียสโดยบ่มแบบกึ่งไร้อากาศ และจากนั้นย้ายไปยังห้องบ่มที่ 17 องศาเซลเซียสเพื่อทำการเปิดดอกเห็ดโดยทำการศึกษาตั้งแต่ 0-155 วันหลังการเพาะเชื้อเห็ดพบว่า เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสและลิกนินมีปริมาณลดลงและมีการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น และการหมัก 95 วัน ช่วยทำให้ชานอ้อยมีการย่อยได้ของ NDF ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้นมากที่สุด

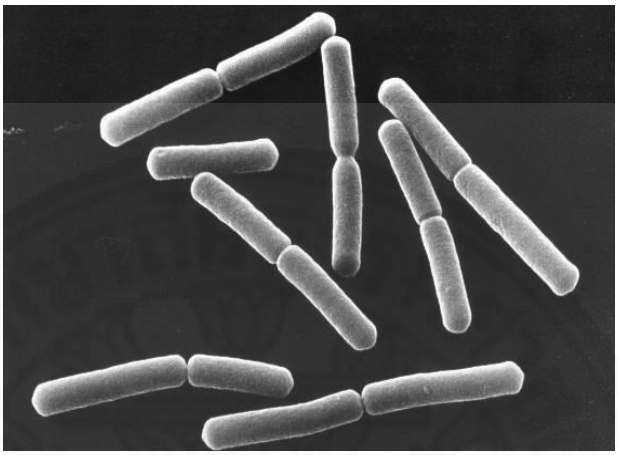
Locci et. al (2008) ศึกษาการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะและการย่อยได้รำข้าวสาลีโดยใช้วิธีการหมักด้วยเห็ดนางรมเป็นเวลา 62 วัน ที่อุณหภูมิห้องโดยมีปริมาณ ไนโตรเจน คาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน ก่อนทำการหมักอยู่ในระดับที่ 2.92, 41.32, 7.95 และ47.81 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และพบว่ามีการย่อยได้อินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น 17 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นโดยปริมาณไนโตรเจนเพิ่มจาก 2.92 เป็น 4.19 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณคาร์บอนลดลงจาก 41.32 เป็น 33.47 เปอร์เซ็นต์มีไฮโดรเจนลดลงจาก 7.95 เป็น 6.94 เปอร์เซ็นต์ และมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจาก 47.81 เป็น 55.40 เปอร์เซ็นต์

Shabtay et. al (2009) ศึกษาศักยภาพการใช้เห็ดนางรมในการย่อยสลายผนังเซลล์ในกากมะกอกโดยได้รับกากมะกอกมาจากแหล่งที่แตกต่างกัน ผสมฟางข้าวสาลี 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง หมักที่ความชื้น 65 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 14 และ 28 วัน และบ่มที่ 28 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อใช้เวลาการหมัก 28 วันเห็ดดังกล่าวช่วยลดปริมาณ NDF, ADF และลิกนินได้สูงสุดถึง 33.29, 25.49 และ40.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.4 *B. subtilis*

เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีรูปร่างเป็นแท่ง (ภาพที่ 2.3) ย้อมติดสีแกรมบวก คุณสมบัติสำหรับป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดและในขณะเดียวกันเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์สัตว์ และไม่มีพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม (ศูนย์บริหารศัตรูพืช นครราชสีมา, 2556) *B. Subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตเอนไซม์ เช่น อะไมเลส (amylase) โปรติเอส (protease) โดยมีคุณสมบัติสามารถสร้างแคปซูลและสปอร์ได้ และสามารถพบได้ทั่วไปในดินซึ่ง *B. subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลายของ ซากพืช ซากสัตว์ และอื่นๆ เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การ

เพาะเลี้ยงใน nutrient agar และ nutrient broth การเจริญของ *B. subtilis* เป็นแบบแท่งเดี่ยว (unicellular rod) แต่นานๆ ครั้งจะเป็นแบบห่วงโซ่ (chains) เจริญในอาหารที่ไม่เป็นกรด และใช้ออกซิเจนในการหายใจ (พิมพ์เพ็ญ, 2555)



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเชื้อ *B. subtilis*
ที่มา: Matsos (2014)

2.4.1 งานวิจัยการใช้แบคทีเรียในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าทางโภชนะ

สุทธิรักษ์ (2551) รายงานการใช้แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* หมักขนไก่ โดยใช้ขนไก่ (ตัดก้านออก) 1 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรเติม base medium 6.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อ สภาวะในการหมักมีความชื้นเริ่มต้น 88 เปอร์เซ็นต์ และความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 7.5 หมักโดยใช้จุลินทรีย์ 1 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 x 10^8 CFU/ml) พบว่าขนไก่มีค่าการย่อยได้ด้วยเอนไซม์เปปซินมากถึง 71 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ขนไก่ที่ไม่ผ่านการหมักมีค่าการย่อยได้เพียง 18 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าขนไก่ที่ถูกย่อยด้วยแบคทีเรียมีคุณค่าทางอาหารมากเพียงพอสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ทดแทนขนไก่ป่นได้ซึ่งสอดคล้องกับ ชัยชนะ และคณะ (2553) ทดลองใช้ *B. licheniformis* ที่คัดแยกได้จากกระเพาะรูเมนเพื่อเพิ่มการย่อยได้ของ อาหารสูตรรวม (TMR) 2 สูตรโดยสูตรที่ 1 ใช้ฟางข้าวและสูตรที่ 2 ใช้หญ้ารูซี่แห้งในห้องปฏิบัติการ พบว่าแบคทีเรีย *B. licheniformis* มีศักยภาพในการเพิ่มการย่อยได้วัตถุแห้ง การย่อยได้เยื่อใย NDF และการย่อยได้เยื่อใย ADF เพิ่มสูงขึ้นในอาหาร TMR ที่มีฟางเป็นแหล่งอาหารหยาบหลัก และเพิ่มการย่อยได้วัตถุแห้งและเยื่อใย ADF ในอาหาร TMR ที่มีหญ้ารูซี่เป็นแหล่งอาหารหยาบหลัก

วรัมพร และคณะ (2553) การศึกษาการเพิ่มปริมาณสารอาหารของถั่วเหลืองและงาดำโดยใช้กระบวนการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ที่อุณหภูมิการหมัก 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการหมัก 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ72 ชั่วโมง พบว่า ถั่วเหลืองหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณสูงสุดเท่ากับร้อยละ 43.49 ที่ระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง และงาดำหมักมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ระยะเวลาการหมักที่ 36 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 19.51 ถั่วเหลืองหมักและงาดำหมักที่ระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 16.19 และร้อยละ 31.56 ตามลาดับ นอกจากนี้ยังพบว่างาดำและถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง และงาดำยังมีปริมาณเยื่อใยสูงขึ้นเมื่อหมักที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง แต่ถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักมีปริมาณเยื่อใยลดลง

มนัสนันท์ และคณะ (2556) ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากกากกะทิร่วมกับเชื้อยีสต์ (*S. cerevisiae*) และ *B. subtilis* ในอัตรส่วน 50:50 เพื่อพัฒนาเป็นอาหารสัตว์ โดยนำกากกะทิมาผสมคลุกเคล้ากับน้ำกลั่น น้ำตาล และรำละเอียด ในสัดส่วน 80:15:2.5:2.5 ตามลำดับ แล้วบรรจุลงในโหลขนาด 5 ลิตรให้เต็มแล้วนำแผ่นกระดาษอะลูมิเนียมมาปิดทับบริเวณปากโหล และปิดฝาให้สนิท หมักไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดกระบวนการหมักตามช่วงระยะเวลาต่างๆกัน คือ 0, 15, 30 และ 45 วัน พบว่ากากกะทิที่หมักด้วยร่วมกับยีสต์ร่วมกับบาซิลัสซัปติลิส พบว่าเมื่อใช้เวลาในการหมักเพิ่มขึ้น 0 15 30 และ 45 วัน ทั้งค่าโปรตีนหยาบ (2.61, 9.44, 11.93 และ 14.77 เปอร์เซ็นต์) และไขมันรวม (23.08, 31.47, 31.07 และ 33.32 เปอร์เซ็นต์) เพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับค่าเยื่อใยหยาบซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นแบบเส้นตรง คือ 24.63 27.55 28.78 และ 30.61 เปอร์ณซ็นต์ ตามลำดับ ($P<0.01$) และนอกจากนี้ มนัสนันท์ และคณะ (2557) ยังศึกษาการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากปาล์มโดยวิธีการหมักร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* และ *B. subtilis* โดยใช้วิธีดังกล่าวคือนำมาผสมคลุกเคล้ากับน้ำกลั่น น้ำตาล และรำละเอียด ในสัดส่วน 80:15:2.5:2.5 ตามลำดับ ปริมาณรวม 5 กิโลกรัม บรรจุให้เต็มขวดโหลแล้วนำแผ่นกระดาษอะลูมิเนียมมาปิดทับบริเวณปากโหล และปิดฝาให้สนิท โดยหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 วัน สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีน จาก 8.47 เป็น 11.74 เปอร์เซ็นต์อีกด้วย

Kiers et. al (2000) พบว่า การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. licheniformis* หมักถั่วเหลืองโดยการนำถั่วเหลืองมาแช่น้ำที่ 4 องศาเซลเซียสเพื่อป้องกันการหมักก่อน หลังจากนั้นเปลี่ยนน้ำแล้วต้มนาน 20 นาทีโดยใช้อัตราส่วน ถั่ว 1 ต่อน้ำ 3 ส่วน แล้วทิ้งไว้ให้เย็นและแห้งในอุณหภูมิห้องหลังจากนั้นนำถั่วเหลืองที่ได้ 100 กรัมใส่เชื้อ 5 มิลลิลิตร ทำการหมักที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ช่วยย่อยสลายโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต เกิดเปปไทด์และ

คาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆ (oligosaccharides) ในระดับสูง และพบว่าถั่วเหลืองหมักด้วย *B. subtilis* มีการย่อยได้เพิ่มขึ้นจาก 29 เป็น 43 เปอร์เซ็นต์

Oboh (2006) ที่ปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของเปลือกมันสำปะหลังโดยการหมักซึ่งจะใช้เปลือกมันสำปะหลังที่ล้างสะอาดแล้วนำมาหมักร่วมกับ *Lactobacillus delbruckii, Lactobacillus coryneformis* และ *S. cerevisae* โดยผสมเชื้อสด 10 กรัม (อัตราส่วน 2:1:1) และเปลือกมันสำปะหลัง 1 กิโลกรัมทำการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน พบว่าค่าโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้น จาก 8.20 เปอร์เซ็นต์ เป็น 21.50 เปอร์เซ็นต์

Shoda and Mizumoto (2011) รายงานกากนมถั่วเหลืองหมักด้วย *B. subtillis* โดยใช้กากนมถั่วเหลือง 15 กรัม ปรับความชื้นเป็น 79 เปอรเซ็นต์ โดยเติมกลูโคส 833 ไมโครลิตร (ที่ได้จากการละลายกลูโคส 0.45 กรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร) แล้วเติม 1 M KH_2PO_4 75 ไมโครลิตร และ 1 M $MgSO_47H_2O$ 150 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 367 ไมโครลิตร จากนั้นใส่เชื้อ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่าช่วยลดเฮมิเซลลูโลสจาก 52 เหลือ 15 เปอร์เซ็นต์

Kung et. al (2003) ศึกษาทดลองในโคนมโดยนำถั่วอัลฟัลฟาหมักซึ่งเสริมด้วย *L. buchneri* มาหมักร่วมกับเอนไซม์ β-glucanase, α-amylase, xylanase, และ galactomannase หลังจากผ่านไป 56 วัน นำมาผสมเป็นอาหารโคนมซึ่งประกอบด้วย ถั่วอัลฟัลฟาหมักที่ได้รับเสริมเชื้อและที่ไม่ได้รับการเสริมเชื้อ 32 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพดหมัก 11 เปอร์เซ็นต์ ถั่วอัลฟัลฟาแห้ง 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารข้น 52 เปอร์เซ็นต์ นำไปเลี้ยงโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ พบว่ากลุ่มที่กินถั่วหมักที่มีการเสริม *L. buchneri* มีการกินได้ของวัตถุแห้งมากกว่า และให้ผลผลิตน้ำนมสูงกว่าเกือบ 1 กิโลกรัมต่อวัน

Meeske et. al (2000) พบว่าโคนมพันธุ์เจอร์ซี่ที่เลี้ยงด้วยข้าวโอ๊ตหมักที่มีการเติม *L. plantarum* 10^{10} CFU ต่อกรัม *Steptococcus faecium* 10^{10} CFU ต่อกรัม และ *Pediococcus acidilactici* 10^{10} CFU ต่อกรัม ร่วมกับเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และ อะไมเลสโดยใช้ 10 กรัมต่อวัสดุหมักสด 1 ตัน หลังจากนั้นทำการอัดก้อนเก็บไว้ 9 เดือน แล้วนำไปให้โคกินเพื่อศึกษาการให้ผลผลิตพบว่าโคให้ผลผลิตน้ำนมดีกว่าการกินข้าวโอ๊ตที่ไม่มีการเสริมเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมัก

He et. al (2012) ศึกษาการใช้ *B. Subtilis* หมักกากเรปซีด เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ได้เปปไทด์ขนาดขนาด 180-5000 Da เมื่อหมักเป็นเวลา 5 วัน พบว่า เปปไทด์ขนาด 3000 Da ลดลง กรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ กลูตามิก 19.5 เปอร์เซ็นต์ ไลซีน 7.6 เปอร์เซ็นต์ โปรลีน

7.3 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเปปไทด์เหล่านี้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารหรือยา

2.5 เชื้อรา *Rhizopus oryzae*

ภาพที่ 2.4 เชื้อรา *R. oryzae* (กำลังขยาย 40 เท่า)
ที่มา: สุวิชา (2548)

เชื้อรา *R. oryzae* (ภาพที่ 2.4) สวนใหญ่แยกได้จากอาหารของชาวตะวันออกและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ลูกแป้งข้าวหมาก ราจิเทมเป แป้งเชื้อสุรา เปนตน และอาหารหมักพื้นเมืองของชาวอินโดนิเซีย ชาวจีน และชาวญี่ปุ่น (นภา, 2534)

R. oryzae เป็นเชื้อราที่พบกระจายอย่างทั่วไปในพื้นที่เขตร้อน หรือร้อนชื้น สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส *R. oryzae* สามารถแยกได้จากหลายแห่ง เช่น ในดิน อากาศ อาหาร ซากพืช ซากสัตว์ และมูลสัตว์ ลักษณะทั่วไปของ *R. oryzae* มีการเจริญสร้างเส้นใยปุยฟูสีขาว เกาะกันอย่างหลวมๆแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ เมื่อมีการสร้างสปอร์แรงจิโอฟอร์ (sporangiophore) เป็นก้านชูสปอร์ของเชื้อรา เกิดขึ้นตรงส่วนที่จะสร้างไรซอยด์ (rhizoid) มีขนาดกว้างประมาณ 18 ไมโครเมตร และสูงมากกว่า 1500 ไมโครเมตร เส้นใยของเชื้อราไม่มีผนังกั้น แต่จะสร้างผนังกั้นเฉพาะส่วนที่จะกลายเป็นสปอร์แรงเจียม (sporangium) จะสร้างขึ้นเป็นอันเดี่ยว รูปร่างกลมหรือเกือบกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 175

ไมโครเมตร ภายในสปอร์แรงเจียมจะมีการสร้างสปอร์ชนิดสปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospores) สปอร์แรงจิโอสปอร์ที่สร้างขึ้นมา มีลักษณะกลม หรือกลมรี ผิวไม่เรียบเป็นสัน *R. oryzae* มีการนำไปใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ในการทำอาหารหมักและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การเจริญบนอาหาร PDA เส้นใยเปนปุยสีขาวเกาะตัวกันอยางหลวมๆ แลวเปลี่ยนเป็นสีเทาน้ำตาลหรือสีเทาดำ เมื่อมีการ สรางสปอรเชื้อรา Rhizopus ต่างจาก mucor เนื่องจาก Rhizopus มี stolon และ rhizoids และตางจาก sctinomucor ตรงสีของ sporangia ที่ดำและไม แตกกิ่งออกจาก sporangiophore และ เชื้อรา Rhizopus ตางจากเชื้อรา amylomyces ในเรื่องความสามารถของการใช้แหลงคาร์บอนที่ต่างกัน คือในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลมอลโตสเปนแหลงคารบอนเชื้อรา amylomyces สามารถเจริญไดดีกวาเชื้อรา Rhizopus แตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลีเซอรอลเปน แหลงคารบอนเชื้อรา Rhizopus สามารถเจริญไดดีกวา แตทั้งนี้ก็ตองใชขอมูลทางดานสัณฐานวิทยาเขาร่วมด้วยในการจำแนกเชื้อราทั้งสองสายพันธุ ซึ่งอาจจะแสดงใหเห็นขอแตกตางกันที่นอยมาก (Ellis et. al, 1976)

2.5.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ *R. oryzae* ในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าทางโภชนะ

สุพัตรา (2540) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อ *R. oryzae* TISTR 3211F โดยใช้เชื้อตั้งต้นที่ความเข้มข้นสปอร์ 10^7 ต่อมิลลิลิตร ประมาณ 1 มิลลิลิตร กับเชื้อ *P. shermanii* ATCC 13673 ที่มีค่าความขุ่นเท่ากับ 8 ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร บนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม acid hydrolysate of casein 0.125 กรัมไนโตรเจน $CaCO_3$ 1 กรัม DMI 10 กรัม และ $CoSO_4.7H_2O$ 0.24 มิลลิกรัม ซึ่งปรับความชื้นด้วยน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้อผสมเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ข้าวโพดหมักมีปริมาณวิตามิน บี12 สูงถึง 64.48 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แต่ถ้าใช้เชื้อ *R. oryzae* TISTR 3211 หรือเชื้อ *P. shermanii* ATCC 13673 เพียงอย่างเดียวจะได้วิตามินบี 12 ต่ำ ประมาณ 2.39 และ 6.55 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งเท่านั้น และเมื่อวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะ พบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมันและเยื่อใยเพิ่มขึ้น จาก 9.03 3.84 และ 1.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็น 19.6 6.37 5.12 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ และปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 0.11 และ0.23 เปอร์เซ็นต์ เป็น 5.98 และ0.43 เปอร์เซ็นต์

จรัญ และคณะ (2547) ศึกษาการหมักกากมันสำปะหลัง จากโรงงานแป้งมันผสมกับรำข้าว อัตราส่วน 70:30 โดยใช้ *R. oligosporus* พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการหมักในถังหมักแพคเบดเพื่อเพิ่มโปรตีน โดยหมักเป็นเวลา 96 ชั่วโมง คือ อัตราในการให้อากาศในถังหมัก คือ

0.1 เมตรต่อวินาที และพบว่าปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีนมีค่าสูงสุดที่เบดบนและเบดล่าง เท่ากับ 13.4 และ 14.6 เปอร์เซ็นต์

ทรงศักดิ์ และคณะ (2555) ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโปรตีนสูงโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพในสูตรอาหารของนกกระทาเนื้อ โดยใช้อาหารทดลอง 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ทำการหมักมันสำปะหลัง 1,000 กรัม ด้วยรา *R. oryzae* ที่มีเชื้อ $1x10^8$ CFU/มิลลิลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร และสารละลายโภชนะ 730 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 2 ทำการหมักมันสำปะหลัง 1,000 กรัมด้วยแบคทีเรีย *L. acidophilus* ที่มีเชื้อ $1x10^8$ CFU/มิลลิลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร และสารละลายโภชนะ 730 มิลลิลิตร และกลุ่มที่ 3 ทำการหมักมันสำปะหลัง 1,000 กรัมด้วยยีสต์ S. *cerevisiae* โดยใส่หัวเชื้อ 5 กรัม และสารละลายโภชนะ 730 ml ซึ่งสารละลายโภชนะประกอบด้วย กากน้ำตาล 24 กรัม ยูเรีย 20 กรัม $MgSO_42H_2O$ 7 กรัม KH_2PO_4 13 กรัม และกรดซิติก 20 กรัม ทั้งสามกลุ่มใช้สภาวะหมักที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน หลังจากครบกำหนดระยะเวลาแล้วนำเอาผลผลิตที่ได้มาทำให้แห้งด้วยการตากที่อุณหภูมิห้องพบว่าการหมักมันสำปะหลังด้วย *R. oryzae, L. acidophilus* และ *S. cerevisiae* สามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนะให้กับมันสำปะหลังโดยเฉพาะโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.3, 5.5 และ 7.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำมันสำปะหลังโปรตีนสูงที่ผลิตได้ไปเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารนกกระทาในระดับ 5 เปอร์เซ็นต์พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ และพบว่าในกลุ่มที่ใช้ *L. acidophilus* มีอัตราการแลกเนื้อเฉลี่ยดีที่สุด ซึ่งสามารถแนะนำได้ว่ามันสำปะหลังโปรตีนสูงที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพจากจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารนกกระทาได้โดยไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการให้ผลผลิต

สุภัตรา (2556) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อเป็นอาหารไก่ไข่ เนื่องจากกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และเยื่อใยสูง เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อราดังกล่าว โดยนำกากมันสำปะหลังสด 100 กิโลกรัม ที่ได้จากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมานึ่งด้วยเครื่องหมักกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นในถังหมักจากนั้นผสมน้ำกลั่นอัตราส่วนของกากมันสำปะหลังสด 1 กิโลกรัม เติมน้ำ กลั่น 100 มิลลิลิตรและยูเรีย 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมหัวเชื้อรา *A. oryzae* 1 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 4.9×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร คลุกเคล้าในเข้ากันแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน พบว่าจะช่วยให้ได้กากมันสำปะหลังหมักที่มีคุณค่าทางโภชนะดีขึ้น คือมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น และปริมาณเยื่อใยลดลง ทำการทดลองโดยใช้อาหารที่มีส่วนผสมของกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 8, 16, 24, 32 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเสริมกากมันสำปะหลังหมักลงในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ถึง 32 เปอร์เซ็นต์โดยไม่ส่งผลกระทบต่อระบบการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ แต่ส่งผลกระทบต่อสีของไข่แดงซึ่งซีดกว่าปกติ ทั้งนี้เนื่องจากในกากมัน

สำปะหลังไม่มีสารสีเหมือนในข้าวโพด แต่ไม่พบการลดลงของผลผลิตและคุณภาพไข่ในการเสริมกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสามารถเสริมกากมันสำปะหลังหมักลงในอาหารไก่ไข่ได้ 24 เปอร์เซ็นต์โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิตและคุณภาพไข่

Brook et. al (1969) ได้ทำการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบ solid state และ liquid fermentation โดยเชื้อรา Rhizopus sp. การเพาะเลี้ยงแบบ solid state ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่ และ แหล่งไนโตรเจน คือ $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.25 กรัม $FeSO_4$ $7H_2O$ 0.10 มิลลิกรัม $ZnSO_4$ $7H_2O$ 0.10 มิลลิกรัม $MnSO_4$ $4H_2O$ 0.10 มิลลิกรัม thiamine hydrochloride 12.5 มิลลิกรัม KH_2P0_4 1.0 กรัม ยูเรีย 5.0 กรัม แป้งมันสำปะหลัง 500.0 กรัม ปรับความชื้น 43-45 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส pH 4.5-6.7 ภายหลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน พบว่า มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 18.0 – 23.2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธีการเพาะเลี้ยงแบบ liquid fermentation ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ NH_4NO_3 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ KH_2PO_4 0.25 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่าเชื้อรา Rhizopus sp. มีโปรตีนอยู่ในช่วง 16.3 - 23.2 เปอร์เซ็นต์

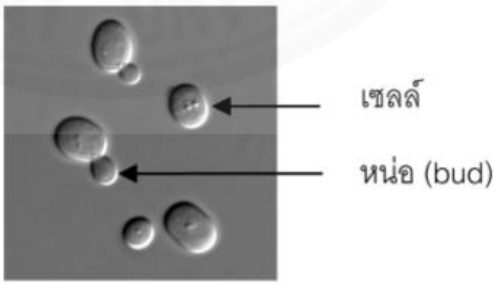
Akindahunsi et. al (1999) ที่ทำการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของมันสำปะหลังด้วยการหมักด้วย *R. oryzae* โดยใช้มันสำปะหลังบด 1 กิโลกรัมแล้วเติมเชื้อที่เตรียมไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเติมสารละลายธาตุอาหาร 730 มิลลิลิตร ประกอบด้วย ยูเรีย 80 กรัม $MgSO_4$ $2H_2O$ 7 กรัม KH_2PO_4 13 กรัม กรดซิตริก 20 กรัม หมักเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ค่าโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้นจาก 2 เป็น 10 เปอร์เซ็นต์

Thongkratok et. al (2010) ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังจากการผลิตแป้งมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ต่างกัน 3 ชนิด คือ *A. oryzae, S. cerevisiae* และ *C. utilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อ 1 มิลลิลิตรโดยใช้กากมันสำปะหลัง 50 กรัมใส่ในขวดรูปชมพู่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับ 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาหมัก 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดสามารถเพิ่มน้ำตาลรีดิวท์ โปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้ โดยเชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75 เปอร์เซ็นต์ หลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจน จาก 2.59 เปอร์เซ็นต์ และ 0.89 เปอร์เซ็นต์ เป็น 17.40 เปอร์เซ็นต์ และ 15.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มปริมาณโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก (Belewu and Babalola, 2009)

Kayode et. al (2010) ศึกษาการหมักเมล็ดมะม่วงด้วยเชื้อราชนิดต่างๆ ได้แก่ *R. oligosporus, A. niger, R. stolonifer* และ *Penicillium chrysogenum* โดยหมักที่อุณหภูมิห้อง (27+5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่า การหมักด้วยเชื้อราดังกล่าวทำให้เมล็ดมะม่วงมีโปรตีนเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับที่ไม่มีการหมัก และพบว่า การใช้เชื้อราร่วมกันระหว่าง *R. stolonifer* และ *P. chrysogenum* ทำให้เมล็ดมะม่วงหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้น 21.93 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้เชื้อราร่วมกันระหว่าง *R. oligosporus* และ *R. stolonifer* ทำให้เมล็ดมะม่วงหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้น 23.96 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดมะม่วงหมักด้วยเชื้อรามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม และน้ำตาลกลูโคสมากกว่าเมล็ดมะม่วงที่ไม่มีการหมัก ($P<0.05$) และพบว่าสามารถนำเมล็ดมะม่วงหมักด้วยเชื้อราดังกล่าวข้างต้นมาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์สำหรับไก่เนื้อเพื่อทดแทนข้าวโพดได้

Schmidt and Furlong (2012) ศึกษาการใช้เชื้อรา *R. oryzae* (CCT 1217) ในการหมักรำข้าวที่มีขนาด 0.18 - 0.39 มิลลิเมตร โดยใช้สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต เข้มข้น 0.2 - 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปรับความชื้นให้ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชม. พบว่าขนาดของรำข้าวมีผลต่อปริมาณเชื้อรา โดยรำข้าวขนาด 0.18 มิลลิเมตรที่เติมด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำให้รำข้าวมีโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเพิ่มขึ้นจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการหมักด้วยเชื้อราดังกล่าวถึง 53 เปอร์เซ็นต์นอกจากนี้ยังพบว่าช่วยลดสารฟีนอลิกลงถึง 65 เปอร์เซ็นต์

2.6 ยีสต์ *S. cerevisiae*



ภาพที่ 2.5 ยีสต์ *S. cerevisiae* กำลัง ขยาย 100 เทา

ที่มา : พงษ์เทพ และคณะ (2553)

ยีสต์ *S. cerevisiae* (ภาพที่ 2.5) เปนยีสตที่พบไดในธรรมชาติโดยเปนจุลินทรียพวกยูคาริโอต เซลลสวนใหญมีรูปรางกลม หรือรี สืบพันธุแบบไมอาศัยเพศโดยการแตกหนอ *S. cerevisiae* เปนจุลินทรียหลักที่ใชในการผลิต เอทานอลในระดับอุตสาหกรรมทั้งภายใน และตางประเทศ (Andrietta et. al, 2007) ยีสต์ และผลิตภัณยีสต์มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในโภชนาการสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Sakine et. al, 2011) เพื่อปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมในกระเพราะรูเมนให้ดีขึ้น และส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Hristov et. al, 2009) ดังนั้นยีสต์ *S. cerevisiae* จึงเป็นที่นิยมในการใช้เป็นอาหารเสริมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ปราโมทย์ (2553) รายงานว่ายีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็น หล่งอาหารโปรตีนคุณภาพสูง เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน นอกจากนั้เซลล์ของยีสต์ยังประกอบไปด้วยเกลือแร่หลายชนิดรวมทั้งวิตามิน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสัตว์ ยิ่งกว่านั้นยังมีกลิ่นรสดีช่วยเพิ่มความน่ากินของอาหาร จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ช่วยปรับปรุงสมรรถนะการให้ผลผลิตโดยทำให้มีการกินได้วัตถุแห้งเพิ่มมากขึ้น และการให้ผลผลิตน้ำนมมากขึ้น (Stella et. al, 2007)

2.6.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ *S. cerevisiae* ในการหมักวัสดุต่างๆเพื่อเพิ่มค่าทางโภชนะ

Oboh and Akindahunsi (2003) ทดลองปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของแป้งมันสำปะหลังด้วยการหมักร่วมกับสายพันธุ์บิสุทธิ์ของ *S. cerevisiae* โดยใช้มันสำปะหลังบด 1 กิโลกรัมแล้วเติมเชื้อที่เตรียมไว้ และเติมสารละลายธาตุอาหาร 730 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย ยูเรีย 80 กรัม $MgSO_4$ $2H_2O$, 7 กรัม KH_2PO_4 13 กรัม กรดซิตริก 20 กรัม หมักเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า สารมาถเพิ่มปริมาณโปตีนจาก 4.40 เปอร์เซ็นต์ เป็น 10.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับ ธนิตพันธ์ และคณะ 2554 ศึกษาการใช้หัวมันเส้นและพืชอาหารสัตว์หมักเชื้อ *S. cerevisiae* โดยนำมันเส้น หญ้ารูซี่ มาคลุกให้เข้ากันและเติมเชื้อ *S. cerevisiae* หมักทิ้งไว้ 21 วัน ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 7.0 เป็น 11.2 เปอร์เซ็นต์

สินีนาฏ และเมธา (2558) ศึกษาศักยภาพในการใช้ยีสต์ (*S. cerevisiae*) เป็นแหล่งโปรไบโอติกส์ในสัตว์เคี้ยวเอื้องพบว่า ยีสต์นอกจากจะเป็นแหล่งของจุลินทรีย์โปรตีนให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้องแล้วยีสต์มีชีวิต เมื่อเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องแล้วยังเป็นสารเสริมชีวนะ สามารถปรับปรุงกระบวนการหมักในกระเพาะ รูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยมีกลไกคือ สามารถใช้ออกซิเจนในกระเพาะรูเมนในการเผาผลาญ น้ำตาล และ oligosaccharide สายสั้นๆ จากอาหารหรือเป็นผลผลิตที่ได้จากกิจกรรมของ amylolytic bacteria และยีสต์ยัง เป็นแหล่งวิตามิน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน จากกลไกลดังกล่าว ส่งผลให้ภายในกระเพาะ รูเมนมีสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ รวมถึงจุลินทรีย์และยังได้รับ

สารอาหารจากยีสต์ ส่งผลต่อการเพิ่ม การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการย่อยได้ของโภชนะภายในกระเพาะรูเมน ทำให้การกินได้เพิ่มสูงขึ้น สัตว์ได้รับโภชนะเพิ่มสูงขึ้นสนับสนุนให้สัตว์เพิ่มสมรรถภาพการให้ผลผลิต

นฤมล และคณะ (2557) ศึกษาการเพิ่มระดับโปรตีนของกากมะพร้าวสดและแห้ง โดยกระบวนการหมักยีสต์ และยูเรีย โดยกากมะพร้าวที่ใช้ในการศึกษาเป็นกากมะพร้าวที่ได้มาจากการคั้นกะทิในรูปกากมะพร้าวสด กากมะพร้าวสดที่ไม่ผ่านการตากแห้งจะนำมาหมักกับยีสต์ได้เลย หมักโดยชั่งยีสต์ขนมปังผง สำเร็จรูป (baker yeast) ที่ประกอบด้วย *S. cerevisae* 0.5 กิโลกรัม น้ำตาลทรายแดง 1 กิโลกรัม น้ำ 10 ลิตร ยูเรีย 4 กิโลกรัม และกากน้ำตาล 5 ลิตร ผสมเข้าด้วยกันให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการคนด้วยไม้พายรวมกับการใช้ปั๊มออกซิเจนเป่าลมทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากการวิจัยพบว่าระดับโปรตีนที่ได้จากการหมัก กากมะพร้าวสดที่เวลา 10 วัน มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 19.10 เป็น 34.40 เปอร์เซ็นต์

2.7 หญ้าขน

ภาพที่ 2.6 หญ้าขน (*Brachiaria mutica*)
ที่มา สายัณห์ (2540)

หญ้าขน หรือหญ้ามอริชัส มีชื่อสามัญว่า para grass หรือ mauritius หญ้าขนนอกจากจะแพร่หลายในประเทศไทยแล้วยังแพร่กระจายในประเทสเขตร้อนของโลกรวมทั้งอเมริกากลาง อเมริกาใต้ บราซิล ออสเตรเลีย ฟิจิ ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย เปอร์โตริโก คิวบา แอฟริกาตะวันออก และซิมบับเวย์ (สายัณห์, 2548)

หญ้าขนสามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในที่ลุ่มภาคกลางที่ไม่เป็นแหล่งดินเปรี้ยวจัด ปลูกขยายพันธุ์ได้โดยเถา ไม่ทนต่อการแทะเล็ม ส่วนใหญ่เกษตรกรจะเก็บเกี่ยวไปเลี้ยงโคนม โดยเฉพาะกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมหนองโพได้ใช้หญ้าขนเป็นอาหารสำคัญของโคนม (นิวัต, 2543)

สายัณห์ (2548) ได้อธิบายถึงลักษณะของหญ้าขนว่าเป็นหญ้าที่มีอายุหลายปีลำต้นหยาบ ลำต้นส่วนที่ตั้งตรง และส่วนที่เป็นเถาเลื้อยทอดเอนไปตามผิวดิน จัดเป็นพวก stoloniferous ส่วนของ ลำต้นที่ทอดนอนไปตามผิวดินอาจยาว 270–400 เซนติเมตร ข้อที่สัมผัสผิวดินจะมีรากเจริญเติบโตหยั่งลึกลงไปในดินแต่ไม่ลึกมากนัก และมีหน่อเจริญเติบโตขึ้นมา ลำต้นที่ตั้งตรงขึ้นไปสูง 60-90 เซนติเมตร ใบกว้าง 8-20 มิลลิเมตร ใบ และกาบจะมีขนสีขาวปกคลุมจำนวนมากเข้าใจว่าหญ้าขนในไทยอาจมีหลายสายพันธุ์ เพราะในบางครั้งพบว่าใบจะไม่มีขนแต่จะมีขนเฉพาะกาบใบ ลิ้นใบเป็นแบบขนอ่อนสีขาว หญ้าขนมีระบบรากฝอยตื้น ช่อดอกแบบ panicle แขนงของช่อดอกเป็นแบบ raceme ที่อยู่เดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ หรืออยู่รวมกันหลายอันเมื่อแก่จะมีสีเหลือง หญ้าขนมีการออกดอกแต่ติดเมล็ดน้อยใน ลำต้นของหญ้าขนประกอบด้วยส่วนสำคัญสองส่วน คือ ส่วนที่อยู่เหนือดิน คือ ต้น และใบ (shoot หรือ tiller) และส่วนที่อยู่ใต้ดิน คือ ราก ต้น และใบ ประกอบด้วย ลำต้น (culm หรือ haulm) ลำต้นของหญ้าอาจกลม หรือแบบมีข้อ (node) และปล้อง (internode) ที่แยกออกจากกันอย่างเห็นได้ชัด ข้อจะมีลักษณะแข็งแรงไม่กลวง ส่วนลำต้นอาจกลวงหรือไม่กลวงก็ได้ ใบของหญ้าจะเรียงตัวอยู่บนลำต้น เรียงตัวเป็น 2 แถวอยู่ตรงข้ามในตำแหน่งสลับกัน เช่น ใบที่ 3 จะอยู่เหนือใบที่ 1 และใบที่ 4 จะอยู่เหนือใบที่ 2 ใบของหญ้าแบ่งออกได้เป็น สองส่วน คือ กาบใบ (leaf sheath) และตัวใบ (leaf blade) กาบใบจะหุ้มห่ออยู่รอบลำต้นนับตั้งแต่ข้อขึ้นไป และโดยทั่วไปตอนปลายของกาบใบจะแยกออกจากกัน กาบใบนี้ทำหน้าที่ป้องกัน และค้ำจุนปล้องส่วนที่ติดอยู่กับข้อ ซึ่งยังอ่อนอยู่ เพราะยังเป็นส่วนที่มีการเจริญ และยืดตัว ส่วนตัวใบมีลักษณะแผ่แบนแต่บางครั้งอาจม้วน ตัวใบทำหน้าที่ปรุงอาหาร หรือสังเคราะห์แสง บริเวณส่วนต่อกันระหว่างข้อปล้องจะมีตาเจริญ ตานี้จะพัฒนาไปเป็นหน่อแขนงได้ หญ้าอาหารสัตว์บางชนิดอาจมีหูใบ (auricle) มีลักษณะเป็นระยางยื่นออกมากจากด้านข้างทั้งสองข้างตรงส่วนต่อระหว่างกาบใบกับตัวใบ และที่ตรงตำแหน่งใกล้ๆกันนี้จะมีอีกโครงสร้างหนึ่งที่มีลักษณะเป็นเยื่อบางๆ เรียกว่า เยื่อกั้นน้ำ (ligule) ระบบรากเป็นแบบรากฝอย (fibrous root) รากแรกที่ปรากฏให้เห็นเมื่อเมล็ดเริ่มงอก เรียกว่า primary root จำนวนของหญ้านี้ขึ้นอยู่กับชนิดของหญ้า และหญ้าบางชนิดอาจจะมีอยู่เพียงรากเดียว อย่างไรก็ตามรากนี้เกิดขึ้นเพียงระยะสั้นๆ เพราะจะถูกแทนที่ด้วย secondary root และ adventitious root ซึ่งมีจำนวนมาก และอยู่ถาวร รากถาวรนี้จะเกิดจากรากที่อยู่ต่ำสุดก่อน และข้อตามลำต้น แขนง หรือไหลก็จะมีรากชนิดนี้เกิดขึ้นได้เช่นกัน รากถาวรมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาการเจริญเติบโต และยึดเหนี่ยวดินป้องกันการพังทลาย และการชะล้างของหน้าดิน รากของหญ้าบางส่วนสามารถเจริญหยั่ง

ลึกลงไปถึง 1-2 เมตรได้ ดอกของหญ้ามักจะอยู่บนแกน (axis) หรือ ก้านดอก (peduncle) เดียวกันรวมกันเป็นช่อดอก (infloresence) บนช่อดอกจะประกอบด้วยกลุ่มของดอกเรียกว่า spikelet ดังนั้นในแต่ละช่อดอกจะมีอยู่หลาย spikelet และแต่ละ spikelet อาจมีดอกย่อย (floret) เพียงดอกเดียวหรือหลายดอกก็ได้ ก้านของ spikelet เรียกว่า pedical ซึ่งจะเชื่อมติดกับ ray และ ray จะเชื่อมติดกับ pedical ส่วนแกนที่ดอกย่อยติดอยู่เรียกว่า rachilla ที่ฐานของ spikelet จะมีใบประดับ (glumes) อยู่ 2 ใบ คือ lower glume และupper glume ในแต่ละดอกย่อยจะมีกลีบดอก 2 ดอกเรียกว่า pelea และที่ lemma นี้จะมีโครงสร้างหนึ่งยืดยาวออกไปเป็นเส้นเห็นเด่นชัด เรียกว่า AWN สั้นมาก ส่วน pelea จะมีรูปร่าง และความหยาบละอัยดแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ จากอ่อนนุ่มจนถึงหนาแข็ง

2.8 พืชอาหารหมัก (silage)

พืชอาหารหมัก เตรียมโดยอาศัยกระบวนการหมัก (fermentation) ของพืชอาหารสัตว์ที่มีความชื้นสูง กระบวนการทำอาหารหมักเรียกว่า ensilage โดยใช้ไซโล (silo) ซึ่งมีหลายแบบและสามารถดัดแปลงนำมาใช้ได้ กระบวนการหมักเกิดขึ้นเนื่องจากการควบคุมให้มีการทำงานของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติค ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้จะมีติดอยู่กับพืชสด หรือเกิดขึ้นโดยการจำกัดกระบวนการหมักโดยการตากเพื่อลดความชื้น (pre-silage) ของพืช หรือจำกัดโดยการใช้สารเสริม (additive) ซึ่งกระบวนการหมักนี้จะต้องอยู่ในสภาพปราศจากออกซิเจน (anaerobic) พืชเกือบทุกชนิดจะสามารถนำมาหมักได้ ที่นิยมนำมาใช้ที่สุด คือ หญ้า ถั่วต่างๆ พวกธัญพืช และเศษเหลือของผลไม้ เป็นต้น ในขณะที่ทำหญ้าหมักนั้นเซลล์ของพืชที่ตายลงจะกลายเป็นอาหารที่เหมาะของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจน การหมักและความร้อนค่อยๆลดลงภายใน 2-3 สัปดาห์ ผลของการหมักจะทำให้เกิดกรดอินทรีย์ขึ้นหลายชนิด รวมทั้งแอลกอฮอล์และแก๊สต่างๆอีกประมาณ 4-5 ชนิด สำหรับส่วนประกอบของหญ้าหมักที่ดีนั้นควรจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 4.2 มีกรดแลคติค 1.5-2.5 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติค 0.5-0.8 เปอร์เซ็นต์ กรดบิวทรีลิค 0.1 เปอร์เซ็นต์ หรือน้อยกว่านั้น ถ้าหากหญ้าหมักมีกรดบิวทรีลิคเกิน 0.3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้หญ้าหมักมีกลิ่นเหม็นสัตว์ไม่ชอบกิน สำหรับไนโตรเจนจากแอมโมเนีย (NH_3 –N) ควรอยู่ระหว่าง 5-8 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมด มิฉะนั้นจะทำให้หญ้าหมักมีคุณภาพลดลง (สายัณห์, 2542)

2.8.1 จุลชีววิทยาของพืชอาหารหมัก (silage microbiology)

แบคทีเรียและเชื้อราพวกใช้ออกซิเจนมีติดอยู่ตามอาหารสดเป็นส่วนใหญ่ แต่ในสภาพปราศจากออกซิเจนในไซโลจุลินทรีย์พวกอื่นจะเจริญเติบโตมาแทน ได้แก่ สปีซีส์ *Escherichia, Bacillus, Klebsiella, Clostridium, Streptococcus* spp. , *Leuconstoc, Lactobacillus* และ *Pediococcus* นอกจากนั้นมียีสต์พวกที่สามารถอยู่ได้ทั้งสองสภาพ (facultative anaerobic) แบคทีเรียพวกผลิตกรดแล็คติค (lactic acid bacteria) เป็นพวก facultative ซึ่งติดอยู่กับผิวนอกของพืชอาหารสดในปริมาณมาก แบคทีเรียพวกนี้แบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ คือพวก homofermentative เป็นพวกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตแล็คติค และพวก heterofermentative เป็นพวกที่ผลิตกรดแล็คติค คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอลชนิดต่างๆ ของแบคทีเรียหลังจากที่เริ่มการหมักแล้ว แบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และจะหมักสลายพวกแป้งที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate) จะได้กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ คือ กรดแล็คติด (พิพัฒน์, 2544)

2.8.2 กระบวนการหมักของพืชอาหารหมัก

กระบวนการต่างๆที่เกิดขึ้นภายหลังการปิดหลุมหมัก แบ่งได้ 2 กระบวนการใหญ่ๆ คือ กระบวนการที่ต้องใช้ออกซิเจน (aerobic) และกระบวนการที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจน (anaerobic) กระบวนการดังกล่าวนี้จะมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ปริมาณอากาศที่ยังหลงเหลือภายหลังการนำพืชเข้าหลุมหมัก และองค์ประกอบต่างๆ ภายในพืชที่นำมาทำหญ้าหมัก เช่น ปริมาณน้ำตาล ความชื้น และแร่ธาตุอาหาร เมื่อนำเอาพืชสดเข้าในไซโล และอัดให้แน่นดีแล้วปิดไซโลแต่อากาศบางส่วนยังคงเหลืออยู่ภายในปริมาณจำกัด และแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนภายในนั้นใช้ในกระบวนการหายใจอยู่ระยะหนึ่งจนกว่าอากาศจะหมดไป และพืชมีการหายใจจะใช้คาร์โบไฮเดรต ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และความร้อนออกมา ในขณะที่มีอากาศอยู่นั้นพวกแบคทีเรียที่ใช้อากาศ (aerobic bacteria) จะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดต่างๆ เช่น กรดอะซิติค โปรไปโอนิค และกรดแลคติค เป็นต้น ส่วนพวกยีสต์ (yeast) และเชื้อรา (mould) ในขณะที่มีอากาศอยู่ก็จะเพิ่มจำนวนมากขึ้น จนกระทั่งอากาศถูกใช้หมดไป พวกนี้ไม่สามารถจะเพิ่มจำนวนได้อีกและตายลง แต่เอนไซม์ต่างๆก็ยังทำงานตามปกติและจะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ และสิ่งเน่าเปื่อยเพราะฉะนั้นในการทำหญ้าหมักจึงต้องพยายามกำจัดอากาศหรือไล่อากาศออกจากหลุมหมักให้เหลือน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ ซึ่งจะช่วยจำกัดจำนวนยีสต์ และราไม่ให้มีมากเกินไปหรือไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ พวกแอลกอฮอล์ที่ได้จากการทำงานของยีสต์จะเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติคในสภาพไร้อากาศต่อไป การอัดแน่นในหลุมหมักไซโลที่ไม่ดีพอจะมีอากาศหลงเหลืออยู่มาก ทำให้มีการสูญเสียคาร์โบไฮเดรตโดยผ่านกระบวนการหายใจและอุณหภูมิสูงเกินไป ซึ่งทำให้มีการสูญเสียคาโรทีนอีกด้วย อย่างไรก็ดีการอัดแน่นเกินไปในขณะที่พืชมีความชื้นสูงจะทำให้อุณหภูมิ

ภายในไซโลต่ำ ทำให้หญ้าหมักมีกลิ่นเหม็น เพราะฉะนั้นอุณหภูมิในหลุมหมักควรอยู่ในช่วง 10-38 องศาเซลเซียส (สายัณห์, 2540)

2.8.3 ประเภทของสารเสริมในพืชอาหารหมัก (silage additive)

การแยกประเภทของสารเสริมพืชอาหารหมัก สามารถแยกได้ตามผลที่เกิดขึ้นต่อกระบวนการหมักของพืชอาหารหมัก สารเสริมบางกลุ่มก็สามารถแสดงผลได้หลายประเภท เช่น พวกแป้ง เมล็ด ธัญพืช กากน้ำตาล เป็นต้น Woolford (1984) ได้แยกประเภทของสารเสริมในพืชอาหารหมัก ออกเป็น 5 ประเภท ดังนี้

2.8.3.1.สารที่ทำให้เกิดความเป็นกรดโดยตรงต่อพืชอาหารหมัก (direct acidification) ได้แก่ กรดอนินทรีย์ (inorganic acid) และกรดอินทรีย์ (organic acid) มีหน้าที่ทำให้ pH ของพืชอาหารหมักลดลง และชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพืชอาหารหมักโดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่มีอยู่ในพืช ตัวอย่างเช่น กรดซัลฟิวริค (sulfuric acid) กรดไฮโรคลอริค (hydrochloric acid) กรดฟอร์มิค (formic acid) และกรดอคริลิค (acrylic acid)

2.8.3.2 สารกลุ่มที่สามารถยับยั้งกระบวนการหมัก (fermentation inhibitor) ได้แก่สารที่ยับยั้งโดยตรง (direct-acting sterilants) และโดยอ้อม (indirect-acting sterilants) ทำหน้าที่ยับยั้งจุลินทรีย์ธรรมชาติ และสารอื่นๆที่ทำหน้าที่ได้เหมือนกับจุลินทรีย์ เช่น ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) และเฮกซามีน (hexamine) เป็นต้น

2.8.3.3 สารกลุ่มที่กระตุ้นกระบวนการหมัก (fermentation stimulation) สารตั้งต้นทำหน้าที่สนับสนุนกระบวนการหมักโดยเป็นวัตถุดิบที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก เช่น กากน้ำตาล (molasses) และเอนไซม์ ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (cellulolytic enzymes) และเอนไซม์ย่อยอะไมโลส (amylotic enzyme)

2.8.3.4 สารกลุ่มที่สามารถต่อต้านจุลินทรีย์โดยเฉพาะ (specific antimicrobial agent) พวก antibiotic, synthetic antimicrobial agent และantimicrobial agent จะทำหน้าที่ในยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยตรง เช่น bacitracin, streptomycin bronopol, sodium chloride และsodium nitrite เป็นต้น

2.8.3.5 สารกลุ่มที่เป็นแหล่งโภชนะ (nutrients additive) ได้แก่ วัตถุดิบที่ให้พลังงานไนโตรเจน และแร่ธาตุ ทำหน้าที่เพิ่มคุณค่าทางโภชนะของพืชอาหารหมัก เช่น แป้ง เมล็ดธัญพืช ยูเรีย และแคลเซี่ยมคาร์บอเนต (calcium carbonate) เป็นสารกลุ่มที่ทำให้คุณค่าทางโภชนะของพืชอาหารหมักเพิ่มขึ้น บางชนิดมีผลต่อกระบวนการหมัก สารเสริมโภชนะจะสามารถเพิ่มทั้งคุณค่าทางโภชนะและทำให้การหมักมีคุณภาพ สารเสริมโภชนะมีลักษณะ 2 อย่าง คือ เป็นแหล่งพลังงานโดยมากอยู่ในรูปคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ และแหล่งของไนโตรเจนหรือแร่ธาตุ

2.8.4 การใช้พืชหมักเป็นอาหารสัตว์

อังคณา และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาผลของหญ้าสด และหญ้าหมักชนิดต่างๆต่อการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมที่เลี้ยงด้วยอาหารหยาบแตกต่างกัน โดยนำแม่โคนมพันธุ์ขาว-ดำ ระดับเลือดประมาณ 87.5 เปอร์เซ็นต์ที่อยู่ในระยะการให้น้ำนมช่วงกลางมาเลี้ยงด้วยหญ้าเนเปียร์สด และหญ้าเนเปียร์ที่หมักโดยวิธีแตกต่างกัน 3 วิธี คือ หมักแบบธรรมดา หมักโดยเสริมกากน้ำตาล 3.6 เปอร์เซ็นต์ และหมักโดยเสริมกากน้ำตาล 3.6 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับหัวเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 10^6 CFU/กรัมของพืชสด พบว่าหญ้าเนเปียร์สดมีคุณค่าทางโภชนะสูงกว่าหญ้าเนเปียร์หมักชนิดต่างๆ แต่เมื่อนำอาหารหยาบเหล่านี้ไปเลี้ยงโคนมที่อยู่ในระยะการให้นมตอนกลาง ปรากฏว่า โคนมทุกกลุ่มให้ผลผลิตน้ำนมทั้งในด้านปริมาณ และองค์ประกอบของน้ำนม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เสมอใจ และคณะ (2554) ได้ทำการทดลองทดลองเพื่อศึกษาคุณภาพการหมัก คุณค่าทางโภชนะ และปริมาณการย่อยได้ของวัตถุแห้ง ของหญ้ากินนีสีม่วง (Pa) หมักร่วมกับถั่วอาหารสัตว์ 3 ชนิดได้แก่ ถั่วท่าพระสไตโล (Sty) ถั่วฮามาต้า (Ha) และถั่วคาวาลเคด (Ca) ในอัตราส่วน 50:50 ของน้ำหนักสด ใช้ระยะเวลาการหมัก 45 วัน โดยทำการหมักหญ้ากินนีสีม่วงและถั่วอาหารสัตว์รวมทั้งหมด 7 ชนิด (Pa, Sty, Ha, Ca, Pa+Sty, Pa+Ha และPa+Ca) ในการหมักแบบชนิดเดียว โดยตัดหญ้ากินนีสีม่วงสดอายุหลังตัดที่ 45 วัน ส่วนถั่วอาหารสัตว์ตัดที่อายุ 60 วัน นำมาสับ 1-2 เซนติเมตร ผสมกับแบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ทำจากพืชชนิดเดียวกันที่ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ส่วนการทำหญ้าหมักแบบผสม นำหญ้ากินนีสีม่วงผสมถั่วอาหารสัตว์หมักในอัตราส่วน 50:50 (น้ำหนักสด) ผสมกับแบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ทำจากหญ้ากินนีสีม่วงที่ 1เปอร์เซ็นต์ (w/w) และบรรจุในถุงพลาสติกขนาดประมาณ 100 กรัม หมักเป็นเวลา 45 วันและนำไปวิเคราะห์ทางเคมี ผลการทดลองพบว่าค่า pH ของพืชอาหารสัตว์หมักทุกกลุ่มมีค่าอยู่ระหว่าง 4.33-4.56 และพบว่าถั่วฮามาต้าหมักมีปริมาณวัตถุแห้งมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) ปริมาณโปรตีนของหญ้ากินนีสีม่วงหมักต่ำกว่าพืชหมักกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) และปริมาณโปรตีนในกลุ่มถั่วหมักเพียงอย่างเดียวก็มีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณเยื่อใย NDF ในหญ้าหมักเพียงอย่างเดียวมีค่าสูงกว่าการหมักร่วมกับถั่วทั้งสามชนิด ($P<0.05$) เนื่องมาจากถั่วอาหารสัตว์มีปริมาณเยื่อใย NDF ที่ต่ำกว่าหญ้ากินนีสีม่วง เมื่อนำมาหมักร่วมกันทำให้ปริมาณเยื่อใยนี้ลดต่ำลง ปริมาณเยื่อใย ADF ของหญ้าที่หมักเพียงอย่างเดียวมีแนวโน้มจะต่ำกว่าพืชหมักกลุ่มอื่นๆ แต่เมื่อมีการหมักร่วมกับถั่ว พบว่าปริมาณ ADF มีค่าสูงขึ้น และพบว่าความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง ณ ชั่วโมงที่ 24 และชั่วโมงที่ 48 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่าถั่วท่าพระสไตโลมีค่าสูงสุด ส่วนหญ้าที่หมักร่วมกับถั่วท่าพระสไตโล มีค่าการย่อยได้วัตถุแห้งสูงกว่าการหมักร่วมกับถั่วชนิดอื่นๆ

ศุภมาศ และคณะ (2535) ได้ศึกษาคุณค่าทางโภชนะของหญ้าขน ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และหญ้าไข่มุก หมักโดยมีการเติมส่วนผสมของเอนไซม์ต่อขบวนการหมักซึ่งส่วนประกอบของเอนไซม์ประกอบด้วย เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และกลูโคออกซิเดส เมื่อหมักไป 90 วัน พบว่าเอนไซม์มีส่วนทำให้ค่า pH และปริมาณเยื่อใยต่ำกว่าพืชที่หมักแบบปกติโดยที่ค่า pH ของหญ้าขน ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และหญ้าไข่มุก ที่มีการเสริมส่วนผสมของเอนไซม์ มี ค่าเท่ากับ 4.10, 3.67, 3.80 และ 3.76 ตามลำดับ และมีโปรตีนเท่ากับ 6.31, 6.28, 7.55 และ 6.76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนปริมาณของเยื่อใย NDF เท่ากับ 71.68, 60.87, 66.58 และ 62.51 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีปริมาณเยื่อใย ADF เท่ากับ 42.50, 40.21, 42.22 และ 40.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

นัฐกานต์ และคณะ (2555) ได้ทดลองใช้หญ้าหมักทดแทนในอาหารสุกรต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและการย่อยได้ของโภชนะในสุกรพื้นเมือง โดยการทดแทนอาหารสุกรสำเร็จรูปด้วยหญ้าหมักที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ และ10 เปอร์เซ็นต์ (เปอร์เซ็นต์บนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งใช้หญ้ากินนีอายุไม่เกิน 120 วัน ตัดให้มีขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร หมักลงในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร มีฝาปิด หมักนาน 30 วัน ก่อนเปิดใช้ และศึกษาโดยใช้อาหารสุกรรุ่น-ขุน โปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสุกรรุ่น-ขุน ทดแทนด้วยหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการกินได้ของสุกรไม่แตกต่างกันเนื่องจากมีการให้อาหารปริมาณจำกัดที่ร้อยละ 4 ของน้ำหนักตัวเพื่อให้สุกรกินอาหารสุกรสำเร็จรูปร่วมกับหญ้าหมักในสัดส่วนที่กำหนด จากผลการทดลองนี้พบว่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน (P>0.05) การทดแทนอาหารสุกรสำเร็จรูปด้วยหญ้าหมักระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการแลกอาหารเป็นน้ำหนักตัวสุกรในการทดลองนี้มีการย่อยได้ของโภชนะไม่แตกต่างกันเมื่อทดแทนอาหารสุกรสำเร็จรูปด้วยหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นไขมันที่สุกรที่กินหญ้าหมักมีค่าการย่อยได้สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ธนิตพันธ์ และคณะ (2554) ศึกษาการใช้มันเส้นและพืชอาหารสัตว์หมักเชื้อจุลินทรีย์เป็นอาหารเสริมให้กับโค โดยใช้ 1) หญ้ารูซี่แห้งเสริมมันเส้นหมักร่วมกับหญ้ารูซี่ 70:30 ใส่เชื้อ *S. cerevisiae* และ 2) หญ้ารูซี่แห้งเสริมมันเส้นหมักร่วมกับหญ้ารูซี่ 70:30 ใส่เชื้อ *A. niger* โดยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการหมักเชื้อ *S. cerevisiae* และ *A. niger* ประกอบด้วย มันเส้น หญ้ารูซี่ กำมะถัน และยูเรีย มีค่าเท่ากับ 66.7, 30, 0.2 และ3.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าคุณค่าทางโภชนะต่างๆเมื่อเปรียบเทียบกับหญ้ารูซี่สด กับอาหารที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *A. niger* นั้นจะเพิ่มขึ้นดังนี้ โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 7.0 เป็น 11.2 และ10.5 เปอร์เซ็นต์ วัตถุแห้งเพิ่มจาก 26.0 เป็น 55.4 และ50.6 เปอร์เซ็นต์ และโคกลุ่มที่มีการเสริมอาหารที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *A. niger* ที่มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น 53.0 และ50.5 กิโลกรัมต่อ 90 วัน

ซึ่งเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมที่เพิ่มขึ้นเพียง 15.1 กิโลกรัมต่อ 90 วัน ดังนั้นการใช้มันเส้น และพืชอาหารสัตว์หมักเชื้อจุลินทรีย์เป็นอาหารเสริมโคทำให้โคมีการตอบสนองในด้านปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของอาหารตลอดจนการเจริญเติบโตต่อวันที่ดี

เมฆ และคณะ (2553) ศึกษาการผลิตอาหารหยาบหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรโดยใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังนำมาหมักรวมกับวัตถุดิบในการผลิตอาหารหยาบหมักนั่นคือ เปลือกข้าวโพด และกากเบียร์ โดยจะทำการทดลองโดยประกอบสูตรอาหารหยาบหมัก 5 สูตร โดยแต่ละสูตรแตกต่างกันที่ระดับของการใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังในระดับต่างๆ (0, 10, 20, 30 และ40 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสด) มีอายุการหมัก 3 ช่วง (14, 21 และ28 วัน) จำนวน 4 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า เมื่อช่วงเวลาการหมักเพิ่มขึ้นการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งและโปรตีนของอาหารหยาบหมักลดลง และกรดไขมันระเหยได้ กรดแลคติค ที่ช่วงอายุการหมัก 14 และ21 วัน อยู่ในระดับที่เหมาะสม และที่ช่วงเวลาการหมัก 14 วัน ไม่พบการเกิด butyric acid แต่จะพบเมื่อช่วงเวลาการหมัก 21 และ 28 วัน แต่ค่าดังกล่าวไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ จึงถือได้ว่าเป็นหญ้าหมักที่มีคุณภาพดี โดยที่อาหารหยาบหมักในสูตรที่ 1 ที่มีกากมันสำปะหลัง 40 เปอร์เซ็นต์ สามารถนำไปใช้ได้เมื่อมีอายุการหมัก 14 วัน เป็นต้นไป เนื่องจากในสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่สูง ขณะที่เปอร์เซ็นต์ ADF มีระดับต่ำ และเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันระเหยได้ และความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในระดับที่เหมาะสม แต่ถ้านำสูตรที่มีการใช้เปลือกมันสำปะหลัง 40 เปอร์เซ็นต์ มาใช้อาจทำให้มีระดับของเถ้า และเยื่อใยในอาหารสูงเกินไป ส่งผลต่อคุณภาพของอาหารหยาบหมักได้ จึงสรุปได้ว่าเปลือกมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังมีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบในอาหารหยาบหมักได้ โดยมีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสมเริ่มตั้งแต่ช่วงเวลาการหมัก 14 วัน ซึ่งในแต่ละสูตรของอาหารหยาบหมักมีกรดไฮโดรไซยานิคที่มีความเป็นพิษในระดับต่ำมาก แต่จะเพิ่มขึ้นตามระดับของการใช้เปลือกมันสำปะหลัง และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (pH 3.9-4.2) การย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งเพิ่มตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลัง ปริมาณกรดแลคติคสูงสุดเมื่อช่วงเวลาการหมัก 14 วัน จึงถือได้ว่าเป็นหญ้าหมักที่มีคุณภาพดี การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่ากากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารหยาบหมักได้

วราพันธ์ และคณะ (2549) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ธรรมชาติในกากมันสำปะหลัง ระหว่างการหมักแบบไร้ออกซิเจน พบว่ากากมันสำปะหลังสดทั่วไปมีแลคติคแอซิดแบคทีเรียและยีสต์เป็นจุลินทรีย์ธรรมชาติในวัตถุดิบ และเมื่อทำการหมักพบว่าทั้งแลคติคแอซิดแบคทีเรียและยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยแลคติคแอซิดแบคทีเรียมีปริมาณสูงสุดที่การหมัก 3 วัน จากนั้นจะมีปริมาณลดลงเล็กน้อยถึงวันที่ 7 โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P<0.05) และหลังจากนั้นมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ตามระยะเวลาการหมักที่นานขึ้น ส่วนยีสต์พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดที่การหมัก 5 วัน และมีปริมาณลดลงเล็กน้อยถึงวันที่ 7 โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากนั้นมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อมีระยะเวลาการหมักนานขึ้น สำหรับค่า pH พบว่ามีค่าลดลงมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาหมัก (P<0.05) สำหรับปริมาณเยื่อใยพบว่ามีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีระยะการหมักนานขึ้น (P<0.05) ส่วนปริมาณโภชนะอื่นๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

องอาจ และคณะ (2550) ได้นำใบกระถินและใบปอสามาหมักร่วมกับรำข้าว 20 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดสารพิษในใบกระถินและเพิ่มความน่ากินของใบปอสา จากนั้นนำตากแห้งแล้วบดผสมในอาหารสุกร ใบกระถินหมักทำโดยนำใบกระถินพร้อมก้านอ่อนสีเขียวมาหั่นให้มีขนาด 2 เซนติเมตรผสมกับรำละเอียด 20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักสด หมักในถังพลาสติกขนาด 120 ลิตร อย่างน้อย 3 สัปดาห์ จากนั้นนำมาตากให้แห้งแล้วบด เก็บไว้ใช้ผสมในอาหารสุกร สำหรับใบปอสาหมักทำโดยวิธีเดียวกัน จากนั้นทำการทดลองโดยให้อาหาร 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 ใช้อาหารที่มีกระถินหมักแห้ง 3 เปอร์เซ็นต์ และปอสาหมักแห้ง 3 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงน้ำหนัก 34 – 55 กิโลกรัม และใช้อาหารที่มีกระถินหมักแห้ง 6 เปอร์เซ็นต์ และปอสาหมักแห้ง 6 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงน้ำหนักมากกว่า 55 กิโลกรัม กลุ่มที่ 3 ใช้อาหารที่มีกระถินหมักแห้ง 6 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงน้ำหนัก 34 – 55 กิโลกรัม และใช้อาหารที่มีกระถินหมักแห้ง 12 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงน้ำหนักมากกว่า 55 กิโลกรัม โดยที่ใบกระถินหมักแห้งและใบปอสาหมักแห้งมีโภชนะโปรตีน 20.26 และ20.39 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 12.10 และ11.67 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11.85 และ8.05 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 10.30 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก 45.49 และ47.39 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,752 และ2,578 กิโลแคลลอรี่ต่อกิโลกรัม ผลการศึกษาเมื่อพิจารณาผลรวมจนถึงน้ำหนักตัวเฉลี่ย 78.6 กิโลกรัม โดยใช้ระยะเวลาศึกษาทั้งสิ้น 54 วัน พบว่าสุกรกลุ่มที่ได้รับกระถินหมักแห้งผสมปอสาหมักแห้งมีแนวโน้มปริมาณอาหารที่กินได้ต่อตัวต่อวันต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกระถินหมักแห้ง จึงมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันต่ำกว่าเล็กน้อย แต่มีอัตราแลกน้ำหนักใกล้เคียงกัน และเมื่อปรับน้ำหนักตัวของทุกกลุ่มให้เท่ากันคือ 230 ปอนด์ พบว่ากลุ่มที่ 2 มีระยะเวลาในการเลี้ยงนานกว่ากลุ่ม 3 และกลุ่มควบคุมเล็กน้อย อย่างไรก็ดี พบว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 มีความหนาของไขมันสันหลังต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ขณะที่พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันของกลุ่มที่ 3 มีมากกว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มควบคุม

สมสุข และคณะ (2546) ได้ศึกษาการผลิตหญ้ารูซี่หมักโดยใช้สารช่วยหมักในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักหญ้าสด ซึ่งสารช่วยหมักที่ใช้เสริมคือ กลุ่มที่ 1 กากน้ำตาลผสมน้ำ (1:1) กลุ่มที่ 2 กากน้ำตาลผสมน้ำนม (1:1) กลุ่มที่ 3 น้ำนม และกลุ่มที่ 4 กากน้ำตาลผสมน้ำนมและ

น้ำ (2:1:1) นำหญ้ารูซี่อายุ 45 วัน หั่นให้มีขนาด 2 –3 เซนติเมตร เทราดด้วยสารช่วยหมักต่างๆแล้วบรรจุลงในถุง 2 ชั้น ชั้นนอกเป็นถุงใยสังเคราะห์ ชั้นในเป็นถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 36 x 45 นิ้ว บรรจุหญ้าถุงละ 20 กิโลกรัม พบว่าการหมักหญ้ารูซี่ร่วมกับกากน้ำตาลผสมน้ำนม (1:1) 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก มีวัตถุแห้ง 26.65 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 8.14 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย 59.60 เปอร์เซ็นต์ จึงอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเร่งการเจริญเติบโตของ lactic acid bacteria จึงทำให้สามารถผลิตกรดแลคติกออกมายับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการสูญเสียน้อยและได้หญ้ารูซี่หมักที่มีคุณภาพดีที่สุดทั้งในแง่การย่อยได้ การถนอมคุณค่าทางโภชนะตลอดจนพลังงานอีกด้วย โดยค่าการย่อยได้ของอินทรียวัตถุของพืชหมักที่ใช้กากน้ำตาลร่วมกับนมและกากน้ำตาล หรือกากน้ำตาลเพียงอย่างเดียวในกลุ่มที่ 2, 4 และ1 มีแนวโน้มสูงกว่าการใช้นมเพียงอย่างเดียวในกลุ่มที่ 3 ส่วนค่าพลังงาน ใช้ประโยชน์ได้ พบว่ากลุ่มที่ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ 4 และ 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) ดังนั้นการหมักหญ้ารูซี่ร่วมกับกากน้ำตาลผสมน้ำนมในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ 5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักหญ้าสดจึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการใช้ประโยชน์จากน้ำนมที่เททิ้ง อย่างไรก็ดีไม่ควรใช้น้ำนมเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีกากน้ำตาลร่วมอยู่ด้วย เพราะจะทำให้ได้พืชหมักที่มีคุณภาพด้อยกว่าและมีพลังงานต่ำกว่ากลุ่มอื่น

บุญส่ง และคณะ (2555) นำหญ้ากินนีสีม่วงหมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และหญ้าเนเปียร์ยักษ์หมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และต้นข้าวโพดหวานหมัก ซึ่งใช้หญ้าเนเปียร์ยักษ์ และหญ้ากินนีสีม่วงตัดที่อายุ 40 – 45 วัน ส่วนข้าวโพดหวาน ตัดที่อายุ 90 -100 วัน ซึ่งเป็นระยะเมล็ดเป็นน้ำนมถึงแป้ง โดยจะนำวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะและหาระยะเวลาในการเก็บรักษาที่ดีที่สุด โดยศึกษาคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนะของพืชหมัก 3 ชนิด ที่หมักในถุงพลาสติกดำ และมีอายุการรักษานาน 1, 3, 6 และ12 เดือน พบว่า หญ้าเนเปียร์ยักษ์หมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้โดยมีคุณภาพการหมักอยู่ในเกณฑ์ปานกลางได้นาน 6 เดือน และมีคุณค่าทางอาหารสูง คือ มีโปรตีนอยู่ในช่วง 11.10-14.88 เปอร์เซ็นต์ หญ้ากินนีสีม่วงหมักร่วมกับกากน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในช่วงอายุการเก็บรักษา 1-3 เดือน มีลักษณะทางกายภาพดีและมีโปรตีนอยู่ในช่วง 9.64-11.02 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจะมีลักษณะทางกายภาพและทางเคมีอยู่ในเกณฑ์ต่ำ และต้นข้าวโพดหวานหมักสามารถเก็บรักษาได้นาน 6 เดือน โดยมีคุณภาพการหมักอยู่ในเกณฑ์ดี-ปานกลาง และมีคุณค่าทางอาหารสูง คือมีโปรตีน 10.08-12.87 เปอร์เซ็นต์

วิชัย และคณะ (2553) ศึกษาคุณค่าทางโภชนะและการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนโดยวิธีแบชคัลเจอร์ของต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมัก โดยทำการทดลองโดยใช้ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่ไม่ใช้สารเสริม (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่เสริมฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ เสริมกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์

และกลุ่มที่เสริมร่วมกันระหว่างฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหลังจากการเก็บเกี่ยว อายุประมาณ 55-60 วัน หมักไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 30 วัน พบว่าทุกกลุ่ม มีกลิ่นหอมเปรี้ยว ไม่มีกลิ่นเน่าเสียและไม่มีกลิ่นแอลกอฮอล์ สีของต้นข้าวโพดหมักมีสีเขียวอ่อน ลักษณะโครงสร้างมีใบและลำต้นที่สับครบ รอยสับไม่เละ ไม่มีเมือกลื่น การเสริมฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ และการเสริมฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ข้าวโพดหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 7.39 เปอร์เซ็นต์เป็น 8.18 และ8.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัตถุแห้งเพิ่มขึ้น จาก 25.80 เป็น 30.34 และ30.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการเสริมกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียวทำให้การสูญเสียวัตถุแห้งเพิ่มขึ้น สำหรับการศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนพบว่า การย่อยโปรตีนของข้าวโพดหมักทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งพบค่าอยู่ในช่วง 62.67-65.37 เปอร์เซ็นต์ การย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่เสริมกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่เสริมร่วมกันมีค่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) คือ 49.45-50.57 และ48.14-48.83 เปอร์เซ็นต์

ไกรสิทธิ และคณะ (2556) ได้นำหญ้ากินนีหมักทดแทนอาหารสำเร็จรูปในสุกรรุ่น โดยใช้อาหารทดลองทั้งหมด 4 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่ใช้อาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกร 100 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารสุกรสำเร็จรูป 95 เปอร์เซ็นต์และหญ้าหมัก 5 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารสุกรสำเร็จรูป 90 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารสุกรสำเร็จรูป 85 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าหมัก 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการเก็บผลการทดลองที่ 90 วันซึ่งจะใช้หญ้ากินนีสด อายุ 50-60 วัน ตัดแล้วนำมาสับให้มีขนาด 3-5 เซนติเมตร บรรจุหญ้าสดที่หั่นแล้วลงถังพลาสติกสำหรับหมักแล้วหมักไว้ 4 สัปดาห์ ก่อนเปิดนำมาใช้ หญ้าหมักที่ใช้ในการทดลองนี้มีโปรตีน 6.8 เปอร์เซ็นต์ วัตถุแห้ง 24.88 เปอร์เซ็นต์และมีเยื่อใย NDF และ ADF อยู่ที่ 74.64 และ 27.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยผสมหญ้ากินนีหมักกับอาหารสำเร็จรูปตามสัดส่วนที่ระดับ 0, 5, 10 และ15 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง คลุกเคล้าอาหารสำเร็จรูปให้เข้ากันกับหญ้าหมักใหม่ทุกๆ ครั้งก่อนการให้อาหารทุกมื้อ โดยจากการศึกษาพบว่า สุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับอาหารสุกรสำเร็จรูป 95 เปอร์เซ็นต์และหญ้าหมัก 5 เปอร์เซ็นต์นั้น มีอัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงที่สุด คือ 267.41 กรัมต่อวันโดยที่กลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป 100 เปอร์เซ็นต์จะมีอัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันต่ำที่สุด คือ 235.54 กรัมต่อวัน ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของกลุ่มที่ 2 ต่ำที่สุด คือ 3.27 ส่วนกลุ่มที่ 1 อยู่ที่ 3.59

จิรวรรณ และคณะ (2549) รายงานเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนะของใบมันสำปะหลังหมักโดยการเตรียมโดยใช้ใบมันรวมก้านสดพันธุ์ระยอง 90 อายุประมาณ 3 เดือน โดยหักยอดยาวประมาณ 30-50 เซนติเมตร หั่นเป็นชิ้นขนาด 2.5-5 เซนติเมตรแล้วนำมาคลุกกับรำละเอียด

ในอัตราส่วน 5:1 (น้ำหนักสด) บรรจุในถังหมักพลาสติกขนาด 120 ลิตร ใช้คนย่ำใบมันให้แน่น ปิดล็อคฝาให้สนิทเก็บไว้ในที่ร่ม เป็นเวลา 1 เดือน แล้วเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า ใบมันสำปะหลังหมักมีปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใยเท่ากับ 29.87, 13.91, 11.02, 9.67 และ 17.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใบมันสำปะหลังหมักที่ในการทดลองนี้ มีคุณภาพดีมาก โดยมีกรดอะซิติก 0.33 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีกรดบิวทีริก และมีกรดแลคติก 2.48 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH เท่ากับ 3.92 ผลการวิเคราะห์ HCN พบว่าเท่ากับ 109.77 ppm ซึ่งลดลงจากใบมันสด 38.65 เปอร์เซ็นต์ โดย HCN ในใบมันสำปะหลังสดที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่าเท่ากับ 178.93 ppm

นิรันดร (2557) ทำการศึกษาผลของหญ้าซิกแนลเลื้อยอายุ 35 วัน หมักร่วมกับเยื่อในสาคูที่ระดับ 0, 5, 10 และ15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการหมัก 21 วัน พบว่ามีปริมาณวัตถุแห้งเท่ากับ 22.38, 22.51, 24.69 และ28.04 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนเท่ากับ 6.10, 6.36, 5.54 และ 5.33 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเยื่อใย NDF เท่ากับ 70.84 70.40 65.17 และ59.16 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเยื่อใย ADF เท่ากับ 46.95 45.84 39.43 และ36.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งการหมักร่วมกับเยื่อในสาคูที่นอกจากจะเป็นคาร์โบไฮเดรตและเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญแก่จุลินทรีย์ในกระบวนการหมักยังสามารถหาได้ในท้องถิ่นและราคาถูกอีกด้วย

ดุจดาว และพิชิตร์ (2553) ทดลองนำหญ้าแฝกที่อายุ 35 วัน มาหมักร่วมกับสารเสริมต่างๆโดยทำการทดลองทั้งหมด 5 สูตร คือ กลุ่มที่ 1 ไม่มีการเสริม กลุ่มที่ 2 เสริมกากน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 3 เสริมรำละเอียด 10 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 4 เสริมกรดฟอร์มิค 5 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 5 เสริมอีเอ็ม (EM) 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณวัตถุแห้งเท่ากับ 38.17, 39.72, 40.26, 40.39 และ37.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ ไขมันเท่ากับ 2.59, 3.38, 3.55, 3.19 และ3.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนรวมของหญ้าแฝกหมักร่วมกับ รำละเอียด 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 8.29 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือหญ้าแฝกหมักร่วมกับกรดฟอร์มิค 5 เปอร์เซ็นต์ หญ้าแฝกหมักร่วมกับกากน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์ หญ้าแฝกหมักไม่เสริมสารเสริม และหญ้าแฝกหมักร่วมอีเอ็ม 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.12, 7.51, 7.24 และ6.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนของเยื่อใยรวมนั้นพบว่า หญ้าแฝกหมักร่วมกับกรดฟอร์มิค 5 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าแฝกหมักไม่เสริมสารเสริม มีเปอร์เซ็นต์เยื่อใยสูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือมีค่าเท่ากับ 32.52 และ31.97 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกับหญ้าแฝกหมักร่วมกับอีเอ็ม 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 31.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือหญ้าแฝกหมักร่วมกับรำละเอียด 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 28.82 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่หญ้าแฝกหมักร่วมกับกากน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 28.53 เปอร์เซ็นต์

Pozdisek et. al (2003) ทดลองนำหญ้าสามชนิดมาหมักและทดสอบหาค่าการย่อยได้และคุณค่าทางโภชนะ คือหญ้า tykor tacit และ kora โดยจะใช้หญ้าที่มีการตัดครั้งแรกแล้วนำไปใส่ในหลุมหมักโดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 3 เดือน พบว่าหญ้า tykor tacit และ kora มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 11.85, 14.21 และ12.59 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมันเท่ากับ 3.38, 3.79 และ 3.56 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยเท่ากับ 26.19, 21.87 และ 25.60 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าการย่อยได้โปรตีนเท่ากับ 59.48, 63.73 และ59.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยได้อินทรียวัตถุเท่ากับ 70.50, 73.84 และ72.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Pereira et. al (2008) ได้ศึกษาการนำหญ้าซิกแนลหมักนำมาผสมกับอาหารข้นในอัตราส่วนต่างเพื่อเป็นอาหารสำหรับโคเนื้อ โดยในระหว่างการหมักหญ้าจะใช้ เอนไซม์จากแบคทีเรีย *L. plantarum* และ *Pediococcus acidilactici* และเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส และย่อยสลายแป้งจำนวน 5 กรัมผสมน้ำ 1 ลิตร นำไปใช้ฉีดพ่น หญ้าหมัก 1 ตัน ซึ่งหญ้าซิกแนลหมักมีปริมาณวัตถุแห้งเท่ากับ 21.91 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 9 เปอร์เซ็นต์ อินทรียวัตถุ 92.11 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย ADF 51.21 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใย NDF 75.91 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำหญ้าหมักมาผสมกับอาหารข้น ในอัตราส่วนอาหารข้น 200, 350, 500 และ650 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง ให้เป็นอาหารโคเนื้อพบว่า การใช้อาหารข้นที่ระดับ 200 และ350 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง ทำให้อาหารมีคุณค่าโภชนะที่ต่ำกว่าเพราะหญ้าหมักมีคุณค่าทางโภชนะต่ำ แต่จะไม่ส่งผลต่อการหมักในกระเพาะรูเมน

Mao et. al (2014) นำหญ้ายักษ์ (king grass) มาหมักร่วมกับสารเสริมต่างๆ ดังนี้ น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลกลูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ กากน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์เซลลูเลส 0.02 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ผสมสารเสริมดังกล่าวร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสโดยนำมาหมัก 30 วัน พบว่ากลุ่มที่เสริมกากน้ำตาลร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสนั้นมีโปรตีนสูงสุดที่ 9.55 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณไขมัน และเยื่อใย, ADF และ NDF เท่ากับ 2.17 40.76 และ57.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าหญ้าสดที่มีโปรตีนเพียง 8.27 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1: การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ สิ่งทดลอง (treatment) ที่ศึกษามี 9 สิ่งทดลอง ดังนี้

1. กลุ่มควบคุม (กากมันอบแห้งไม่มีการหมัก)
2. การหมักด้วยแบคทีเรีย *B. subtillis* 4 วัน
3. การหมักด้วยแบคทีเรีย *B. subtillis* 8 วัน
4. การหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* 4 วัน
5. การหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* 8 วัน
6. การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 4 วัน
7. การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 8 วัน
8. การหมักด้วยเห็ดขอนดำ 4 วัน
9. การหมักด้วยเห็ดขอนดำ 8 วัน

3.1.2 การเตรียมการทดลอง

3.1.2.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล

นำกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลอบแห้งที่อุณหภูม 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เก็บใส่ถุงซิปแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.1.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เลี้ยงเชื้อเห็ดขอนดำ (*L. polychrous*) เชื้อรา *R. oryzae* บน potato dextrose agar บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtillis* ใน Nutrient broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และนำเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 20 กรัมผสมน้ำตาล 20 กรัม เติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

3.1.2.3 การเตรียมสารละลายเกลือแร่

เตรียมสารละลายเกลือแร่ ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.5 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.4 กรัม และยูเรีย 1 กรัม

3.1.2.4 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์

การหมักด้วยเห็ด และราใช้การหมักแบบ solid state fermentation (SSF) โดยชั่งตัวอย่างกากมันที่เตรียมไว้ 100 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask เติมสารละลายเกลือแร่ที่เตรียมไว้เพื่อให้ได้ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่ 121 องศาเซลเซียสภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นใส่สปอร์เชื้อเห็ดหรือราที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1.2.2 ความเข้มข้น 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ 5 มิลลิลิตรต่อขวด แล้วหมักที่อุณหภูมิห้องตามเวลาที่กำหนดในแผนการทดลอง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำตัวอย่างที่ได้เข้าอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส และจดบันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้เพื่อนำไปหาค่าการสูญเสียน้ำหนักแห้งต่อไป

การหมักด้วยแบคทีเรียและยีสต์ใช้การหมักแบบ SSF โดยชั่งตัวอย่างกากมันที่เตรียมไว้ 100 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask เติมสารละลายเกลือแร่ที่เตรียมไว้เพื่อให้ได้ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่ 121 องศาเซลเซียสภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นใส่เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมจำนวน 5 มิลลิลิตรต่อขวด หลังจากเจือจางด้วยน้ำเกลือ NaCl เข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนแบคทีเรียและยีสต์ 10^8 CFU/ml แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในระยะเวลา 4 และ 8 วัน เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำตัวอย่างที่ได้เข้าอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียสและจดบันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้เพื่อนำไปหาค่าการสูญเสียน้ำหนักแห้งต่อไป

3.1.3 การประเมินคุณค่าทางโภชนะศาสตร์ด้วยวิธีทางเคมี

นำตัวอย่างที่ได้จากการหมักเข้าอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ทางเคมี1 ได้แก่ วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ และโปรตีนตามวิธีของ AOAC (1990) วิเคราะห์ NDF และ ADF ตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970)

ประเมินการย่อยได้ของโภชนะโดยจุลินทรีย์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบแบชคัลเจอร์ (batch culture) ตามวิธีของ Srichana et. al (2014) โดยนำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่างแห้งจำนวน 3 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ (flask) เติมของเหลวจากกระเพาะรูเมนของโคนมผสม McDougall's artificial saliva ในอัตรา 1:3 ในสภาพไร้ออกซิเจนแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้บ่มแบบเขย่าแนวราบ (obital incubator) แล้วจึงกรองตัวอย่างจากฟลาสก์ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง, โปรตีน NDF, ADF และเถ้า เพื่อคำนวนหาค่าการย่อยได้วัตถุแห้ง, โปรตีน, NDF, ADF และอินทรียวัตถุดังนี้

การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{นน.แห้งของตัวอย่างก่อนบ่ม-นน.แห้งของตัวอย่างหลังบ่ม}}{\text{นน.แห้งของตัวอย่างก่อนบ่ม}} \times 100$$

การย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{นน.อินทรียวัตถุก่อนบ่ม-นน.อินทรียวัตถุหลังบ่ม}}{\text{นน.อินทรียวัตถุก่อนบ่ม}} \times 100$$

การย่อยได้ของโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{นน.โปรตีนก่อนบ่ม-นน.โปรตีนหลังบ่ม}}{\text{นน.โปรตีนก่อนบ่ม}} \times 100$$

การย่อยได้ของ NDF (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{นน. NDF ก่อนบ่ม-นน. NDF หลังบ่ม}}{\text{นน. NDF ก่อนบ่ม}} \times 100$$

การย่อยได้ของ ADF (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{นน. ADF ก่อนบ่ม-นน. ADF หลังบ่ม}}{\text{นน. ADF ก่อนบ่ม}} \times 100$$

3.1.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวณ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละสิ่งทดลอง โดยใช้ duncan’s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป (SAS, 2004)

3.2 การทดลองที่ 2 : การใช้กากมันสำปะหลังและยูเรียเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก

3.2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial) มีปัจจัยหลักที่ 1 คือ สารเสริมกากมันสำปะหลัง 3 ระดับ (0 , 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสดของหญ้าขน) และปัจจัยหลักที่ 2 คือสารเสริมยูเรีย 3 ระดับ (0 , 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสดของหญ้าขน) จำนวน 3 ซ้ำ

3.2.2 การเตรียมหญ้าขนและการหมัก

ตัดหญ้าขนที่มีอายุ 42 วัน จากนั้นสับให้มีขนาดประมาณ 1 นิ้ว แล้วนำกากมันสำปะหลังและยูเรียผสมลงไปตามปริมาณที่ระบุไว้ในแผนการทดลอง จากนั้นนำบรรจุลงถุงซิปปริมาณน้ำหนักสด 3 กิโลกรัมต่อถุงดูดอากาศออกแล้วปิดปากถุงให้แน่นตั้งทิ้งในโรงเก็บระยะเวลา 30 วัน

3.2.3 การประเมินคุณค่าทางโภชนะศาสตร์ด้วยวิธีทางเคมี

ดังที่ระบุไว้ในข้อ 3.1.3

3.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวณ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละสิ่งทดลอง โดยใช้ duncan’s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป (SAS, 2004)

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การทดลองที่ 1: การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์

4.1.1 ค่าโภชนะของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

4.1.1.1 การสูญเสียวัตถุแห้ง

จากการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 8 วัน และหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 และ 8 วัน มีการสูญเสียวัตถุแห้งมากที่สุด (33.97, 32.32 และ32.66เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ; ตารางที่4.1) โดยมีการสูญเสียวัตถุแห้งมากกว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ทั้ง 4 วัน และ8 วัน และหมักด้วยเชื้อเห็ดขอนดำที่สูญเสียวัตถุแห้ง 27.43, 26.74, 26.84 และ27.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ($P<0.05$) ส่วนกลุ่มควบคุมจะไม่มีการสูญเสียน้ำหนักแห้งเนื่องจากไม่มีการหมักเกิดขึ้น โดยการสูญเสียวัตถุแห้งดังกล่าวเกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์มีการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนภายในกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลไปเป็นอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นไปแนวทางเดียวกันกับ Smits et. al (1996) พบว่าการสูญเสียน้ำหนักแห้งนั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในสารอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาลของวัตถุดิบที่นำมาหมักแบบอาหารแข็ง โดยจะเปลี่ยนไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างกระบวนการหมัก

4.1.1.2 วัตถุแห้ง

การศึกษาพบว่าปริมาณวัตถุแห้งในกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 33.84-38.61 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.1) โดยที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเห็ดขอนดำเป็นเวลา 4 วันมีปริมาณวัตถุแห้งสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ($P<0.05$) โดยที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณวัตถุแห้ง 37.53 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งวัตถุแห้งของกลุ่มควบคุมนั้นจะได้มาจากกากมันสำปะหลังเปียกที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอลโดยตรงจึงเป็นปริมาณวัตถุแห้งที่แท้จริงของกากมันสำปะหลังสดจากโรงงานผลิตเอทานอล

4.1.1.3 อินทรียวัตถุ

ปริมาณอินทรียวัตถุของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่ไม่มีการหมัก (กลุ่มควบคุม) มีปริมาณต่ำที่สุด (83.60 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งต่ำกว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (ตารางที่4.1; P<0.05) ซึ่งกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* เป็นเวลา 4 วันมีปริมาณอินทรียวัตถุสูงสุด (87.84 เปอร์เซ็นต์) ตามด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* เป็นเวลา 8 วัน กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นเวลา 8 วัน ตามลำดับ (87.71 และ 87.22 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กากสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 4 วัน และกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน มีปริมาณอินทรียวัตถุ 86.47 และ 85.83 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณอินทรียวัถุนั้นเกิดจากการเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการหมัก ซึ่ง Brook et. al (1969) รายงานการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Rhizopus sp. บนแป้งมันสำปะหลังโดยการเพาะเลี้ยงแบบอาหารแข็ง โดยให้เกลือแร่ และแหล่งไนโตรเจน ทำให้เชื้อราเจริญเติบโตเป็นอย่างดี และเป็นไปในทางเดียวกับรายงานของ Darwish et. al (2012) ซึ่งรายงานการใช้เชื้อเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) ผสมกับยีสต์ *S. cerevisiae* ในการหมักตอซังข้าวโพดทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น 10.48 เปอร์เซ็นต์

4.1.1.4 โปรตีน

จากการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์มีโปรตีนสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่4.1; P<0.05) โดยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 12.26 – 18.40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด 18.40 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน และกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 8 วัน มากกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) ที่มีปริมาณโปรตีน 9.43 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และยีสต์ *S. cerevisiae* มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยที่การเพิ่มขึ้นของโปรตีนนั้นน่าจะมาจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ (Chen et. al, 2011) ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับ Akindahunsi et. al (1999) ที่ทำการปรับปรุงคุณค่าทาง

โภชนะของมันสำปะหลังด้วยการหมักด้วย *R. oryzae* โดยหมักเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ค่าโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 2 เป็น 10 เปอร์เซ็นต์ซึ่งการเพิ่มปริมาณโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก (Belewu and Babalola, 2009)

4.1.1.5 NDF

การหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 8 วันสามารถลดปริมาณ NDF ได้ 8.87 เปอร์เซ็นต์จากกลุ่มควบคุม ตามด้วยการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วันสามารถลดปริมาณ NDF ได้ 6.28 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ ยีสต์ *S. cerevisiae* มีปริมาณ NDF ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่4.1; $P<0.05$) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ Oboh et. al (2002) ที่รายงานว่าการหลั่งเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อย่อยสลาย เซลลูโลสในกากมันสำปะหลังได้ดีกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ดังนั้นการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อเห็ดขอนดำ และเชื้อรา *R. oryzae* จึงช่วยลดปริมาณเยื่อใยได้ดีกว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และยีสต์ *S. Cerevisiae*

4.1.1.6 ADF

จากการศึกษาพบว่าการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* และการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อเห็ดขอนดำสามารถลดปริมาณ ADF ในกากมันสำปะหลังลงได้ โดยการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน สามารถลดปริมาณ ADF ได้มากที่สุดโดยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จาก 49.75 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มควบคุม) เหลือ 41.93 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่4.1) ตามด้วยการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อเห็ดขอนดำ ในขณะที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ ยีสต์ *S. cerevisiae* มีปริมาณ ADF ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับรายงานของ Kewalramani et. al (1988) ที่ใช้เชื้อราขาวปรับปรุงค่าโภชนะของชานอ้อย โดยใช้เวลาในการหมักตั้งแต่ 0-40 วัน พบว่าการหมักที่ระยะเวลา 40 วันสามารถลดปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ได้ 12, 42 และ 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ค่าโภชนะของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ค่าโภชนะ	ทรีตเม้นต์									CV (%)
	CT	LP4	LP8	RO4	RO8	BS4	BS8	SC4	SC8	
การสูญเสียวัตถุแห้ง (%)	-	25.40^{b}	33.97^{a}	32.32^{a}	32.66^{a}	27.43^{b}	26.74^{b}	26.84^{b}	27.82^{b}	4.02
วัตถุแห้ง (%)	37.53^{b}	38.61^{a}	37.51^{b}	33.84^{e}	34.95^{cd}	35.67^{c}	34.39^{de}	35.45^{c}	35.39^{C}	1.42
อินทรียวัตถุ (% ของวัตถุแห้ง)	83.60^{d}	86.47^{b}	84.63^{cd}	85.83^{bc}	85.41^{bc}	87.84^{a}	87.71^{a}	86.14^{B}	87.22^{a}	0.80
โปรตีน (% ของวัตถุแห้ง)	9.43^{e}	15.12^{c}	16.37^{b}	16.79^{b}	18.40^{a}	12.26^{d}	12.68^{d}	12.94^{d}	13.08^{d}	1.79
NDF (% ของวัตถุแห้ง)	63.21^{a}	59.21^{b}	54.34^{d}	60.01^{b}	56.93^{c}	63.98^{a}	62.33^{a}	63.62^{a}	63.93^{a}	1.77
ADF (% ของวัตถุแห้ง)	49.75^{a}	45.63^{b}	46.01^{b}	44.57^{cb}	41.93^{c}	52.47^{a}	50.85^{a}	51.87^{a}	52.79^{a}	3.52

CT= กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่ไม่มีการหมัก (กลุ่มควบคุม); LP4 = กากเห็ดขอนดำ 4 วัน; LP8 = กากมันหมักด้วยเห็ดขอนดำ 8 วัน RO4 = กากมันหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* 4 วัน; RO8 = กากมันด้วยเชื้อรา R. oryzae 8 วัน; BS4 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 4 วัน; BS8 = กากมันด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 8 วัน; SC4 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 4 วัน; SC8 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 8 วัน

^{abcde} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนตามตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.1.2 การย่อยได้ของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

4.1.2.1 การย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ

การหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 วันสามารถเพิ่มปริมาณการย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุจาก 46.08 และ 45.47 เปอร์เซ็นต์ เป็น 61.03 และ 59.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2; P<0.05) ตามด้วยการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน เพิ่มปริมาณการย่อยได้ วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุเป็น 58.22 และ 57.08 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ ยีสต์ *S. cerevisiae* มีปริมาณการย่อยได้วัตถุแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับ Zadrazil and Puniya (1995) ที่ศึกษาการใช้เห็ด *Pleurotus* sp หมักชานอ้อย โดยหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำให้ชานอ้อยมีปริมาณการย่อยได้เพิ่มมากขึ้น

4.1.2.2 การย่อยได้โปรตีน

จากการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยชื้อรา *R. oryzae* และเชื้อเห็ดขอนดำเป็นเวลา 4 และ 8 วัน สามารถทำให้ค่าการย่อยได้โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 50.12 เป็น 72.82 , 74.50, 73.02 และ 73.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2; P<0.05) โดยกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และยีสต์ *S. cerevisiae* มีค่าการย่อยได้โปรตีนไม่ต่างกัน แต่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) อยู่ในช่วง 61.88 – 63.34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง มีความเหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อยู่แล้ว เช่น เอนไซม์เซลลูเลส, โปรติเอส เป็นต้น (Graminha et. al 2008) จึงทำให้เกิดการย่อยได้โปรตีนที่ดีขึ้น

4.1.2.3 การย่อยได้ NDF

การย่อยได้เยื่อใย NDF โดยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 วันเพิ่มขึ้นจาก 26.06 เป็น 48.76 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2; P<0.05) ตามด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วัน และเชื้อเห็ดขอนดำ 4 วัน เพิ่มขึ้นเป็น42.29 และ 42.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และยีสต์ *S. cerevisiae* มี

ค่าการย่อยได้ NDF ไม่ต่างกัน แต่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) อยู่ในช่วง 31.30 – 33.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่4.2) ซึ่งสอดคล้องกับ Okano et. al (2007) ที่รายงานการใช้เชื้อ *P. eryngii* ในการหมักชานอ้อยผสมกับรำข้าวพบว่าเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสและลิกนินมีปริมาณลดลงและมีการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น และการหมัก 95 วัน ช่วยทำให้ชานอ้อยมีการย่อยได้ของ NDF ในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งเชื้อราประเภทราขาวสามารถสลายลิกนินได้ดีจึงสามารถทำการปรับปรุงวัตถุดิบที่มี ลิกโนเซลลลูโลสให้สำหรับเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ดี

4.1.2.4 การย่อยได้ ADF

จากการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังที่หมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เห็ดขอนดำ เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยใช้เวลาการหมัก 4 และ 8 วัน มีค่าการย่อยได้ ADF 32.17 - 47.63 เปอร์เซ็นต์ โดยเพิ่มขึ้นจาก 26.64 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มควบคุม) (P<0.05) ซึ่งการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 4 วันมีค่าการย่อยได้ ADF สูงที่สุด (ตารางที่ 4.2) ซึ่งในกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้อาจเป็นผลมาจากการหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวยังมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ เซลลูเลสเพื่อย่อยเยื่อใยเป็นองค์ประกอบหลักในกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล (Karunanandaa and Varga, 1996) ส่งผลให้การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะสูงขึ้น Meng et. al (2005) รายงานว่าการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยแบบรวม เช่น เซลลูเลส เพคติเนส ไซลาเนส และแมนแนนเนสผสมกับเซลลูเลส สามารถเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยคาร์โบไฮเดรต และมีการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะที่ดีขึ้น

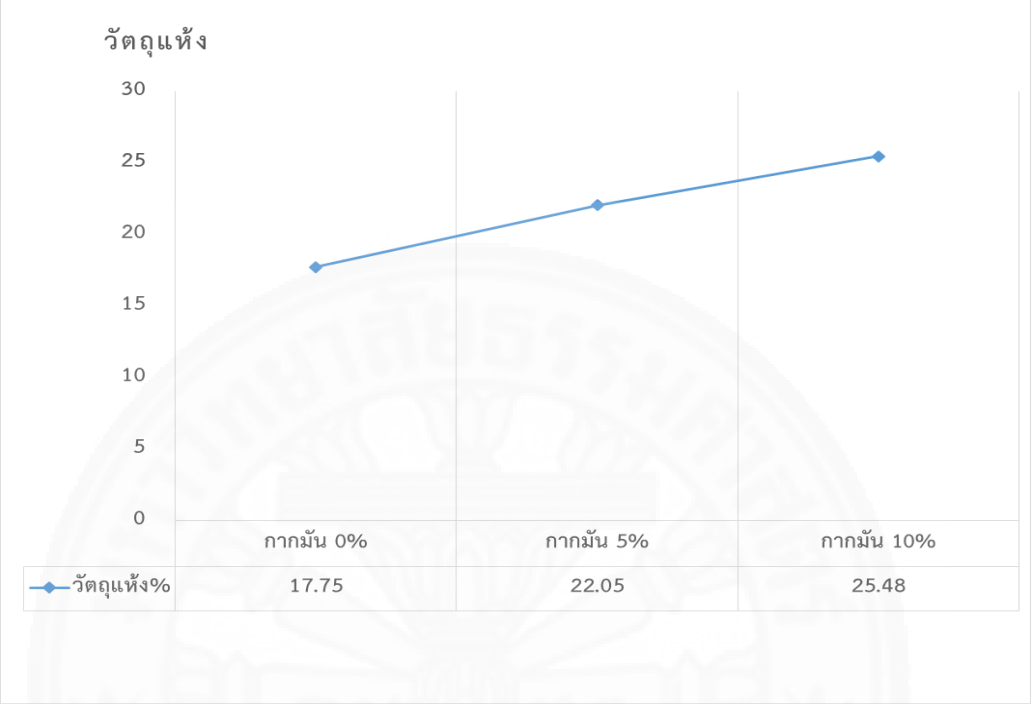
ตารางที่ 4.2 การย่อยได้ของกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่หมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ค่าการย่อยได้	ทรีตเม้นต์									CV (%)
	CT	LP4	LP8	RO4	RO8	BS4	BS8	SC4	SC8	
การย่อยได้วัตถุแห้ง (%)	46.08^{d}	57.17^{b}	51.91^{c}	61.03^{a}	58.22^{ab}	48.26^{d}	48.43^{d}	49.54^{d}	49.73^{d}	3.04
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (%)	45.47^{d}	55.73^{b}	49.93^{c}	59.71^{a}	57.08^{ab}	47.39^{cd}	48.30^{cd}	48.39^{cd}	48.90^{cd}	3.50
การย่อยได้โปรตีน (%)	50.12^{c}	73.02^{a}	73.18^{a}	72.82^{a}	74.50^{a}	62.80^{b}	63.11^{b}	61.88^{b}	63.34^{b}	3.63
การย่อยได้ NDF (%)	26.04^{d}	42.14^{b}	30.53^{c}	48.76^{a}	42.29^{b}	33.35^{c}	31.30^{c}	32.55^{c}	33.27^{c}	5.80
การย่อยได้ ADF (%)	26.64^{e}	39.96^{bc}	36.96^{cd}	47.63^{a}	42.50^{b}	32.60^{de}	36.76^{cd}	32.17^{de}	35.89^{cd}	7.93

CT= กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลที่ไม่มีการหมัก (กลุ่มควบคุม); LP4 = กากเห็ดขอนดำ 4 วัน; LP8 = กากมันหมักด้วยเห็ดขอนดำ 8 วัน RO4 = กากมันหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae* 4 วัน; RO8 = กากมันด้วยเชื้อรา R. oryzae 8 วัน; BS4 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 4 วัน; BS8 = กากมันด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 8 วัน; SC4 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 4 วัน; SC8 = กากมันหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* 8 วัน

^{abcde} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนตามตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2 การทดลองที่ 2: การใช้กากมันสำปะหลังและยูเรียเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก



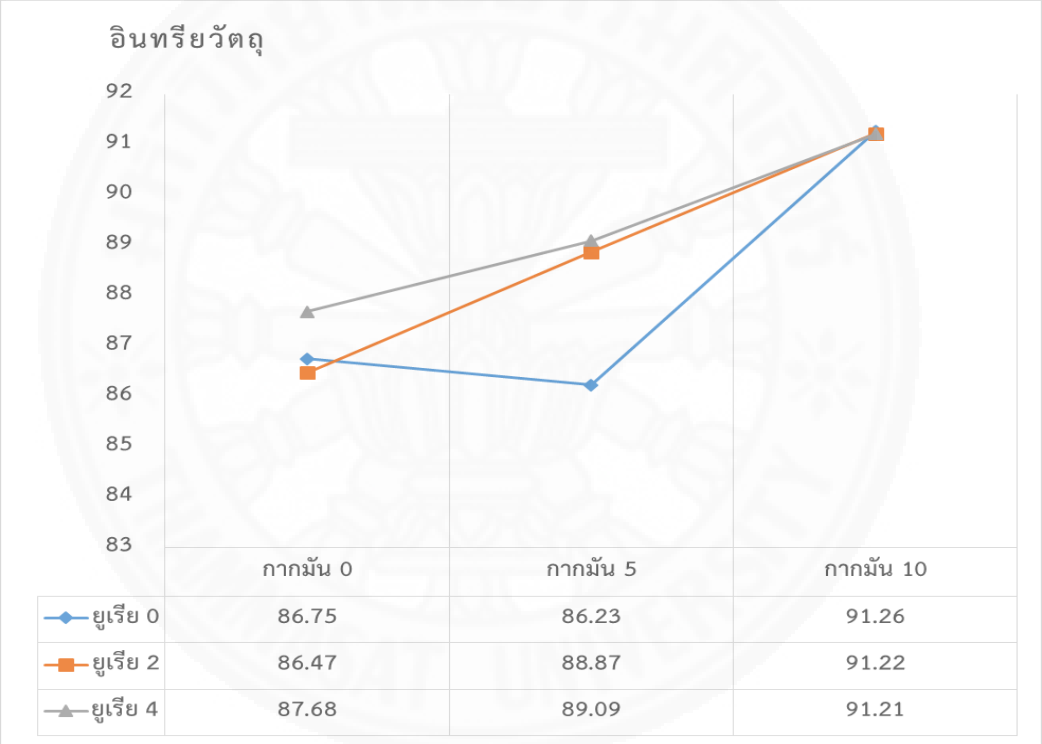
ภาพที่ 4.1 การแสดงอิทธิพลของการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลต่อปริมาณวัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก

4.2.1 ค่าโภชนะของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ

4.2.1.1 วัตถุแห้ง

การเสริมกากมันจากโรงงานเอทานอลมีอิทธิพลต่อปริมาณวัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก (ภาพที่ 4.1; P<0.05) โดยพบว่าปริมาณวัตถุแห้งเพิ่มขึ้นจาก17.75 เป็น 22.05 และ 25.48 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปริมาณกากมันเพิ่มจาก 0 เป็น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่พบอิทธิพลของปัจจัยการเสริมยูเรีย และอิทธิพลร่วมระหว่างการเสริมกากมันและยูเรีย ต่อปริมาณวัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก (ตารางที่ 4.1; P>0.05) ขณะที่หญ้าขนหมักที่ไม่มีสารเสริมมีปริมาณวัตถุแห้ง 17.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ จุฑารัตน์ (2520) ที่ศึกษาการหมักหญ้าขนโดยไม่มีสารเสริมมีปริมาณวัตถุแห้ง 18.07 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มขึ้นของวัตถุแห้งตามปริมาณการเสริมกากมัน

สำปะหลังจากโรงงานเอทานอลนั้นเนื่องมาจากกากมันดังกล่าวเป็นกากมันเป็นกากมันที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งมาแล้ว เมื่อเสริมในระดับที่สูงขึ้นจึงทำให้มีวัตถุแห้งเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม Cullison (1975) กล่าวว่าพืชอาหารสัตว์หมักควรมีวัตถุแห้งอย่างน้อย 25 เปอร์เซ็นต์ หากพืชอาหารสัตว์หมักมีความชื้นที่สูงอาจทำให้เกิดการเจริญของเชื้อ *Clostridium sp.* ซึ่งก่อให้เกิดการเน่าเสียของพืชอาหารหมักได้ (McDonald, 1981) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในครั้งนี้มีเพียงหญ้าขนหมักที่เสริมกากมันสำปะหลัง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่มีวัตถุแห้งไม่น้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ไม่พบการเน่าเสียของหญ้าหมักในกลุ่มอื่นๆในการศึกษาครั้งนี้ด้วยเช่นกัน

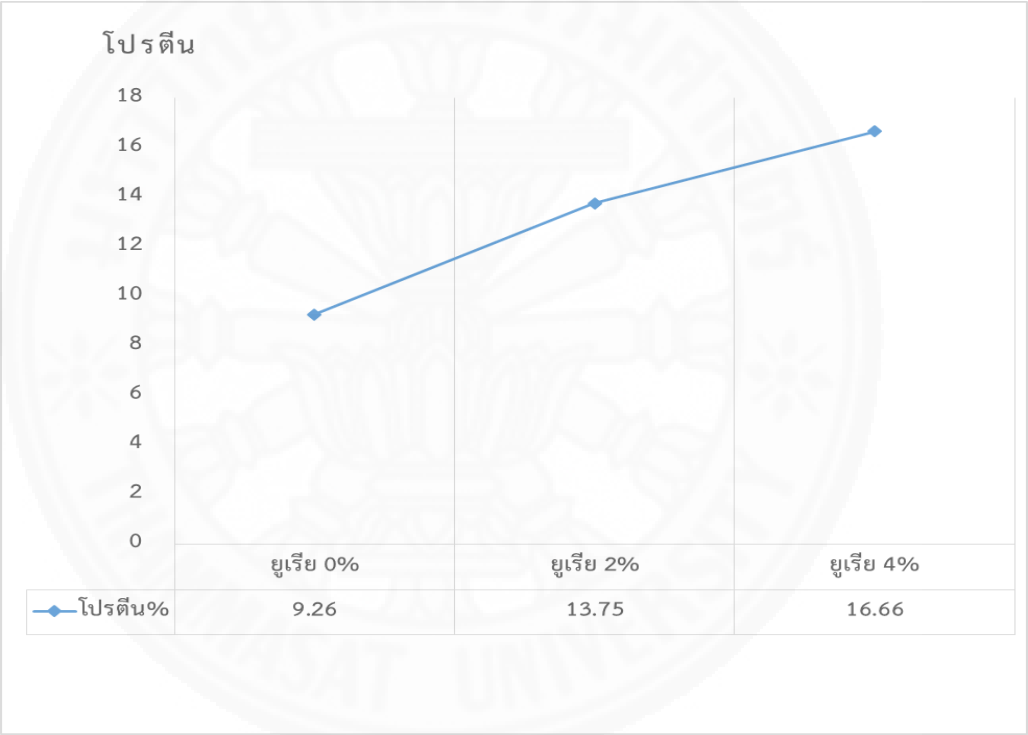


ภาพที่ 4.2 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อปริมาณอินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก

4.2.1.2 อินทรียวัตถุ

การเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณอินทรียวัตถุของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) พบปริมาณอินทรียวัตถุของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้นตามระดับของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่

เพิ่มขึ้น (P<0.05) และพบอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันและการเสริมยูเรียต่อปริมาณอินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก (P<0.05) โดยหญ้าขนหมักที่เสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 0, 2 และ4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอินทรียวัตถุ 91.26, 91.22 และ 91.21 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.2) ขณะที่หญ้าขนที่ไม่มีสารเสริมใดๆ มีปริมาณอินทรียวัตถุ 86.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ ณัฐกิจ และคณะ (2552) ที่รายงานว่าหญ้าขนอายุ 6 สัปดาห์มีปริมาณอินทรียวัตถุ 86.36 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง

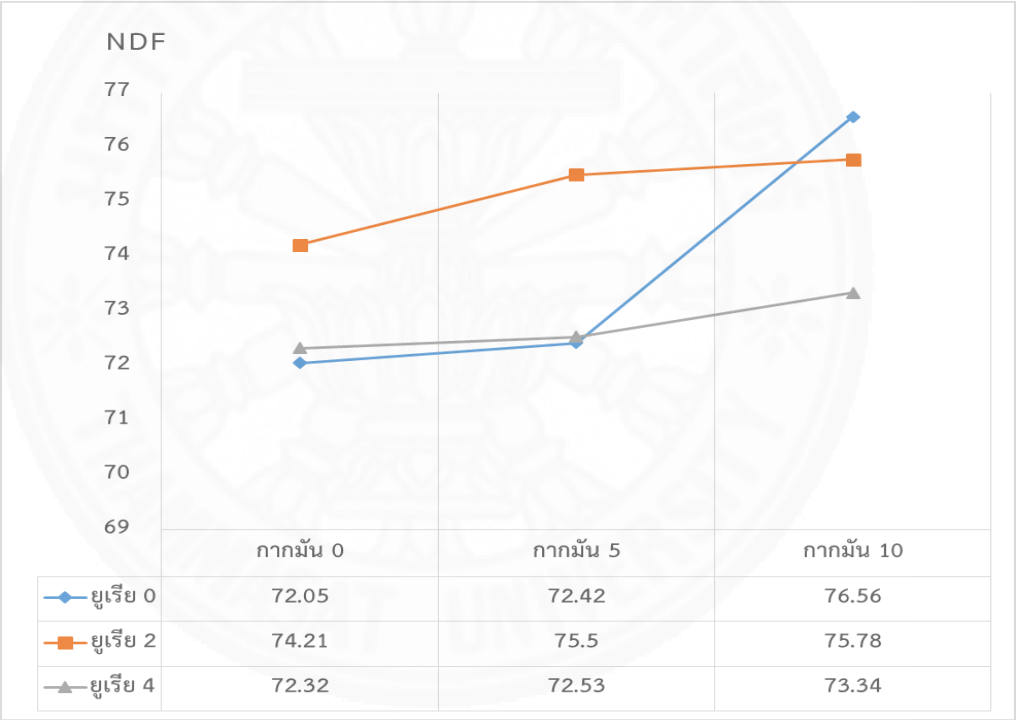


ภาพที่ 4.3 การแสดงอิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อปริมาณโปรตีนในหญ้าขนหมัก

4.2.1.3 โปรตีน

การใช้ยูเรียเป็นสารในการหมักหญ้าขนในระดับที่เพิ่มขึ้น 0, 2, และ 4, เปอร์เซ็นต์ พบว่าทำให้หญ้าขนหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ภาพที่ 4.3) แต่การเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลลงในหญ้าขนหมักนั้นไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีน (P>0.05) ทั้งนี้เนื่องจากกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลมีปริมาณ 9.43

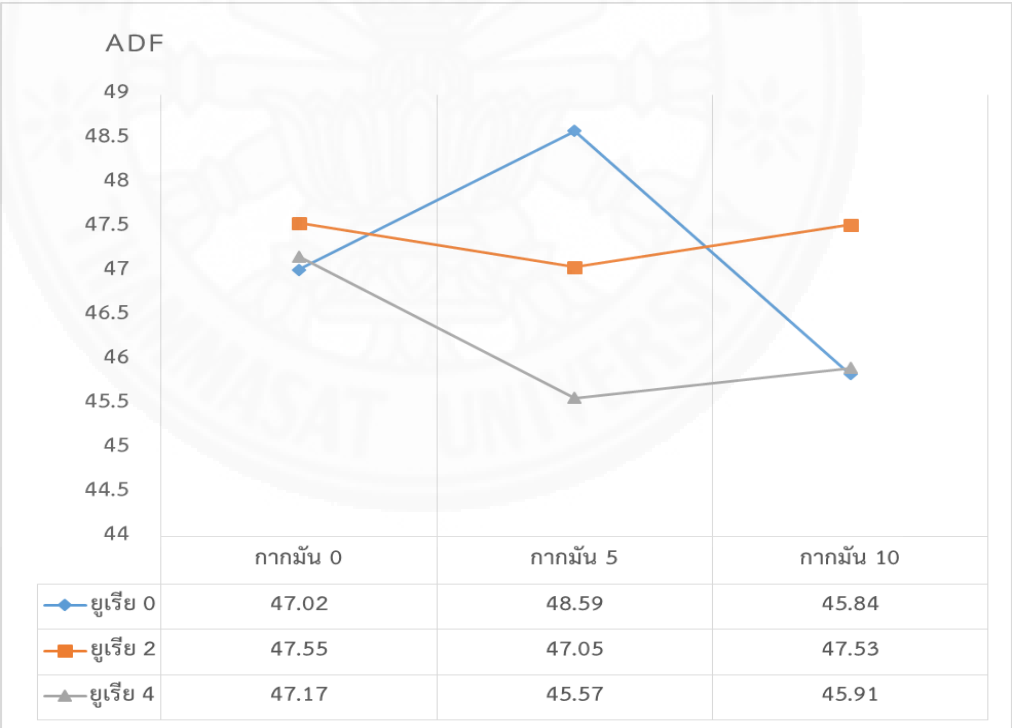
เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีนในหญ้าขนหมักที่ไม่ใช้สารเสริม (9.26 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.3) ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารเสริมทั้งสองชนิดต่อปริมาณโปรตีนในหญ้าขนหมัก (ตารางที่ 4.3) และจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ยูเรียเป็นสารเสริม 4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5-10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน (P>0.05) โดยพบอยู่ในช่วง 18.80-19.25 เปอร์เซ็นต์ แต่มีโปรตีนเพิ่มขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้สารเสริม (ตารางที่ 4.3) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ Islam et. al (2001) ที่ศึกษาการหมักหญ้าข้าวไร (ryegrass) ร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 12.3 เป็น 21.3 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.4 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อปริมาณ NDF ในหญ้าขนหมัก

4.2.1.4 NDF

การเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณ NDF ของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้น (P<0.05) ซึ่งพบปริมาณ NDF ของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้นตามระดับของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่เพิ่มขึ้น (P<0.05) และการเสริมยูเรียลงในหญ้าขนหมัก ส่งผลกระทบต่อปริมาณ NDF ด้วยเช่นกัน (P<0.05) และพบอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันและการเสริมยูเรียต่อปริมาณ NDF ในหญ้าขนหมัก (P<0.05) โดยหญ้าขนหมักที่เสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 0, 2, 4, เปอร์เซ็นต์มีปริมาณ NDF 76.56 75.78 และ 73.34 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.5) อย่างไรก็ตามการเสริมยูเรียร่วมด้วยจะช่วยให้ปริมาณ NDF ลดลง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ ไพบูลย์ (2532) ที่ศึกษาการทำฟางข้าวหมักร่วมกับยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณเยื่อใย NDF ลดลง 3.2 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.5 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อปริมาณ ADF หญ้าขนหมัก

4.2.1.5 ADF

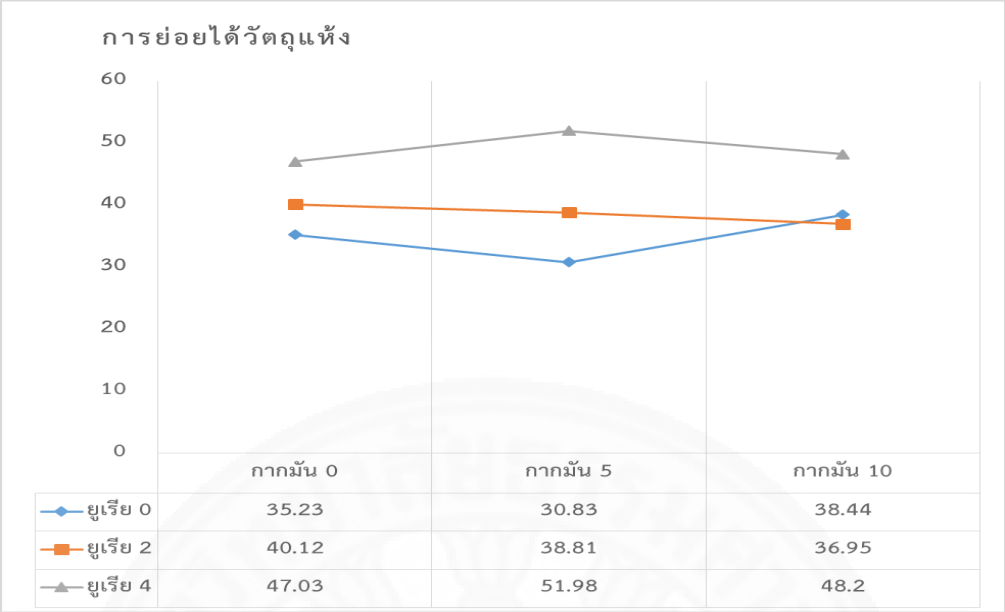
จากการศึกษาการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่ระดับ 0 ,5 ,10 เปอร์เซ็นต์ ไม่ส่งผลต่อปริมาณ ADF ของหญ้าขนหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลมี ADF เท่ากับ 49.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งมากกว่าหญ้าขนหมักที่ไม่มีสารเสริมที่มีปริมาณ ADF 47.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Sath et. al (2013) ที่รายงานว่าหญ้าขนหมักมีปริมาณ ADF 46 เปอร์เซ็นต์ แต่การที่เสริมกากมันสำปะหลังที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอลลงไปแล้วไม่ทำให้ ADF เพิ่มขึ้นนั้นน่าจะมาจากการที่กากมันจากกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล มีค่าความเป็นกรดที่สูง (กัญญา และวราพันธ์, 2552) จึงทำให้ ADF ลดลง ขณะที่การใช้ยูเรียเป็นสารในการหมักหญ้าขนในระดับที่เพิ่มขึ้น 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าส่งผลให้หญ้าขนหมักมีปริมาณ ADF เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดย ADF จะลดลงตามระดับการเสริมยูเรียที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากยูเรียจะแตกตัวเป็นแอมโมเนีย ทำให้ผนังเซลล์อ่อนตัวลงและย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ภายในเซลลูโลส ทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายเยื่อใยได้ดีขึ้นจึงทำค่าลิกโนเซลลูโลสเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักจึงลดลง (Muck, 1988) และพบอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียทำให้ปริมาณ ADF ในหญ้าขนหมักมีแนวโน้มลดลงโดยเฉพาะการใช้ยูเรียเป็นสารเสริม 4 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกากมันสำปะหลังจากการผลิตเอทานอล 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ ADF น้อยที่สุด (45.57 และ 45.91 เปอเซ็นต์) ดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ วิทยา และคณะ (2550) ที่ทำการทดลองหมักยอดอ้อยร่วมกับยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีปริมาณเยื่อใย ADF ลดลงจาก 78.94 เป็น 73.73 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 ค่าโภชนะของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ

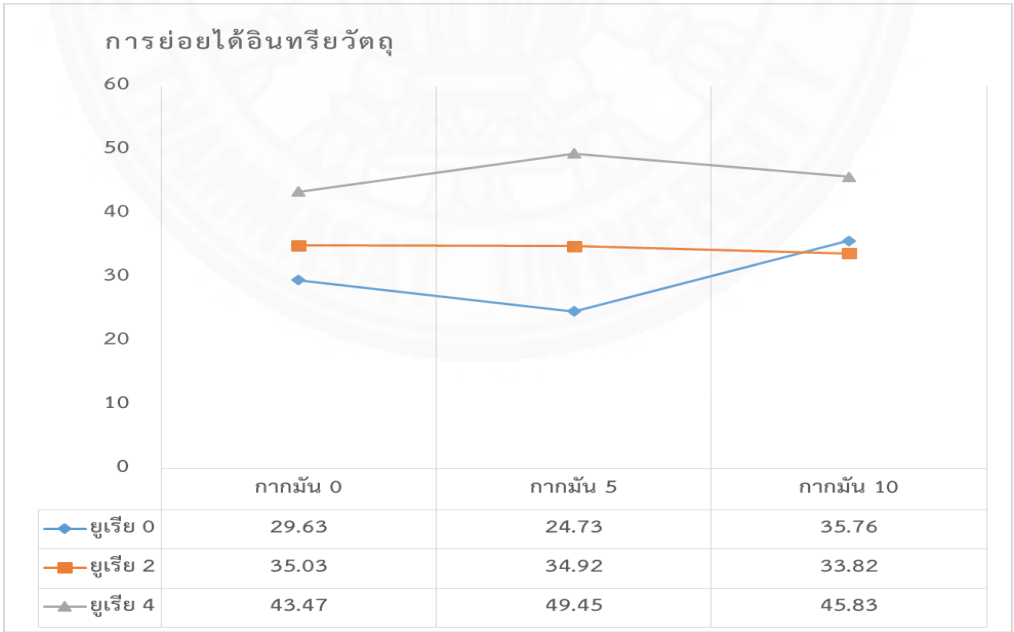
	ทรีตเม้นต์											
เสริมกากมัน (A)	0			5			10			ปัจจัย		
เสริมยูเรีย (B)	0	2	4	0	2	4	0	2	4	A	B	A*B
วัตถุแห้ง (%)	17.75^{c}	16.26^{cd}	16.82^{cd}	22.05^{b}	22.76^{b}	23.11^{b}	25.48^{a}	24.38^{a}	25.53^{a}	**	NS	NS
อินทรียวัตถุ (% ของวัตถุแห้ง)	86.75^{cd}	86.47^{d}	87.68^{c}	86.23^{d}	88.87^{b}	89.09^{b}	91.26^{a}	91.22^{a}	91.21^{a}	**	**	**
โปรตีน (% ของวัตถุแห้ง)	9.26^{d}	13.75^{c}	16.66^{b}	9.80^{d}	13.35^{c}	19.25^{a}	9.72^{d}	13.09^{c}	18.80^{a}	NS	**	NS
NDF (% ของวัตถุแห้ง)	72.05^{d}	74.21^{bc}	72.32^{d}	72.42^{cd}	75.50^{ab}	72.53^{cd}	76.56^{a}	75.78^{ab}	73.34^{cd}	**	**	**
ADF (% ของวัตถุแห้ง)	47.02^{bcd}	47.55^{ab}	47.17^{bc}	48.59^{a}	47.05^{bcd}	45.57^{e}	45.84^{ed}	47.53^{ab}	45.91^{cde}	NS	**	**

^{abcde} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนตามตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

A = กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล, B = ยูเรีย, AB = อิทธิพลร่วมกันของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลและยูเรียที่ใช้เป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก



ภาพที่ 4.6 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้วัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก

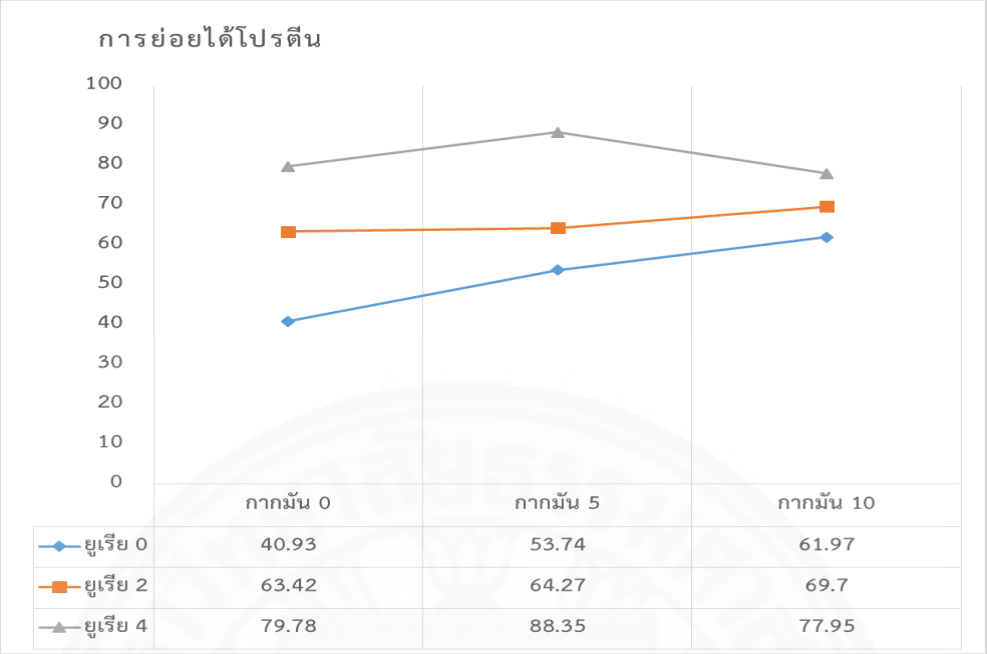


ภาพที่ 4.7 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้อินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก

4.2.2 การย่อยได้ของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ

4.2.2.1 การย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ

การเสริมกากมันจากโรงงานเอทานอลที่ระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ไม่ส่งผลต่อการย่อยได้วัตถุแห้งในหญ้าขนหมัก (P>0.05) โดยพบว่าการเสริมกากมันจากโรงงานเอทานอลที่ระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีการเสริมยูเรียมีค่าการย่อยได้วัตถุแห้งเท่ากับ 35.23 30.83 และ 38.44 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.6) ขณะที่การเสริมยูเรียเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณการย่อยได้วัตถุแห้งของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้น (P<0.05) โดยพบว่าการย่อยได้วัตถุแห้งของหญ้าขนหมักจะเพิ่มขึ้นตามระดับของยูเรียเพิ่มขึ้น (P<0.05) อย่างไรก็ตามการเสริมกากมันจากโรงงานเอทานอลที่ระดับ 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์มีอิทธิพลต่อการย่อยได้อินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก (P<0.05) โดยที่การเพิ่มขึ้นของค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุน่าจะเกิดจากกากมันสำปะหลังมีการย่อยได้อินทรียวัตถุ 45.47 เปอร์เซ็น (ตารางที่ 4.2) มากกว่าหญ้าขนหมักที่ไม่ใส่สารเสริมใดๆ ที่มีค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุเพียง 29.63 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้หญ้าขนหมักที่เสริมด้วยกากมันสำปะหลัง 10 เปอร์เซ็นต์มีค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นเป็น 35.76 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4) เช่นเดียวกับการเสริมยูเรียลงในหญ้าขนหมักพบว่าปริมาณยูเรียที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่าการย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และพบอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันและการเสริมยูเรียต่อปริมาณการย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุในหญ้าขนหมัก (P<0.05) โดยหญ้าขนหมักที่เสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 0, 2, 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณการย่อยได้ วัตถุแห้งเท่ากับ 30.83, 38.81 และ 51.98 เปอร์เซ็นต์ และค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุเท่ากับ 24.73, 34.92 และ 49.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6, 4.7) โดยการเสริมยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ ลงในหญ้าขนหมักทำให้หญ้าหมักมีค่าการย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุสูงสุด การย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากปริมาณ ADF ที่ลดลง ดังที่แสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ Wanapat (1987) ที่รายงานการหมักฟางข้าวร่วมกับยูเรียในระดับที่สูงขึ้นพบว่าสามารถเพิ่มค่าการย่อยได้วัตถุแห้งและอินทรีย์วัตถุได้สูงขึ้นตามระดับของการเสริมยูเรีย ซึ่งเป็นผลมาจากการเสริมยูเรียแล้วยูเรียจะแตกตัวเป็นแอมโมเนียทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของหญ้าหมักสูงขึ้น จึงทำให้จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายหญ้าหมักได้ดีขึ้น (เสาวลักษณ์ และคณะ, 2555)

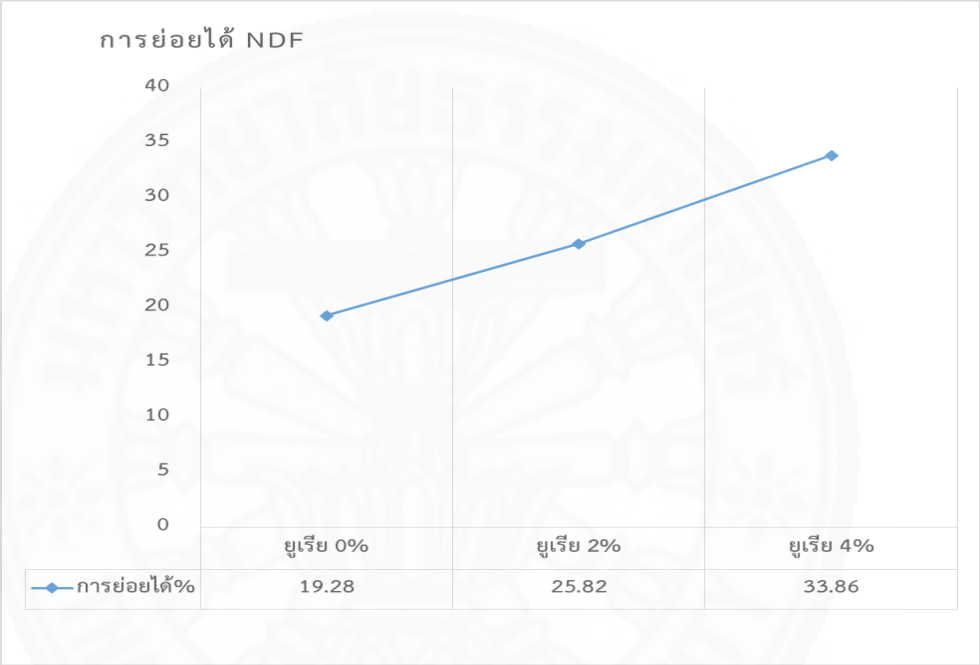


ภาพที่ 4.8 การแสดงอิทธิพลร่วมกันระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้โปรตีนในหญ้าขนหมัก

4.2.2.2 การย่อยได้โปรตีน

การเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณการย่อยได้โปรตีนของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้น (P<0.05) โดยค่าการย่อยได้โปรตีนที่ของหญ้าขนหมักที่เสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 0, 5, 10 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 40.93 53.74 และ 61.97 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) โดยการย่อยได้โปรตีนที่เพิ่มขึ้นตามระดับของการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลนั้นน่าจะเกิดจากกากมันสำปะหลังดังกล่าวมีค่าการย่อยได้โปรตีนมากกว่าหญ้าขน เมื่อนำมาหมักร่วมกับกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนที่เพิ่มจึงทำให้มีการย่อยได้โปรตีนที่มากขึ้นตามไปด้วย และหญ้าขนหมักที่มีการเสริมด้วยยูเรีย 0, 2, และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถทำให้การย่อยได้โปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยการเสริมยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 0, 5, 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการย่อยได้โปรตีนเท่ากับ 79.78 88.35 และ 77.95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของบุญเสริม และบุญล้อม (2535) ที่ศึกษาค่าการย่อยได้โปรตีนของฟางข้าวหมักร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์พบว่าสามารถเพิ่มค่าการย่อย

ได้โปรตีนในกระเพาะรูเมนจาก 23.2 เป็น 54.9 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการเสริมยูเรียลงไปในหญ้าขนหมักนอกจากจะทำให้มีปริมาณไนโตรเจนที่สูงแล้วยังทำให้ลิกโนเซลลูโลสเป็นส่วนของพืชอาหารสัตว์ที่ประกอบไปด้วย เซลลูโลส, ลิกนิก, เคราติน, ซิลิก้า และสารประกอบไนโตรเจนที่มีลิกนินแทรกอยู่ถูกทำลาย (อังคณา และดวงสมร, 2532) ทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยสลายโปรตีนในเซล์พืชได้ดีขึ้นจึงทำให้มีการย่อยได้โปรตีนในกระเพราะรูเมนสูงขึ้นตามด้วย

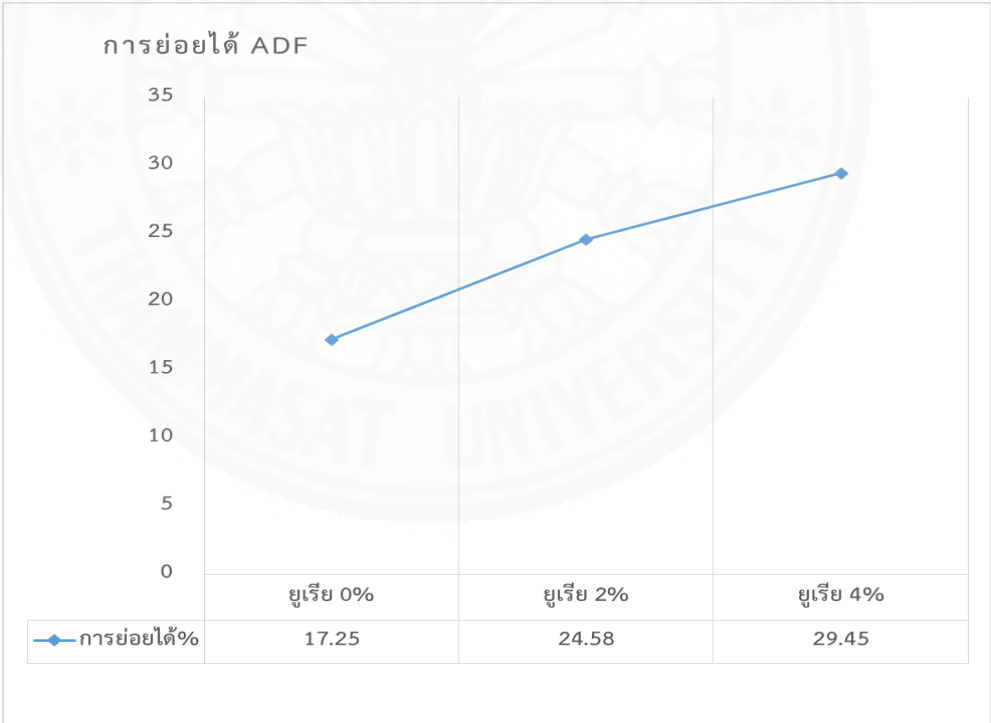


ภาพที่ 4.9 การแสดงอิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้ NDF ในหญ้าขนหมัก

4.2.2.3 การย่อยได้ NDF และ ADF

การหมักหญ้าขนร่วมกับกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่ระดับ 0, 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ไม่ส่งผลต่อการย่อยได้ NDF และ ADF ในหญ้าขนหมัก (ภาพที่ 4.9 และ 4.10 ;P>0.05) โดยหญ้าขนหมักกลุ่มที่ไม่เสริมยูเรียมีค่าการย่อยได้ ADF เท่ากับ 17.25 15.89 และ 21.62 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าการย่อยได้ NDF เท่ากับ 19.28 23.16 และ 24.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ในขณะที่การเสริมยูเรียเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าการย่อยได้ NDF และ ADF ของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้น (P<0.05) และพบว่าค่าการย่อยได้ NDF และ ADF ของหญ้าขนหมักเพิ่มขึ้นตามระดับของยูเรียที่เพิ่มขึ้น (P<0.05) โดยที่ไม่พบอิทธิพลร่วมกัน

ระหว่างการเสริมกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้ NDF และ ADF ในหญ้าขนหมัก (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.9, 4.10) โดยการเสริมยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าการย่อยได้ NDF และ ADF เพิ่มมากที่สุดและการเสริมยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์มีค่าการย่อยได้ NDF และ ADF เท่ากับ 39.25 และ 36.39 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าการย่อยได้ NDF และ ADF นั้นเนื่องจากยูเรียที่เสริมลงไปเกิดการแตกตัวเป็นแอมโมเนีย เมื่อรวมตัวกับน้ำเกิดแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ สามารถทำให้ผนังเซลล์อ่อนตัวลงและย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ภายใน cellulose และ hemicellulose ทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายเยื่อใยได้ดีขึ้น ทำให้ค่าลิกโนเซลลูโลส เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักจึงลดลง (Muck, 1988) จึงทำให้เกิดการย่อยได้ของผนังเซลล์พืชในกระเพาะรูเมนดีขึ้น และเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับรายงานของ Brown et. al (1987) ที่ศึกษาการเสริมแอมโมเนีย 4 เปอร์เซ็นต์ลงในพืชอาหารสัตว์หมักพบว่าช่วยเพิ่มค่าการย่อยได้ NDF และ ADF ได้ 10.12 และ 11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ



ภาพที่ 4.10 การแสดงอิทธิพลของการเสริมยูเรียต่อการย่อยได้ ADF ในหญ้าขนหมัก

ตารางที่ 4.4 ค่าโภชนะของหญ้าขนหมักเสริมด้วยกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียในระดับต่างๆ

	ทรีตเม้นต์											
เสริมกากมัน (A)	0			5			10			ปัจจัย		
เสริมยูเรีย (B)	0	2	4	0	2	4	0	2	4	A	B	A*B
การย่อยได้วัตถุแห้ง (%)	35.23^{bc}	40.12^{b}	47.03^{a}	30.83^{c}	38.81^{b}	51.98^{a}	38.44^{b}	36.95^{b}	48.20^{a}	NS	**	**
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (%)	29.63^{bc}	35.03^{b}	43.47^{a}	24.73^{c}	34.92^{b}	49.45^{a}	35.76^{b}	33.82^{b}	45.83^{a}	**	**	**
การย่อยได้โปรตีน (%)	40.93^{f}	63.42^{cd}	79.78^{b}	53.74^{e}	64.27^{cd}	88.35^{a}	61.97^{d}	69.70^{c}	77.95^{b}	**	**	**
การย่อยได้ADF (%)	17.25^{ed}	24.58^{bcd}	29.45^{abc}	15.89^{e}	23.78^{bcde}	36.39^{a}	21.62^{cde}	18.22^{ed}	30.12^{ab}	NS	**	NS
การย่อยได้NDF (%)	19.28^{d}	25.82^{bc}	33.86^{a}	23.16^{bcd}	27.91^{b}	39.25^{a}	24.11^{bcd}	21.45^{dc}	35.48^{a}	NS	**	NS

^{abcde} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนตามตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

A = กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล, B = ยูเรีย, AB = อิทธิพลร่วมกันของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลและยูเรียที่ใช้เป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมัก

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ผลการทดลองที่ 1 จากการศึกษาการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ สามารถสรุปได้ว่าจุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง โดยที่การหมักเชื้อรา *R. oryzae* เป็นเวลา 8 วันช่วยปรับปรุงให้ค่าโภชนะโปรตีน การย่อยได้วัตถุแห้ง การย่อยได้อินทรียวัตถุ การย่อยได้โปรตีน การย่อยได้ NDF และการย่อยได้ ADF สูงที่สุด ซึ่งสามารถที่จะนำไปใช้หรือเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ได้

5.1.2 ผลการทดลองที่ 2 การใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริมในการทำหญ้าขนหมักนั้น สามารถสรุปได้ว่าการใช้การใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับยูเรีย 4 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าโภชนะโปรตีนสูงสุด และมีปริมาณ NDF ADF ต่ำที่สุดค่าการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน NDF และ ADF สูงที่สุด กระบวนการผลิตหญ้าขนหมักที่มีสารเสริมทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว จะเป็นทางเลือกในการผลิตแหล่งอาหารหยาบคุณภาพดีให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉะพาะในช่วงฤดูแล้ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษาครั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น T. *viride* เห็ดชนิดต่าง และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการใช้จุลินทรีย์มากกว่า 1 ชนิดร่วมกัน

5.2.2 การศึกษาครั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมการใช้สารเสริมคือกากมันสำปะหลังจากโรงงานผลิตเอทานอลและยูเรียในการหมักพืชอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ

5.2.3 ผลที่ได้จากการทดลองนี้ควรนำไปศึกษาต่อในสัตว์

รายการอ้างอิง

ไกรสิทธิ วสุเพ็ญ, ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส, เสมอใจ บุรีนอก, จำลอง มิตรชาวไทย และเฉลิมพล เยื้องกลาง. 2556. ผลของการทดแทนอาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกรรุ่นด้วยหญ้าหมักต่อสมรรถภาพการผลิตและการย่อยได้ของโภชนะในสุกรพื้นเมือง. สัตวแพทย์มหานครสาร 8(2): 89-101.

จรัญ ฉัตรมานพ, เกษณีย์ เอี่ยมรักษาเกียรติ์, จิราภา จันทร์อำภากุล และเพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. 2547. การหมักกากมันสำปะหลังในถังหมักแพคเบด. วิศวกรรมสาร มก. 53:44-54.

จารุวรรณ สนมวัฒนะวงค์. 2548. เอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสในเห็ดนางรม (*P. ostreatus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิรชยา บุญญฤทธิ์, ณัฐกานต์ นิตยพัธน์ และอมรรัตน์ พรหมบุญ. 2554. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous.* บนเหง้ามันโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิรวรรณ คำด้วง, สมคิด พรหมมา, บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และบุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2549. การเสริมหญ้ารูซี่แห้งด้วยใบมันสำปะหลังแห้งหรือหมักเพื่อเป็นอาหารหยาบเลี้ยงโคที่ให้นมปานกลาง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาสัตว์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จุฑารัตน์ ศรีพรหมมา. 2520. การศึกษาคุณค่าทางอาหารของหญ้าขนหมักที่เติมและไม่เติมสารช่วยหมักต่างชนิดกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ชัยชนะ ตรีทิตย์นิภา, วิโรจน์ ภัทรจินดา, มนต์ชัย ดวงจินดา, ยุพิน ผาสุก และงามนิจ นนทโส. 2553. การใช้ *B. licheniformis* ที่คัดแยกได้จากกระเพาะรูเมนเพื่อเพิ่มการย่อยได้ของอาหารสูตรรวมในระบบ *in vitro*. แก่นเกษตร 38: 1 – 5.

ณรกมล เลาห์รอดพันธ์, โชค มิเกล็ด, ณัฐพล จงกสิกิจ, จิรวัฒน์ พัสระ, เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ, วิสูตร ศิริณุพงษานันท์ และอำพล วริทธิธรรม. 2556. ผลของระดับการใช้กากมันสำปะลังแห้งจากการผลิตเอทานอลในสูตรอาหารต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักและการย่อยได้ในโคพื้นเมืองเจาะกระเพาะ. วารสารเกษตร 29(1): 89 - 98.

ดุจดาว คนยัง และ พิชิตร์ วรรณคำ. 2553. การใช้ประโยชน์จากหญ้าแฝกเพื่อเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

ดำเกิง ป้องพา. 2547. การผลิตเห็ด. ภาควิชาพืชสวน. คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

ทรงศักดิ์ จำปาวะดี, อรวรรณ ชินราศรี, อาณัติ จันทร์ถิระติกุล, ขนิษฐา เรืองวิทยานุสรณ์, ทัศน์วรรณ สมจันทร์ และ สุวรรณี แสนทวีสุข. 2555. ผลของการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังโปรตีนสูงที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพในสูตรอาหารต่อสมรรถนะการผลิตนกกระทาญี่ปุ่น. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.

ธนาคารแห่งประเทศไทย. 2556. รายงานสถานการณ์เอทานอลปี 2556 และแนวโน้มปี 2557. ส่วนเศรษฐกิจภาค. แหล่งข้อมูล www.bot.or.th. ค้นเมื่อ 20 กรกฎาคม 2557.

ธนิตพันธ์ พงษ์จงมิตร, นนทศักดิ์ เปี่ยมผล และรัชนีวรรณ วรจินดา. 2554. การใช้มันเส้นและพืชอาหารสัตว์หมักเชื้อจุลินทรีย์เป็นอาหารเสริมโครุ่นในฤดูแล้ง. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 23. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน, นครราชสีมา.

นภา โล่ห์ทอง. 2534. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. ภาคจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นฤมล สมคุณา, จรัส สว่างทัพ, จิรประภา รอดจากเข็ญ และสุรศักดิ์ อุตรวิเชียร. 2557. การศึกษาการเพิ่มระดับโปรตีนของกากมะพร้าวสดและแห้ง โดยกระบวนการหมักยีสต์และยูเรีย. แก่นเกษตร 42(1): 290 – 294.

นัฐกานต์ โคตรชมภู, ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส, เฉลิมพล เยื้องกลาง, เสมอใจ บุรีนอก, เกศรา อำพาภรณ์, ชเวง สารคล่อง และไกรสิทธิ วสุเพ็ญ. 2555. การใช้หญ้าหมักทดแทนในอาหารสุกรต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และการย่อยได้ของโภชนะในสุกรพื้นเมือง. แก่นเกษตร 40(2) : 507-511.

นิรันดร หนักแดง. 2557. ผลของหญ้าซิกแนลเลื้อยหมักร่วมกับเยื่อในสาคูที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพ เจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงค่าชีวเคมีในกระแสเลือดของแพะ. แก่นเกษตร 42(2): 378-384.

นิวัต เรืองพานิช. 2543. วิทยาศาสตร์ทุ่งหญ้า. โรงพิมพ์รั้วเขียว. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

น้ำฝน ปราการสมบัติ, วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์ และณัฐกานต์ นิตยพัธน์. 2555. ผลกระทบของความชื้นและรูปร่างก้อนกากส้มต่อการเจริญของ *L. Polychrous* บนกากส้ม. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2535. ยูเรีย-กากน้ำตาล หัวอาหารเข้มข้นชนิดก้อน 1. ผลการเสริมที่มีต่อการย่อยได้ของฟาง. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสต์ครั้งที่ 30 สาขาสัตว์ สัตวแพทยศาสตร์ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญส่ง เลิศรัตนพงศ์, วิทยา สุมามาลย์, วิโรจน์ ฤทธิ์ฤาชัย และรำไพร นามสีลี. 2555. การศึกษาคุณภาพของพืชหมักในถุงพลาสติกดำที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ. รายงานผลงานวิจัยสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ. 2555. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ปัทมา พลอยสว่าง และภคมน จิตประเสริฐ. 2551. อิทธิพลของสภาวะแวดล้อมและการกระตุ้นการเจริญต่อการกำจัดสีย้อมผ้าโดย *L. polychrous* ที่ผ่านการทำแห้งแบบฟลูอิไดซ์. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพฯ.

ปราโมทย์ แพงคำ. 2533. การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารเสริมในอาหารร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ในท้องถิ่นต่อสมรรถภาพการผลิตแพะเนื้อ. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

ปิติกานต์ วิสิษฐ์ศักดิ์. 2551. การลดลิกนินและการผลิตเอนไซม์ลิกนินโนไลติกในระหว่างการหมักเปลือกเมล็ดทานตะวันโดยเห็ดลม *L. polychrous.* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, นครศรีธรรมราช.

ปิตุนาถ หนูเสน. 2547. การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในอาหารข้นต่อการให้ผลผลิตของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์. 2544. การศึกษาการนำผลพลอยได้ทางการเกษตรมาผลิตเป็นอาหารผสมสำเร็จรูปหมักสำหรับเลี้ยงโคนมในช่วงฤดูแล้งในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปิตุนาถ หนูเสน และวิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. การใช้กากมันสำปะหลังในอาหารโคนม. วารสารศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 4(7): 1-5.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2555. เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร. คณะวิศวกรรมศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

พงษเทพ อริยเจริญวงศ, ลักขณา เหล่าไพบูลย์ และพัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2553. กลยุทธ์การผลิตเอทานอลความเข้มข้นสูงของยีสต์โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ. วารสารศูนย์บริการวิชาการ 18(1):31-36.

ไพบูลย์ ใจเด็ด. 2532. ผลของการใช้ฟางหมักยูเรียและ/หรืออาหารเสริมที่มีต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ และสมรรถภาพการทำงานของกระบือใช้งาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ไพบูลย์ แดงท่าขาม. 2551. การใช้มันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในการขุนโคนมลูกผสมเพศผู้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, จิรัฏฐวัฒน์ ศรีอ่อนเลิศ, วุฒิกร สระแก้ว และวรางคณา กิจพิพิธ. 2557. การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากปาล์มน้ำมันมันรวมโดยใช้ยีสต์ และบาซิลัสซับติลิสเพื่อเป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับสัตว์. รายงานวิจัย. คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยศิลปากร, เพชรบุรี.

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, วรางคณา กิจพิพิธ, อณัญญา ปานทอง และกฤติยา เลิศชุณหเกียรติ. 2556. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเศษเหลือกากกะทิโดยใช้ยีสต์และบาซิลัสซัปติลิส เพื่อพัฒนาเป็นอาหารสัตว์. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, กรุงเทพฯ

เมฆ ขวัญแก้ว, พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ และวิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2553. การใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารหยาบหมัก. รายงานวิย. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์.มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

เมธา วรรณพัฒน์, ฉลอง วชิราภากร, พิทยา ปาละนิตย์ และเวชสิทธิ์ โทบุราณ. 2535. ผลการเสริมยูเรีย/กากน้ำตาลและฟางหมักต่อปริมาณการกินได้และการหมักในกระเพาะของโคพื้นเมืองที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลัก. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น

ยิ่งลักษณ์ คุ้มสุพรรณ. 2543. ผลการปรับปรุงคุณภาพหญ้าแฝกโดยเชื้อเห็ดนางฟ้า (*P. sajorcaju*) ต่อการยอมรับการใช้ประโยชน์โภชนะในแกะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาสัตวบาล. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วริยา โกสุม, นารีรัตน์ เจริญวัฒนสกุล, ยุวเรศ เรืองพานิช, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง และเสกสม อาตมางกูร. 2552. คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของกากมันสำปะหลัง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตว์และสัตวแพทย์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วรัมพร วงศ์สุดิน, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูฎ่น. 2553. การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของธัญพืชหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum*. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

วรางคณา แดนสีแก้ว และฉลอง วชิราภากร. 2557. ผลของการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) และเชื้อรา (*A. niger*) ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส. รายงานวิจัย. สาขาวิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วราพันธุ์ จินตณวิชญ์, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, ฤทัยชนก มากระนิตย์, สุกัญญา ศรีมงคลงาม และณัฐฐา วิวัฒน์วงศ์วนา. 2549. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์ในระหว่างการหมักกากมันสำปะหลัง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44.สาขาสัตว์และสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิชัย สุทธิธรรม, ธำรง เปรมปรีดิ์, กุศล ประกอบการ, ดรุณี ศรีชนะ, ไพโชค ปัญจะ และวนารัตน์ กรอิสรานุกูล. 2553. ศึกษาการผลิตข้าวโพดหมักจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 18(4): 12-23.

วิทยา สุมามาลย์, ทวีศักดิ์ ชื่นปรีชา และไพบูลย์ พลบุญ. 2550. การใช้ยอดอ้อยหมักยูเรียเป็นอาหารเลี้ยงโคเนื้อในช่วงฤดูแล้ง. รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1 – 9.

วิรชัย พลโรม, อุษา กลิ่นหอม และชูศรี ตลับมุข. 2536. การใช้กากมันสำปะหลังหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์ในอาหารไก่ไข่. รายงานวิจัย. ภาคชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, มหาสารคาม.

ศศิธร เจาะจง, ศุภชัย อุตซาชน และรำไพร นามสีลี. 2556. คุณค่าทางโภชนะ และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ของกากมันเอทานอลในโคเนื้อ. งานมหกรรมปศุสัตว์แห่งชาติปี 2556. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุภกิจ สุนาโท, วิโรจน์ ภัทรจินดา, พรชัย ล้อวิลัย และงามนิจ นนทโส. 2555. การศึกษาการเพิ่มโปรตีนกากเอทานอลจากมันสำปะหลังด้วยการหมักยีสต์. แก่นเกษตร 40(2): 183-186.

ศุภมาศ โชติเมธีภิรมย์, ชัยณรงค์ คันธพนิต และสายัณห์ ทัดศรี. 2535. ผลของการเติมเอนไซม์ต่อการเก็บรักษาและคุณค่าอาหารของหญ้าขน ข้าวโพด ข้าวฟ่างและหญ้าไข่มุกหมัก.รายงานวิจัย. ภาควิชาสรีระวิทยา. คณะสัตวแพทย์ศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์บริหารศัตรูพืช จังหวัดนครราชสีมา. 2557. เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*. แหล่งข้อมูล www.pmc05.doae.go.th/bs.pdf. ค้นเมื่อ 20 กรกฎาคม 2557,

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. 2549 การนำของเสียจากการผลิตเอทานอลมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่า. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สายัณห์ ทัดศรี. 2540. พืชอาหารสัตว์เขตร้อน การผลิตและการจัดการ. ภาควิชาชาไร่นา. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 534 หน้า.

สายัณห์ ทัดศรี. 2542. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไซเลจ. *ใน* สุนีย์ นิธิสิริประเสริฐ. เทคนิคการทำต้นข้าวโพดหมักโดยสารเร่งทางชีวภาพ. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

สายัณห์ ทัดศรี. 2548. หญ้าอาหารสัตว์และหญ้าพื้นเมืองในประเทศไทย. ภาควิชาชาไร่นา. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. 336 หน้า.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และวราพันธ์ จินตณวิชญ์. 2552. การใช้ประโยชน์เศษเหลือจากมันสำปะหลัง. ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 48 หน้า.

สุวิชา กัลยาณมิตร. 2548. การหมักกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังจากเซลล์ตรึงเชื้อรา *R. oryzae* KPS 106 ในถังหมักแบบลอยตัว. วิทยานิพนน์ปริญญาโท. ภาควิชาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธิรักษ์ ศรีกุลธนากิจ. 2551. การศึกษาสภาวะและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการย่อยขนไก่ด้วย *Bacillus licheniformis* FK50. รายงานวิจัย. สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ และอรพิน สุขพิริยกุล. 2548. รายงานการวิจัยการประยุกต์ใช้เอนไซม์ย่อยสลายจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ไทยที่มีประสิทธิภาพสูงในอาหารสัตว์ปีก. รายงานวิจัย. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุพัตรา รัตนตระกูลเดชา. 2540. การเพิ่มวิตามินบี 12 ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Rhizopus* ที่ผลิตกรดแลกติกและ *Propionibacterium shermanii* ATCC 13673. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุภัตรา โอกระโทก. 2556. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

สินีนาฏ พลโยราช และเมธา วรรณพัฒน์. 2558 ศักยภาพในการใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรไบโอติกส์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. แก่นเกษตร 43(1) : 191-206.

เสมอใจ บุรีนอก, คำสอน สีสะอาด, วรางคณา หอมไสย, ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส, เฉลิมพล เยื้องกลาง และไกรสิทธิ วสุเพ็ญ. 2554. คุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนะของหญ้ากินนีสีม่วงและถั่วอาหารสัตว์หมัก. รายงานวิจัย. สาขาวิชาสัตวศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน, สกลนคร.

สมสุข พวงดี, สมคิด พรหมมา, บุญลอม ชีวะอิสระกุล และบุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2546. การใชกากน้ำตาลและหรือน้ำนมเปนสารชวยหมักตอคุณภาพและคาพลังงานของหญ้ารูซี่หมัก. รายงานวิจัย. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อังคณา หาญบรรจงและดวงสมร สินเจิมศิริ. 2532. การวิเคราะห์และปริมาณคุณภาพอาหารสัตว์. าควิชาสัตวบาล. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 253 น.

อังคณา หาญบรรจง, เพ็ญแข วันไชยธนวงศ, สุนีย นิธิสินประเสริฐ และ สมจติร ถนอมวงศวัฒนะ. 2549. คุณภาพของหญาหมักและการยอมรับตอภาชนะหมักชนิดตางๆของเกษตรกรผูเลี้ยงโคนม. รายงานวิจัย. ภาควิชาสัตวบาล. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

องอาจ สองสี, สุชน ตงั้ทวีวิพัฒน และ บุญลอม ชีวะอิสระกุล. 2550. ผลของการใชใบกระถินหมักและใบปอสาหมักในอาหารสุกรรุ่น-ขุน. รายงานวิจัย. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Adamovic, M. 1997. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. Animal Feed Science Technology 71: 357–362.

Akindahunsi, A. A., Oboh, G. and Oshodi, A. A. 1999. Effect of fermenting cassava with *R.* oryzae on the chemical composition of its flour. Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse. 76: 437-448.

Andrietta, M.G.S., Andrietta, S.R. Steckelberg, C and E.N.A. Stupiello. 2007. Bioethanol-Brazil, 30 years of Proalcool. International Sugar Journal 109: 195-200.

AOAC. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th edition, Association of official analytical chemists Inc., Arlington, Virginia. 771 p.

Belewu, M.A. and Babalola, F.T. 2009. Nutrient enrichment of waste agricultural residues after solid state fermentation using *Rhizopus oligosporus*. Journal of Applied Biosciences 13: 695-699.

Brook,E.J., Stanton W.R and Wallbrige, A. 1969. Fermentation method for protein enrichment of cassava. Biotechnology and Bioengineering 11(6): 1271-1284.

Brown, W. F., Phillips, J. D and Jones, D. B. 1987. Ammoniation or cane molasses supplementation of low quality forages. Journal of Animal Science 64(4): 1205-1214.

Cullison, A. 1975. Feed and Feeding. Reston Publ. Co., Virginia. 628 p.

Chen, W., Zhao, Z and Li, Y.Q. 2011. Simultaneous increase of mycelial biomass and intracellular polysaccharide from *Fomes fomentarius* and its biological function of gastric cancer intervention. Carbohydrate Polymers 85(2): 369–375.

Darwish, G.A.M.A., Bakr, A.A and Abdallah M.M.F. 2012. Nutritional value upgrading of maize stalk by using *Pleurotus ostreatus* and *S. cerevisiae* in solid state fermentation. Annals of Agricultural Science 57(1): 47–51.

Ellis, J. J., Rhodes, L. J and Hesseltine, C.W. 1976. The genus Amylomyces. Mycologia 68: 131-143.

El-Sayed, A. S., Zakib M. T., and El-Khaira, A. W. A 1994. Bioconversion of sugarcane bagasse into a protein-rich product by white rot fungus. Resources Conservation and Recycling 12(3): 195–200

Goering, H. K. and Van Soest.P. J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). U.S. Government Printing Office, Washington DC. 24 p.

Graminha, E.B.N., Goncalves, A.Z.L. Pirota, Balsalobre, M.A.A. Silva R and Gomes. E. 2008. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. Animal Feed Science and Technology 144(1): 1-22.

He, R., Ju X., Yuan, J. , L. A. Wang, Girgih, T and Alukoc R. E. 2012. Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation. Food Research International 49(1): 432–438.

Hristov A.N, Vander Pol, M, Agle, Zaman, S. Schneider, C. Ndegwar, V.K. Ndegwa, Vaddella, K. Johnson, K.J. Shingfield and S.K. Karnati. 2009. Effect of lauric acid and coconut oil on ruminal fermentation, digestion, ammonia losses from manure, and milk fatty acid composition in lactating cows. Journal of Dairy Science 92(11): 5561-5582.

Islam. M, O. Enishi, A. Purnomoadi, P. Higuchi, K. Takusari N and Terada, F. 2011. Energy and protein utilization by goats fed Italian ryegrass silage treated with molasses, urea, cellulase or cellulase + lactic acid bacteria. Small Ruminant Research 42(1): 49-60.

Karunanandaa, K. and Varga, G.A. 1996. Colonization of rice straw by white-rot fungi (*Cyathus stercoreus*): effect on ruminal fermentation pattern, nitrogen metabolism, and fiber utilization during continuous culture. Animal Feed Science and Technology 61: 1–16.

Kayode, R.M.O., Sani, A and Kolawole, F. L. 2010. Physico-chemical analysis and nutrient retention of mixed-culture fungal fermented mango (*M. indica*) kernel cake in cockerels. African Journal of Biotechnology 9(36): 5887-5892.

Kewalramani, N., Kamra, D.N. Lall D. and Pathak, N.N. 1988. Bioconversion of sugarcane bagasse with white rot fungi. Biotechnology Letters 10(5): 369–372.

Kier, J.L., Van laeken, A.E.A. Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2000. *In vitro* digestibily of Bacillus fermented soya bean. International Journal of Food Microbiology 60(2): 163-169.

Kung, L. Jr., Taylor, C. C. Lynch, M. P. and Neylon J. M. 2003. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 86(1): 336-343.

Locci, E., S. Laconi, Pompei, R. Scano, P. Lai, A and Marincola, F.C. 2008. Wheat bran biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: A solid-state Carbon-13 NMR study. Bioresource Technology 99(10): 4279–4284.

Navarro, M.V. 1989. Utilization of sugar cane molasses *in* poultry feeding. Feed Resource for Animal Production. 121-148.

Mao, L. X. Zi, H. Zhou, Hou G and Cai, Y. 2014. Effects of sucrose, glucose, molasses and cellulase on fermentation quality and *in vitro* gas production of king grass silage. Animal Feed Science and Technology 197: 206-212

Matsos, H. 2014. Mutant microbes test radiation resistance.[Online]. Available: http:// www.astrobio.net. Accessed August 30, 2014.

McDonald, P. 1981. The Biochemistry of Silages. John Wiley and Sons, New York. 226p.

Meeske, R., Cruywagen, C. W. VanderMerwe, G. D and Greyling, J. F. 2002. The effect of adding a lactic acid bacterial inoculant to big round-bale oat silage on intake, milk production and milk composition of Jersey cows. Animal Feed Science and Technology 97(3) : 159–167.

Meng, X., Slominski, B. A. Nyachoti, Yachoti, C. MN. Campbell L. D and Guenter W. 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilizationand broiler chicken performance. Poultry Science 84(1): 37-47.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31(3): 426-428.

Muck, R. E. 1988.Factors influencing silage quality and their implications for management. journal of dairy science 71(11): 2992–3002.

Neifara, M., Jaouani,A. Ayari, A. Abid, O. Salem, H. Boudabous A and Najar.T. 2013. Improving the nutritive value of Olive Cake by solid state cultivation of the medicinal mushroom, *Fomes fomentarius*. Chemosphere 91(1): 110-114.

Nguyen, T.T.T., Guyot,J.P Icard-Verniere, C and Rochette, I.G. 2007. Effect of high pressure homogenisation on the capacity of *Lactobacillus plantarum* A6 to

ferment rice/soybean slurries to prepare high energy density complementary food. Food Chemistry 10(2): 1288-1295.

Oboh, G. A. Akindahunsi, A Akindahunsi and Oshodi, A. A. (2002). Nutrient and anti-nutrient contents of Aspergillus niger-fermented cassava products (flour and gari). Journal of food composition and analysis 15(5): 617-622.

Oboh, G. 2006. Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of *S. cerevisiae* and *Lactobacillus* spp solid media fermentation techniques. Food Chemistry 9(1): 46-57.

Oboh, G and Akindahunsi, A. A. 2003. Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *S. cerevisiae* solid media fermentation. Food Chemistry 82(4): 599–602.

Omafuvbe, B.O., Abiose, S.H and Shonukan O.O. 2002. Fermentation of soybean (Glycinemax) for soy-daddawa production by startercultures of Bacillus. Food Microbiology 19(6): 561-566.

Okano, K, S. Fukui, R. Kitao and T. Usagawa. 2007. Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on *in vitro* digestibility and chemical composition. Animal Feed Science and Technology. 136(3-4): 240–247.

Pereira, D. H., Pereira, O. G. Silva, B. C. Leao, M. I. Valadares Filho, S. C and Garcia R. 2008. Nutrient intake and digestibility and ruminal parameters in beef cattle fed diets containing *Brachiaria brizantha* silage and concentrate at different ratios. Animal Feed Science and Technology 140(1): 52–66.

Pozdisek J., Loucka, R. and Machacova, E. 2003. Digestibility and nutrition value of grass silages. Czech Journal of Animal Science 48(9): 359–364.

Rizzello, C.G., Nionelli, L. Coda, R. Angelis, M.D. and Gobbetti, M. 2010. Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. Food Chemistry. 119(3): 1079–1089.

Sakine Y, Suzan, Y. Pınar, C. Gurdal, A. Bagcı, O. C. and Onder, E. 2011. The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters of dairy cows. Journal of Animal Science 24(10): 1377–1385.

Samanya M. and Yamauchi, K. 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 133(1):95-104.

SAS. 2004. STAT User's Guide Release 9.1.3. SAS Inst., Inc., New York. 220p.

Sath K., Khen, K. Holtenius, K. and Pauly, T. 2013. Para grass (*Brachiaria mutica*), ensiled or supplemented with sugar palm syrup. improves growth and feed conversion in "Yellow" cattle fed rice straw. Livestock Research for Rural Development 25(7):

Schmidt C.G. and Furlong.E. B. 2012. Effect of particle size and ammonium sulfate concentration on rice bran fermentation with the fungus *R. oryzae*. Bioresource Technology. 12(3): 36–41.

Shabtay, A., Hadar, Y. Eitam, H. Brosh, A. Orlov, A. Tadmor, Y. Izhaki and Kerem, I. Z. 2009. The potential of Pleurotus-treated olive mill solid waste as cattle feed. Bioresource Technology 100(24): 6457–6464.

Shoda, M and S. Mizumoto. 2011. Characterization of enzymes associated with degradation of Insoluble diber of soybean curd residue by *Bacillus subtilis*. .[Online]. Available: http://www.intechopen.com/books/recent-trends-for enhancing thediversity and quality of soybean products/characterization-of enzymes associated-with-degradation-of-insoluble-fiber-of-soybean-curd. Accessed on August30,2014.

Smits, J, Rinzema, A . Tramper, J. Sonsbeek, H.M. and Knol, W. 1996 solid-state fermentation of wheat bran by *Trichoderma reesei* QM9414: substrate composition changes, C balance, enzyme production, growth and kinetics. Microbiol. Biotechnol 46(1): 489–496.

Srichana, D., Suttitham, W. Thongsunthiah, P. Panja, P. and Jariyapamornkoon, N. 2014. Nutrients and ruminal digestibility of baby corn by-product silages

under different harvesting methods. Thammasat International Journal of Science and Technology 19(2): 30-36.

Stella, A.V. Paratte, R. Valnegri, L. Valnegri, G. Cigalino, G. Soncini, E. Chevaux , V. Dellorto, V. and Savoini, G. 2007. Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy goats. Small Ruminnant Research 67: 7–13.

Suksombat, W., Lounglawan, P. and Noosen, P. 2006. Energy and protein evaluetion of five feedstuffs used in diet in which cassava pulp as main energy source for lactating dairy cows. Suranaree Journal of Science and Technology 14(1): 99-107.

Thongkratok, R., Khempaka, S. and Molee, W. 2010. Protein enrichment of cassava pulp using microorganisms fermentation techniques for use as an alternative animal feedstuff. Journal of Animal and Veterinary Advances 9(22): 2859-2862.

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

Wanapat, M. 1987. Effects of concentration of urea, addition of salt and form of urea-treated rice straw on intake and digestibility. Proceedings of the 25th annual conference on animal science. 205-208.

Wanapat, M. 2000. Rumen manipulation to increase the efficiency use of local feed resources andproductivity of ruminants in topics. Asian-Aus. Journal of Animal Science 13(1): 59-67.

Woolford, M.K. 1984. The Silage Fermentation. Microbiological Series, No.14. Marcel Dekker. New York. 852p.

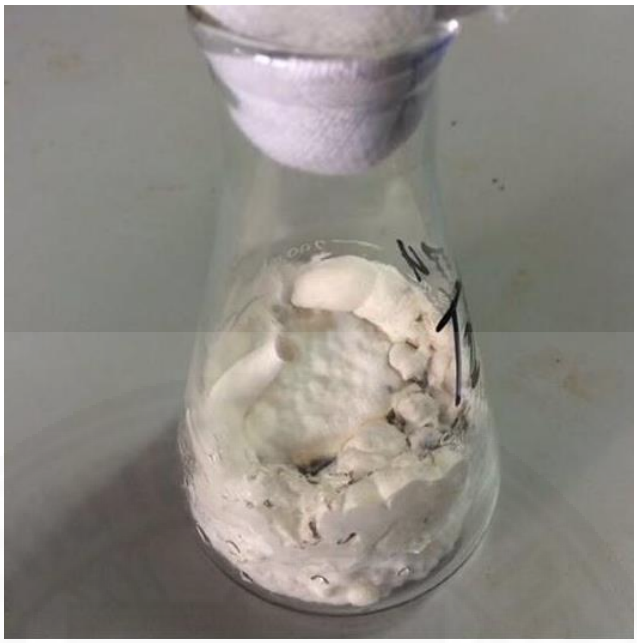
Zadrazil F. and Puniya. A.K. 1995. Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. Bioresource Technology 54(1): 85-87.

ภาคผนวก

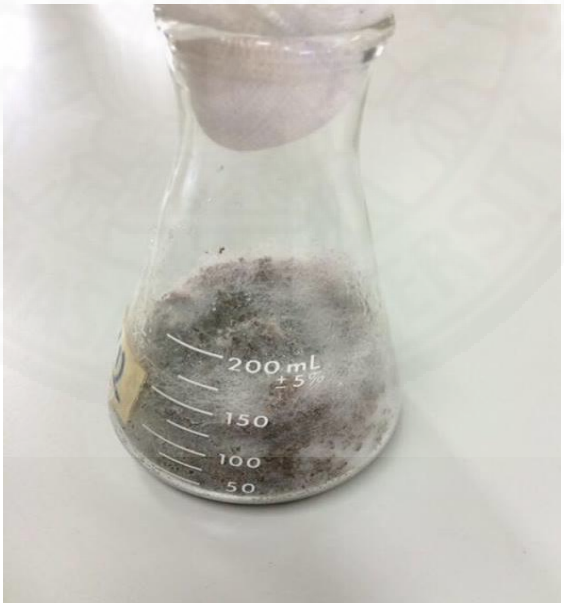
ภาคผนวก ก
การหมักกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ภาคผนวกที่ ก-1 กากมันสำปะหลังเปียกจากโรงงานเอทานอล

ภาคผนวกที่ ก-2 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลอบแห้ง



ภาคผนวกที่ ก-3 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเห็ดขอนดำ



ภาคผนวกที่ ก-4 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา *R. oryzae*

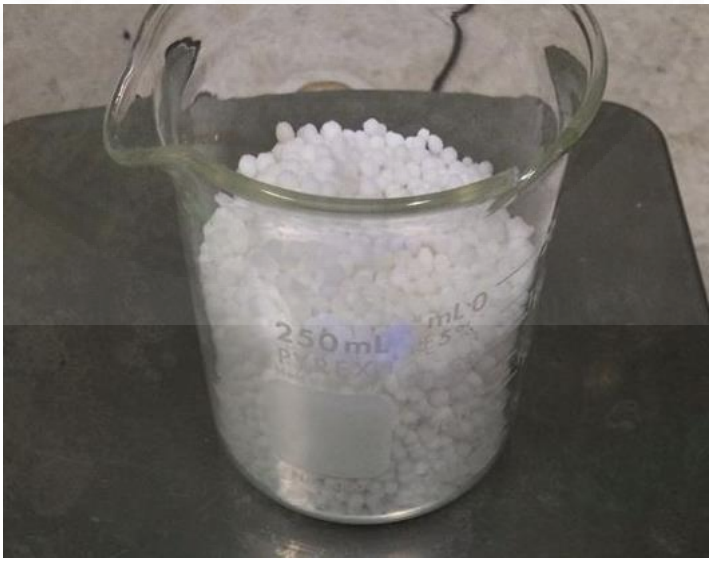
ภาคผนวกที่ ก-5 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis*

ภาคผนวกที่ ก-6 กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae*

ภาคผนวก ข

การหมักหญ้าขนโดยใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรียเป็นสารเสริม

ภาคผนวกที่ ข-1 หญ้าขนที่ผ่านเครื่องสับให้มีขนาดประมาณ 1นิ้ว



ภาคผนวกที่ ข-2 ยูเรีย

ภาคผนวกที่ ข-3 การผสมสารเสริมลงในหญ้าขนหมัก

ภาคผนวกที่ ข-4 การคลุกเคล้าส่วนผสมในหญ้าขนหมัก

ภาคผนวกที่ ข-5 การบรรจุหญ้าขนที่ผสมแล้วลงในถุงซิปล็อค

ภาคผนวกที่ ข-6 ดูดอากาศออกจากถุงด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ

ภาคผนวกที่ ข-7 การหมักหญ้าขน

ภาคผนวกที่ ข-8 ลักษณะของหญ้าขนหมักโดยใช้กากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลและยูเรีย เป็นสารเสริม

ภาคผนวก ค
วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะ (proximate analysis)

ภาคผนวกที่ ค-1
วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น
AOAC (1990)

หลักการ

ความชื้นเป็นส่วนของน้ำ และ/หรือสารที่ระเหยได้ทั้งหมดที่สูญเสียไปจากอาหารเมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร วิเคราะห์ได้โดยการนำตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิน้ำเดือด หรือที่อุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักที่คงที่ แล้วนำค่าของน้ำหนักที่หายไปมาคำนวณหาค่าความชื้น การหาความชื้นด้วยวิธีนี้ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่มีสารระเหยง่ายเป็นส่วนประกอบ เพราะจะระเหยออกหรือสลายตัวได้ในขณะที่อบ

อุปกรณ์

1. ตู้อบ (hot air oven)
2. ถ้วยครูซิเบิล (crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. ช้อนตักตัวอย่าง คีมจับ ถุงมือจับความร้อน
5. เครื่องชั่งน้ำหนักที่สามารถชั่งน้ำหนักได้ละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ตัวอย่างอาหารที่บดละเอียด

วิธีการ

1. อบถ้วยครูซิเบิล (crucible) ในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

2. นำถ้วยครูซิเบิลออกตู้อบ โดยใช้คีม (tong) คีบ ใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) ปิดฝา แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที

3. ชั่งน้ำหนักถ้วยครูซิเบิล และจดบันทึกน้ำหนัก

4. ชั่งตัวอย่างอาหารทดลองประมาณ 1-2 กรัม ลงในถ้วยครูซิเบิล บันทึกน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

5. นำถ้วยครูซิเบิลพร้อมตัวอย่างเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง นับจากอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส

6. เมื่อครบเวลาที่อบแล้วนำถ้วยครูซิเบิลพร้อมตัวอย่างออกจากตู้อบ ใส่ในโถดูดความชื้น ปิดฝาให้สนิท ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

7. ชั่งน้ำหนักถ้วยครูซิเบิลที่มีตัวอย่างหลังอบ และจดบันทึก

8. นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง} = 100 - \text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น}$$

ภาคผนวกที่ ค-2
วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุ
AOAC (1990)

หลักการ

เผาตัวอย่างอาหารด้วยความร้อนสูงประมาณ 550-600 องศาเซลเซียส สารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้ในสภาพที่มีออกซิเจนสลายตัวกลายเป็นไอน้ำ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สไนโตรเจน ส่วนที่เหลือคือเถ้าซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ ประกอบด้วย แร่ธาตุหลายชนิด แต่ค่าของเถ้าที่วิเคราะห์ได้ไม่ได้เป็นค่าของแร่ธาตุทั้งหมด เพราะแร่ธาตุบางชนิดอาจจะสูญหายโดยการระเหย หรืออาจเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นๆ

อุปกรณ์

1. เตาเผา
2. ถ้วยครูซิเบิล (crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. ช้อนตักตัวอย่าง คีมจับ ถุงมือจับของร้อน
5. เครื่องชั่งน้ำหนักที่สามารถชั่งน้ำหนักได้ละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ตัวอย่างอาหารที่บดละเอียด

วิธีการ

1. อบถ้วยที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำถ้วยออกจากตู้อบ และใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2. ใส่ตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ในถ้วย

3. นำถ้วยที่มีตัวอย่างเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้เถ้าที่สมบูรณ์ คือ เป็นสีเทาออกขาวไม่มีส่วนที่เป็นสีดำเหลืออยู่

4. นำถ้วยออกจากเตาเผาและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่างหลังเผา

5. นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้า

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่างหลังเผา} - \text{น้ำหนักถ้วย}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ อินทรียวัตถุ} = 100 - \text{เปอร์เซ็นต์ เถ้า}$$

ภาคผนวกที่ ค-3
วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน
AOAC (1990)

หลักการ

เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในรูปของสารประกอบอินทรีย์ทั้งส่วนที่เป็นโปรตีนและไม่ใช่โปรตีนที่มีอยู่ในอาหาร ยกเว้นสารพวกไนเทรต และไนไทรต์ โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การย่อย การกลั่น และการไทเทรต ดังนี้

1. การย่อย เป็นการย่อยตัวอย่างด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น ภายใต้อุณหภูมิสูงโดยมีสารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เพื่อให้ส่วนของอินทรียวัตถุสลายตัวไป และเปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH4)_2SO_4$)

2. การกลั่น เมื่อสารละลายที่ย่อยได้เย็นลง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นในปริมาณที่มากเกินพอทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมซัลเฟต จะได้แก๊สแอมโมเนียออกมา ทำการกลั่นเพื่อไล่แก๊สแอมโมเนียออกมาให้หมด จับแก๊สแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดมาตรฐาน หรือสารละลายกรดบอริก (boric acid)

3. การไทเทรต เพื่อหาปริมาตรของแอมโมเนีย โดยใช้กรดบอริกเป็นตัวเก็บแอมโมเนียให้ไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.10 นอร์มอล เพื่อหาปริมาณสารละลายกรดมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย

อุปกรณ์

1. เครื่องสำหรับย่อย และชุดดักไอกรด
2. เครื่องสำหรับกลั่น
3. หลอดย่อย
4. ขวดรูปชมพู่ หรือเออร์เลนเมเยอร์ฟลาสก์ (ขนาด 250 มิลลิลิตร)
5. ปิเปตต์
6. บิวเรต

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4 98เปอร์เซ็นต์)

2. สารเร่งปฏิกิริยา โดยใช้ คะตะลิสต์ มิกซ์เจอร์ (catalyst mixture; $CuSO_4$ 7 กรัม + K_2SO_4 100 กรัม)

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 (conc. NaOH 40 เปอร์เซ็นต์)

4. กรดซัลฟิวริกมาตรฐาน 0.10 นอร์แมล (Std. H_2SO_4 0.10 N)

5. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (HBO_3 4 เปอร์เซ็นต์)

6. อินดิเคเตอร์ผสม

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารทดลองประมาณ 1.0 กรัม ห่อด้วยกระดาษชั่งตัวอย่าง ใส่ใน Kjeldahl tube

2. ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ($CuSO_4$: K_2SO_4 = 1:10) จำนวน 2 เม็ด และกรดซัลฟูริคเข้มข้น (conc. H_2SO_4) จำนวน 25 มิลลิลิตร

3. นำตัวอย่างไปย่อยด้วยเครื่อง digester block ที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วจึงปรับเป็น 350 องศาเซลเซียส จนสารละลายใส

4 ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl tube ที่ได้จากข้อ 4

6. นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยเข้าเครื่องกลั่น แล้วนำขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่กรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์โปรตีน 2-3 หยด

7. เติม 40เปอร์เซ็นต์ NaOH ลงในหลอดตัวอย่าง 20-40 มิลลิลิตร

8. กลั่นจนได้แอมโมเนียออกมาประมาณ 50-80 มิลลิลิตร

9. นำตัวอย่างที่ผ่านการกลั่น มาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นไม่มีสี บันทึกปริมาตรที่ใช้

10. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(A - B) \times 0.1 \times 0.014}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน × 6.25

โดยที่ A คือ ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรท blank

ภาคผนวกที่ ค-4
วิเคราะห์หาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ADF)
Goering and Van Soest (1970)

หลักการ

ส่วนของ cell contents และ hemicellulose ที่ละลายได้ในกรดจะถูกย่อยออกไปด้วย acid detergent solution ส่วนที่เหลืออยู่คือ ADF ซึ่งประกอบไอด้วย cellulose lignin เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนั้นยังมีสารที่อยู่ในผนังเซลล์อีกเล็กน้อย เช่น cutin และ acid insoluble ash (ซิลิก้า)

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลาย ADFประกอบด้วย conc.H_2SO_4 49.04 มิลลิลิตร และ CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) 20 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
2. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ปากกลม
3. เติมสารละลาย ADF 100 มิลลิลิตร และ decahydronaphthalene 2 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มแบบ reflux ให้เดือดภายใน 5–10 นาที แล้วลดความร้อนให้น้ำเดือดเล็กน้อย ต้มนาน 60 นาที
5. กรองด้วยถ้วยกรองเบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ล้างด้วยน้ำร้อนให้น้อยที่สุด
6. เขี่ยเยื่อใยด้วยแท่งแก้ว แล้วล้างออกด้วยน้ำร้อนอีก 2 ครั้ง
7. ล้างเยื่อใยด้วย C_3H_6O อีก 2 ครั้ง
8. นำถ้วยกรองไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง หรือ ค้างคืน แล้วชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

ADF (เปอร์เซ็นต์) = (น้ำหนัก ADF / น้ำหนักตัวอย่างแห้ง) x 100

ภาคผนวกที่ ค-5
วิเคราะห์หาปริมาณผนังเซลล์ (NDF)
Goering and Van Soest (1970)

หลักการ

ละลายผนังเซลล์ของพืชด้วยสาร sodium lauryl sulphate แล้วกรองเพื่อแยกเอาส่วนผนังเซลล์ของพืชออกจากส่วนที่เป็น cell soluble ซึ่งละลายอยู่ใน detergent ที่เป็นกลาง

อุปกรณ์

1. refluxing apparatus
2. บีกเกอร์ชนิดขอบกลมไม่มีปากสำหรับเท (Berzelius beaker) ขนาด 600 ซีซี
3. กูช ครูซิเบิล หรือ sintered glass crucible (ชนิดเบอร์ 1)
4. เครื่องดูดสูญญากาศ
5. ขวดสำหรับกรอง (filtering flask) ขนาด 1000 ซีซี
6. rubber adapter
7. แท่งแก้วสำหรับคน
8. ตู้อบ (hot air oven)
9. โถดูดความชื้น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 0.5-1.0 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ (berzelius beaker)
2. เติม neutral detergent solution 100 ซีซี
3. เติม decahydronapthalene 2 ซีซี และ sodium sulfite 0.5 กรัม
4. ต้มให้เดือดภายใน 5-10 นาที แล้วลดความร้อนลงให้เหลือเพียงให้สารละลายในบีกเกอร์เดือด (เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองล้น) ต้มเดือดนาน 60 นาที (ใช้วิธีต้มแบบ reflux)

5. กรองโดยใช้ กูช ครูซิเบิล หรือ Sintered glass crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว การกรองให้เทสารละลายลงในครูซิเบิลจนเต็มก่อน แล้วจึงค่อยๆเพิ่มแรงดูดสุญญากาศทีละน้อย ไม่ควรใช้แรงดูดสูญญากาศมากเกินความจำเป็น

6. ล้างตัวอย่างอาหารที่ติดอยู่ในบีกเกอร์ลงในครูซิเบิลด้วยน้ำร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) ใช้น้ำให้น้อยที่สุดเท่าที่จะใช้ได้ ปิดเครื่องดูดสูญญากาศเมื่อดูดน้ำออกหมดแล้ว

7. เขี่ยก้อนเยื่อใยที่อยู่ในครูซิเบิลให้แตกออกโดยใช้แท่งแก้ว แล้วล้างด้วยน้ำร้อนอีก 2 ครั้ง

8. ล้างเยื่อใยในครูซิเบิลด้วย acetone อีก 2 ครั้ง

9. นำครูซิเบิลไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หรือที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง หรือข้ามคืนทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

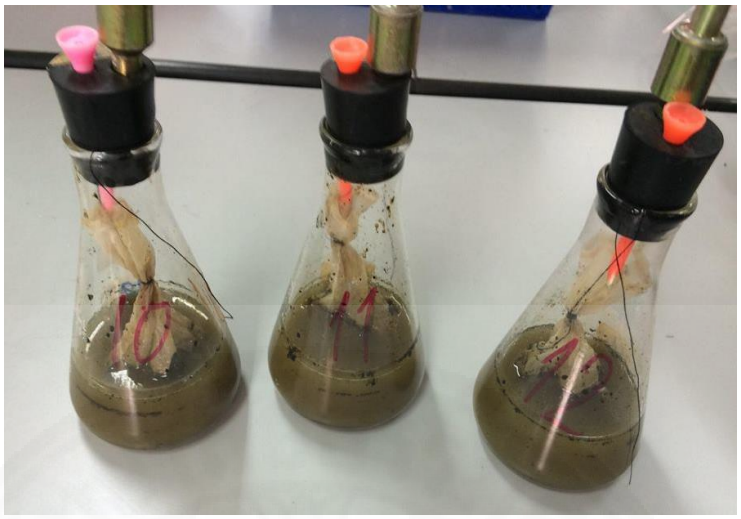
การคำนวณ

NDF (เปอร์เซ็นต์) = (น้ำหนัก NDF / น้ำหนักตัวอย่างแห้ง) x 100

ภาคผนวก ง
การศึกษาการย่อยได้ด้วยวิธี bacth culture

ภาคผนวกที่ ง-1 โคนมเพศผู้เจาะกระเพาะรูเมน

ภาคผนวกที่ ง-2 การดูดน้ำกระเพาะรูเมน



ภาคผนวกที่ ง-3 การศึกษาการย่อยได้ด้วยวิธี bacth culture

ภาคผนวกที่ ง-4 เครื่องเขย่าแนวราบ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นาย ประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์
วันเดือนปีเกิด	29 สิงหาคม 2533
วุฒิการศึกษา	2555: วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ผลงานทางวิชาการ

พิพัฒน์ สมภาร, **ประพัฒน์ ตั้งภูมิระพีวงศ์** และสุพรชัย ฟ้ารี. 2556. การรับรู้สีในแม่กระบือปลัก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21(4): 343-349 น.