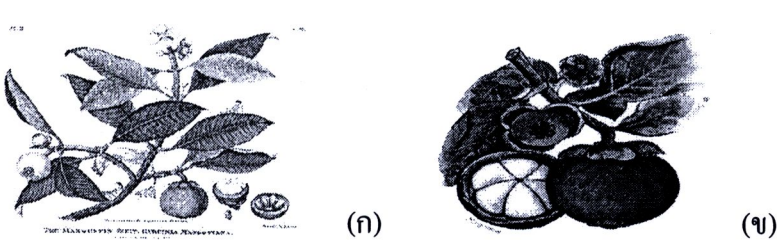
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มังคุด

มังคุด มีชื่อสามัญว่า แมงโกสทีน (Mangosteen) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana Linn.* จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae (วิทย์, 2542) มังคุดเป็นไม้ยืนต้นในเขตร้อนมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา และไทย (Morton, 1987) เนื่องจากมังคุดเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดี จึงได้มีการตั้งสมญานามให้เป็น "ราชินีแห่งไม้ผล" (queen of fruits) (เกียรติเกษตร และคณะ, 2530)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมังคุด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมังคุด คือ เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีลำต้นตั้งตรงทรงต้นแข็งแรง ต้นโตเต็มที่มีความสูงประมาณ 10 ถึง 25 เมตร กิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยม ผิวเปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลคล้ำ และมีน้ำยางเป็นสีเหลือง ใบมีลักษณะสีเขียวเข้มออกเป็นใบคู่ เป็นรูปไข่หรือรูปรีปลายใบแหลม มีความเป็นมันอยู่ด้านบนของใบ แผ่นใบโค้งลงเล็กน้อยเป็นจำนวนมากทำให้ทรงพุ่มแน่น ดอกออกเป็นช่อแยกออกเป็นดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ในดอกตัวเมียอาจพบส่วนของดอกตัวผู้ที่เป็นหมันเรียกว่า "สตามิโนด" (staminode) ประกอบอยู่ในดอกหนึ่งๆ มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลืองประกอบอยู่อย่างละ 4 กลีบ ลักษณะของผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม น้ำหนักต่อผลเฉลี่ยประมาณ 80 ถึง 150 ก. ผลมีเปลือกหนา และแข็ง ด้านบนของผลประกอบด้วยขั้วผลขนาดใหญ่และแข็งแรงเชื่อมติดกันอยู่กับกลีบเลี้ยง 4 กลีบ ส่วนด้านก้นของผลมีลักษณะเป็นแฉก จำนวน 4 ถึง 6 แฉก ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงจำนวนกลีบภายในแต่ละผล ผลแก่หรือสุกจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงอมน้ำตาล ข้างในมีเมล็ด 6 ถึง 8 เมล็ด มีเนื้อนุ่มสีขาวและมีรสหวาน (เกียรติเกษตร และคณะ, 2530; ยุวดี, 2537; วิทย์, 2542; ภาณุทรรศน์, 2546) (ภาพที่ 2.1)



(ก) (ข)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบ (ก) และ ผลมังคุด (ข)
ที่มา: William (2005)

องค์ประกอบทางโภชนะของมังคุดประกอบด้วยส่วนที่เป็นเนื้อใน ซึ่งเป็นส่วนที่รับประทานได้ และในส่วนของเปลือกมังคุดโดยมีองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางโภชนะของมังคุด (เนื้อใน และเปลือกมังคุด)

องค์ประกอบ	เนื้อใน		เปลือก	
	ปริมาณ[1]	ปริมาณ[2]	ปริมาณ[3]	ปริมาณ[4]
พลังงาน (แคลอรี่)	60.00-63.00	76.00	-	-
ความชื้น (%)	80.20-84.90	-	4.70	8.30
โปรตีน (%)	0.50-0.60	0.50	21.50	2.99
ไขมัน (%)	0.10-0.60	0.10	-	2.23
คาร์โบไฮเดรต (%)	14.30-15.60	18.40	-	-
เยื่อใย (กรัม)	5.00-5.10	1.70	-	30.72
NDF (%)	-	-	52.50	-
ADF (%)	-	-	50.00	-
เถ้า (%)	0.20-0.23	-	2.60	2.89
อินทรีย์วัตถุ (%)	-	-	97.40	-
แทนนิน (%)	-	-	15.80	11.12

ที่มา: [1/]Morton (1987), [2/]Puwastein et al. (1999), [3/]Kanpukdee and Wanapat (2007), [4/]ศรีสุดา (2549)

2.1.2 แหล่งที่ปลูกและผลผลิตมังคุดในประเทศไทย

ผลผลิตมังคุดภายในประเทศไทยส่วนใหญ่ได้มาจาก ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศ ซึ่งจะพบว่าภาคกลางจะมีผลผลิตมังคุดมากกว่าภาคใต้เล็กน้อย โดยรวมแล้วประเทศไทยสามารถผลิตมังคุดได้ประมาณ 250,508 ตัน/ปี (ตารางที่ 2.2) และพบว่าโรงงานแปรรูปมังคุดส่วนมากจะอยู่ทางภาคกลางและภาคใต้เช่นเดียวกัน ซึ่งโรงงานเหล่านี้เป็นสาเหตุในการเกิดเศษเหลือที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์จำนวนมาก เช่น เปลือกมังคุด ฯลฯ

ตารางที่ 2.2 มังคุดต่อเนื้อที่ยืนต้น เนื้อที่ให้ผล ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ปี 2553

จังหวัด	เนื้อที่ยืนต้น (ไร่)	เนื้อที่ให้ผล (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กก.)
รวมทั้งประเทศ	482,625	405,622	250,508	618
ภาคกลาง	203,660	164,089	127,443	777
ภาคใต้	278,965	241,533	123,065	510
นนทบุรี	585	217	186	855
ปราจีนบุรี	1,705	1,496	1,174	785
จันทบุรี	139,085	114,393	89,455	782
ตราด	32,138	26,297	22,721	864
ระยอง	28,757	20,826	13,474	647
ชลบุรี	328	187	96	514
ประจวบคีรีขันธ์	1,062	673	337	501
ชุมพร	76,287	75,742	26,358	348
ระนอง	17,072	14,988	7,914	528
สุราษฎร์ธานี	14,932	12,348	6,557	531
พังงา	13,179	12,920	8,217	636
ตรัง	4,086	2,693	1,390	516
นครศรีธรรมราช	90,665	72,441	40,784	563
พัทลุง	13,366	10,310	7,165	695
สงขลา	5,399	4,679	4,632	990
สตูล	2,974	1,965	1,153	587
ปัตตานี	3,052	2,558	1,699	664
ยะลา	7,728	6,819	4,521	663
นราธิวาส	27,567	22,316	12,118	543

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553)

2.2 บทบาทของแทนนินส์และการใช้แทนนินส์ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

แทนนินส์เป็นสารประกอบฟีนอลิค มีคุณสมบัติพิเศษในการที่สามารถจับกับสารพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids) เจลาติน (gelatin) และโปรตีนอื่นๆ แทนนินส์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ ไฮโดรไลซเอเบิลแทนนินส์ (hydrolysable tannins, HT) และคอนเดนซ์แทนนินส์ (condensed tannins, CT) (Mcleod, 1974) ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบได้ในทั่วไปในพืช คอนเดนซ์แทนนินส์พบได้ทั่วไปในส่วนของใบของต้นไม้ใหญ่และไม้พุ่ม แต่พบได้บ้างในส่วนของใบและต้นของถั่วพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ sainfoin (*Onobrychis viciifolia*), พืชตระกูล Lotus และ Sulla (*Heydsarum coronarium*) นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารคอนเดนซ์แทนนินส์ในส่วนของใบและลำต้นของหญ้า Yorkshire fog (*Holcus lanatus*)

คอนเดนซ์แทนนินส์มีคุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยาและเกิดสารประกอบ (complexes) โดยการเกิดพันธะไฮโดรเจน (H-bond) กับทั้งสารคาร์โบไฮเดรทและสารโปรตีน แต่ที่สภาพค่า pH เป็นกลาง แทนนินส์จะจับกับสารโปรตีนได้เหนียวแน่นกว่า (Mcleod, 1974) เกิดเป็นสารประกอบแทนนินส์โปรตีน (tannins-protein complex) ซึ่งมีความคงทนและไม่ละลายที่ pH ระหว่าง 3.5-7.0 แต่จะไม่คงทนและจะมีการปลดปล่อยสารโปรตีนที่ pH ต่ำกว่า 3 และ pH มากกว่า 8 (Jones and Mangan, 1977) ทำให้มีโปรตีนที่ถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง ในขณะเดียวกันก็มีโปรตีนไหลผ่านออกจากกระเพาะหมัก (by pass protein) ไปยังกระเพาะอาหารส่วนล่างและลำไส้เล็ก เกิดการย่อยและการดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์โดยตัวสัตว์สูงขึ้นด้วย อาหารที่มีแทนนินส์เป็นองค์ประกอบในระดับ 20-40 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง มีผลทำให้อัตราการย่อยอาหารโปรตีนในกระเพาะหมักโดยจุลินทรีย์ลดลง ซึ่งเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ของโปรตีนทั้งด้านการย่อยและการดูดซึมโภชนะโดยตัวสัตว์เอง (Barry, 1989)

จากการศึกษาของ Barry and Duncan (1984) พบว่าแกะในกลุ่มที่ได้รับ *L. pedunculatus* ที่มีแทนนินส์ในระดับ 46 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง มีค่าปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง และปริมาณการกินได้ของสารอินทรีย์เท่ากับ 83.3 และ 75.0 g/kg $BW^{0.75}$ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับ Lotus ที่มีแทนนินส์ระดับ 106 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง (77.0 และ 72.0 g/kg $BW^{0.75}$ ตามลำดับ) และจากการศึกษาของ Barry and Manley (1984) ในแกะที่เจาะกระเพาะลำไส้เล็ก ซึ่งได้รับ *L. pedunculatus* ในลักษณะเช่นเดียวกันนี้ พบว่า ความสามารถในการย่อยได้ของเซลยูโลสตลอดทางเดินอาหารของแกะกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับ CT ต่ำ มีค่าสูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มี CT ในระดับสูง (คิดตามสัดส่วนของปริมาณการกินได้เท่ากับ 0.78 และ 0.63 ตามลำดับ) ($P<0.001$) โดยมีการย่อยได้ที่กระเพาะหมักคิดเป็นสัดส่วนของการกินได้เท่ากับ 0.69 และ 0.53 ตามลำดับ และ

ความสามารถในการย่อยได้ของเฮไมเซลยูโลสที่ทางเดินอาหารส่วนล่าง ในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับ CT ต่ำ มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับ CT สูง (0.28 และ 0.35 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่า การย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่หมักได้เร็ว (readily fermentation carbohydrate, RFC) ในแกะทั้งสองกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีการย่อยเกือบสมบูรณ์ตลอดทางเดินอาหาร (คิดเป็นสัดส่วนของการกินได้เท่ากับ 0.93 - 0.95 และพบว่าการย่อยได้ของไนโตรเจน (N-digestibility) ในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับ CT ต่ำ มีค่าสูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับ CT สูง (0.71 และ 0.56 ตามลำดับ)

นอกจากนี้ จากการศึกษาการเสริมเปลือกมังคุดในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดย Kanpukdee et al. (2008) พบว่าการเสริมเปลือกมังคุดที่ระดับ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง/วัน ร่วมกับน้ำมันพืชเป็นประโยชน์สำหรับโคนม และสามารถช่วยเพิ่มปริมาณของแบคทีเรีย ลดปริมาณของโปรโตซัว ขณะที่เชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Ngamsaeng et al. (2006) ได้ศึกษาการเสริมเปลือกมังคุดที่ระดับ 100-150 กรัมน้ำหนักแห้ง/ตัว/วัน สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมได้ ซึ่งจะช่วยเพิ่มผลผลิตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ อย่างไรก็ตาม Durmic et al. (2007) พบว่า สารสกัดจากพืช (*Acacia mearnsii*) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Clostridium proteoclasticum* ได้แต่ไม่มีผลต่อ Butyrivibrio fibrisovens ทั้งนี้หากมีปริมาณ *Butyrivibrio fibrisovens* มากจะทำให้ผลผลิต CLA เพิ่มขึ้นในทางตรงกันข้ามหากมีปริมาณ *Clostridium proteoclasticum* มากจะทำให้ผลผลิต CLA ลดลง

บทบาทของแทนนินส์ในพืชอาหารสัตว์ ถ้ามีแทนนินส์สูงเกินไป (มากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์) จะมีผลทำให้ปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสมรรถนะการเจริญเติบโตลดลง (Reed et al., 1982; Barry and Menley, 1984) แต่ถ้ามีแทนนินส์ในระดับต่ำถึงปานกลาง คือ ประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ จะป้องกันการเกิดท้องอืดในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพิ่มการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน เพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของไนโตรเจนสู่กระเพาะรูเมน และเพิ่มอัตราการหลั่งน้ำลาย ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณไกลโคโปรตีน และยูเรีย ส่งผลดีต่อนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมน (Woodward, 1997; McNabb et al., 1993; Reed, 1995) นอกจากนี้ Makkar et al. (1995) พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ในเชิงส่งเสริมที่ดีซึ่งกันและกันในการเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และยังมีแนวโน้มช่วยลดพิษของกรดไฮโดรไซยานิค ซึ่งมีอยู่ในมันสำปะหลังด้วย แทนนินส์ในใบมันสำปะหลังแห้งอยู่ในช่วง 0.31-0.34 เปอร์เซ็นต์ (Onwuka, 1992) แทนนินส์อาจจับกับโปรตีนในรูปแทนนินส์โปรตีนคอมเพลกซ์ หรือจับกับคาร์โบไฮเดรตที่ส่วนของผนังเซลล์พืช สำหรับแทนนินส์โปรตีนคอมเพลกซ์ เกิดจากการจับตัวกันของสารประกอบ

ฟีนอลิกส์ คือแทนนินส์กับโปรตีนในรูปที่ไม่ละลายน้ำซึ่งการจับตัวกันมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ขนาดโมเลกุล ความสามารถในการละลาย และจำนวนของ free phenolics group ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน ระหว่าง phenolic proton และ carbonyl groups ของเพปไทด์ (Lowry et al., 1996) พันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นมีความแข็งแรง และไม่สลายในสภาวะความเป็นกรด-ด่าง 3.5-7 แต่สามารถสลายและปลดปล่อยโปรตีนออกได้ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่า 3.5 (Jones and Mangan, 1977) ซึ่งเป็นสภาวะที่มีความใกล้เคียงกับกระเพาะจริงของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ผลกระทบของแทนนินส์ในพืชที่มีต่อสัตว์พบว่า HT มีศักยภาพในการเป็นพิษต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดย HT จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ tannase ซึ่งจะทำการไฮโดรไลซ์ galloyl esters ซึ่ง gallic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะถูกเมทธาบอไลซ์โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนอีกครั้งได้เป็น pyrogallol และสารประกอบฟีนอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ หลังจากนั้นจะถูกดูดซึมจากกระเพาะรูเมน ซึ่งสารประกอบฟีโนลิกส์เหล่านี้ จะถูกขับออกกับปัสสาวะในรูป glucoronides (Murdiati et al., 1992; Norton, 1999) ส่วน pyrogallol ที่ได้จากการย่อยสลาย HT จัดเป็นสารพิษประเภท hepatotoxin และ nephontoxin ส่วน CT ไม่เป็นพิษในสัตว์เคี้ยวเอื้องเพราะจะไม่ถูกดูดซึม แต่อาจมีผลระคายเคืองต่อรอยแผลของเยื่อบุกระเพาะ (Reed, 1995) แต่ในมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะประกอบด้วย CT (0.34 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) (เมธา, 2540; Wanapat, 1999)

อย่างไรก็ตามจากรายงานของ Barry and Manley (1984) พบว่าที่ระดับของ CT 50-100 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง จะส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ อัตราการเจริญเติบโต และการย่อยสลายของเยื่อใยภายในกระเพาะรูเมนด้วย แต่หากระดับของ CT เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารโปรตีน โดยการเพิ่มปริมาณโปรตีนไหลผ่านสู่ทางเดินอาหารส่วนหลัง รวมถึงการเพิ่มปริมาณการดูดซึมกรดอะมิโนที่จำเป็นที่ลำไส้เล็ก โดยเฉพาะกรดอะมิโนเมทไธโอนีน และซีสตีน ที่สามารถดูดซึมได้เพิ่มขึ้นถึง 62 เปอร์เซ็นต์ (Waghorn et al., 1987; Woodward and Reed, 1997) ระดับที่เหมาะสมของ CT อยู่ที่ 20-40 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง (Waghorn et al., 1987)

ส่วนการศึกษาถึงผลกระทบของ CT ต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน โดย Jone et al. (1977) ทำการศึกษาผลของ CT จาก sainfoin (*Onobrycis viciifolia* Scop.) ต่อแบคทีเรียที่ใช้โปรตีน พบว่าที่ระดับของแทนนินส์ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของ CT จะสามารถจับกับ cell coat ของ *Butyrivibrio fibrisolvens* และ *Streptococcus bovis* และเซลล์ที่กระตุ้นการสลายโปรตีน (cell associated proteolytic activity) ได้ที่ 48 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่แทนนินส์ที่ใช้ในระดับที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

และประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้แทนนินส์ร่วมกับแซปโปนินส์ (saponin) (Makkar et al., 1995) นอกจากนี้ Chiquette et al. (1989) พบว่าเมื่อมีแทนนินส์ในระดับต่ำจะส่งผลทำให้จำนวนของโปรโตซัวลดลงด้วย

2.3 โปรตีนในอาหารโคนม

โปรตีนจัดเป็นสารชีวโมเลกุล แต่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นสารให้พลังงานหลักแก่ร่างกาย มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ (Preston and Leng, 1987) ในธรรมชาติมีโปรตีนอยู่หลากหลายชนิด ได้แก่ โปรตีนที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ (monomer) เป็นกรดอะมิโน (amino acid) ชนิดต่างๆ เรียงต่อกัน และโปรตีนที่มีสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์มาเชื่อมต่ออยู่ด้วยกัน (พจน์ และคณะ, 2543) โปรตีนมีความสำคัญมากต่อโคนมที่กำลังเจริญเติบโต และผลิตน้ำนม โดยระดับโปรตีนในอาหาร จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณผลผลิตน้ำนม (สมชาย, 2541)

สัตว์เคี้ยวเอื้องมีคุณลักษณะที่พิเศษกว่าสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง คือสามารถสังเคราะห์โปรตีนจากธาตุไนโตรเจนทั้งที่อยู่ในรูปแอมโมเนีย กรดอะมิโน หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนจะเปลี่ยนธาตุไนโตรเจนให้อยู่ในรูปแอมโมเนียไนโตรเจน เพื่อใช้ในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (microbial protein) โดยอาศัยพลังงานที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก (ภาพที่ 2.2) หากพิจารณาอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนจะมี 2 รูปแบบ (ฉลอง, 2541) คือ

2.3.1 โปรตีนแท้ (true protein) เป็นโปรตีนที่มีอยู่ในอาหาร ได้แก่ โกลบูลิน (globulin) โปรลามีน (prolamines) และกลูเตลิน (glutelins) เป็นต้น โดยสามารถแบ่งโปรตีนแท้ตามคุณสมบัติการถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนออกเป็น 2 ชนิดคือ

2.3.1.1 โปรตีนที่ถูกย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน (rumen degradable protein, RDP) หมายถึง โปรตีนในอาหารโคนมที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน ผลผลิตที่เกิดขึ้นคือ แอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งวัตถุดิบแต่ละชนิดมีความสามารถในการถูกย่อยสลายแตกต่างกัน เช่น กากปาล์มถูกย่อยสลายในกระเพาะประมาณ 34 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านความร้อนถูกย่อยสลายมากถึง 86 เปอร์เซ็นต์ (NRC, 1988)

2.3.1.2 โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein, RUP) หมายถึง โปรตีนที่สามารถคงตัวอยู่ได้ในกระเพาะรูเมนโดยไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ โปรตีนเหล่านี้สามารถพบได้ทั้งในโปรตีนที่ได้มาจากพืช เช่น เมล็ดฝ้าย กากปาล์ม มันเฮย์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น เนื้อป่น ปลาป่น หรือเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ

ทางกายภาพหรือทางเคมี เช่น กากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการเอ็กซ์ทรูด (extruded soybean) หรือกากถั่วเหลืองที่เคลือบด้วยสารฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) และกากถั่วเหลืองผ่านความร้อน 140 องศาเซลเซียส จะไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจเรียกโปรตีนที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวเหล่านี้ว่า (protected protein) หรือโปรตีนไหลผ่าน(by pass protein)

โปรตีนทั้ง 2 ชนิดถือได้ว่ามีความสำคัญ เพราะโปรตีนที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนจะถูกนำไปใช้ผ่านทางจุลินทรีย์ และจำเป็นอย่างยิ่งต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะรูเมน หากขาดโปรตีนชนิดนี้จะทำให้กระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมนเกิดได้ไม่สมบูรณ์ สำหรับโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนจะถูกย่อยโดยเอนไซม์จากตัวสัตว์ที่บริเวณลำไส้ได้เป็นกรดอะมิโนสำหรับโคนมเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการ

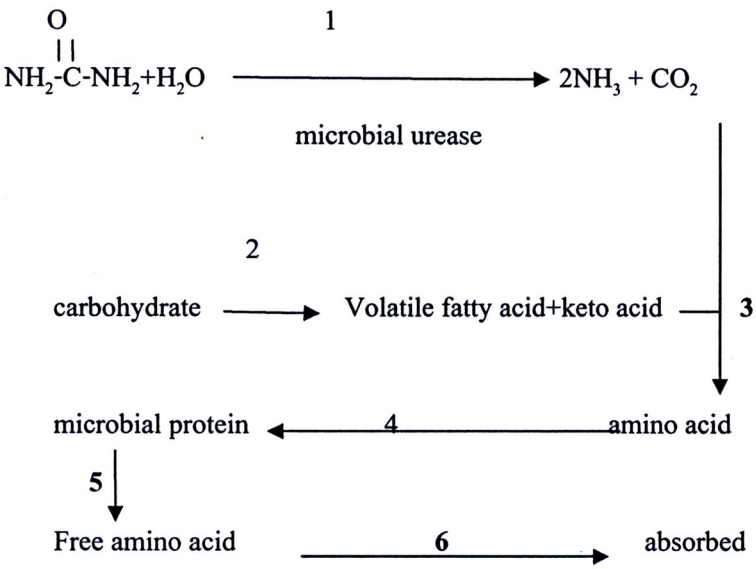
สัตว์ในแต่ละระยะช่วงการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิต มีความต้องการระดับโปรตีนรวมถึงอัตราส่วนระหว่างโปรตีนที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนแตกต่างกัน เช่น โคนมในช่วงที่ให้ผลผลิตสูงมีความต้องการโภชนะเพื่อการดำรงชีพเพิ่มสูงขึ้น (Creighton et al., 2003) อย่างไรก็ตาม Santos et al. (1998) และ Fu et al. (2001) พบว่าหากมีระดับของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนสูงเกินไป ส่งผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์โปรตีนที่พบในลำไส้เล็กลดลง และไม่มีผลเพิ่มระดับกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น ไลซีน (lysine) โดย NRC (1988) แนะนำว่าควรมีโปรตีนที่ถูกย่อยสลายในกระเพะรูเมนในสูตรอาหารประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนควรมีประมาณ 35-40 เปอร์เซ็นต์

2.3.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen) เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบแต่ไม่ได้รวมตัวอยู่ในรูปของโปรตีนได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ(free amino acid) ไพริมิดีน (pyrimidines) พิวรีน (purine) สายเพปไทด์ (peptide) เอไมด์ (amides) เอมีน (amines) เกลือแอมโมเนี่ยม (ammonium salts) ไนเตรท (nitrate) ไนไตรท์ (nitrite) ยูเรีย (urea) และไบยูเรท (biuret) เป็นต้น สารประกอบต่างๆเหล่านี้ไม่มีคุณสมบัติเป็นโปรตีน แต่จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนสามารถดึงเอาไนโตรเจนจากสารประกอบเหล่านี้เพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีนต่อไป

2.4 การเข้าย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมน

จุลินทรีย์ที่เข้าย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมนที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา โดยกลุ่มที่มีบทบาทสูงสุดคือ แบคทีเรีย การเข้าย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ต้องการสภาวะที่เหมาะสม เช่น สภาพความเป็นกรด-ด่างควรอยู่ในช่วง 6.3-7.0 (เมธา, 2533) และอยู่ในสภาวะไร้

ออกซิเจน อิทธิพลที่มีผลต่อความสามารถในการเข้าย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ คือ พันธะไดซัลไฟด์ ขนาดของชิ้นอาหาร อัตราการหมุนกลับ (retention time) โดยสัตว์แต่ละชนิดก็มีผลต่อการย่อยได้ของโปรตีนเช่นกัน



ภาพที่ 2.2 เมแทบอลิซึมของยูเรียในกระเพาะรูเมน
ที่มา: บุญล้อม (2547)

2.4.1 การเข้าย่อยสลายโปรตีนโดยแบคทีเรีย

เมื่อสัตว์ได้รับอาหารโปรตีน พบว่าแบคทีเรียจะเข้ามามีบทบาทโดยเฉพาะกลุ่ม proteolytic bacteria ได้แก่ *Bacteroides amylophilus*, *Clostridium sporgens* และ *Baciilus inchefermis* เป็นต้น กิจกรรมของแบคทีเรียจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด และลักษณะของอาหาร (เมธา, 2533) โดยแบคทีเรียจะหลั่งเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน (peptidase) และเอนไซม์สำหรับตัดหมู่อะมิโน (deaminase) ได้เป็นสายโพลีเพปไทด์ สายเพปไทด์ และกรดอะมิโน กระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นภายนอกเซลล์แบคทีเรีย จากนั้นสายเพปไทด์ และกรดอะมิโนจะถูกดูดซึมเข้าไปในเซลล์แบคทีเรีย กรณีที่ดูดซึมในรูปของสายเพปไทด์จะถูกย่อยสลายต่อให้เป็นกรดอะมิโน ซึ่งกรดอะมิโนส่วนหนึ่งจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนของแบคทีเรีย และบางส่วนถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียไนโตรเจน กรดไขมันที่ระเหยได้ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สเมทเธน ซึ่งผลผลิตเหล่านี้จะถูกขับออกจากเซลล์แบคทีเรียมาอยู่ในของเหลวภายในกระเพาะรูเมน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย

สำหรับกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน พบว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) โดยเฉพาะไลซีน และเมทไธโอนีน (methionine) ตลอดทั้งกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non-essential amino acid) ได้เอง (บุญล้อม, 2541) โดยพบว่าไนโตรเจนภายในเซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ สังเคราะห์จากแอมโมเนียไนโตรเจน และประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ สังเคราะห์จากกรดอะมิโน (เมธา, 2533) ส่วนโปรโตซัวใช้ไนโตรเจนในรูปของกรดอะมิโนน้อยมาก โดยจะได้รับไนโตรเจนจากเซลล์แบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนมีการใช้พลังงานสูง (adenosine triphosphate, ATP) เพื่อใช้เป็นแหล่งของพลังงานในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

2.4.2 การเข้าย่อยสลายโปรตีนโดยโปรโตซัว

โปรโตซัวภายในกระเพาะรูเมนแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ciliated protozoa และ flagellated protozoa ซึ่งชนิดหลังนี้สามารถพบได้ในกระเพาะรูเมนของสัตว์อ่อนเท่านั้น (เมธา, 2533) โปรโตซัวที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้เรียกว่า proteolytic protozoa ได้แก่ *Entodium, Isotrichia, Eudiplodiunium* และ*Opryoscolex* ส่วนกลุ่ม *Isotrichia* โดยการกลืนกินอนุภาคอาหารเล็กๆ และเซลล์แบคทีเรีย เป็นสาเหตุให้ประชากรแบคทีเรียลดลง ส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักได้ (Koenig et al., 2003) การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ของโปรโตซัวส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นภายในเซลล์ของโปรโตซัว ซึ่งกรดอะมิโนที่สังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกสู่ของเหลวภายในกระเพาะรูเมน หากมีการกำจัดโปรโตซัว จะส่งผลให้แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนลดลง เนื่องจากประชากรของแบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้มีการใช้แอมโมเนียไนโตรเจน เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้โปรตีนที่ถูกโปรโตซัวย่อยสลายบางส่วน จะถูกหลั่งปลดปล่อยกลับออกมาสู่ของเหลวในกระเพาะรูเมน และพบว่ามากกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ จะมีการหมุนเวียนนำกลับไปใช้โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Punia et al., 1992)

2.4.3 การเข้าย่อยสลายโปรตีนโดยเชื้อรา

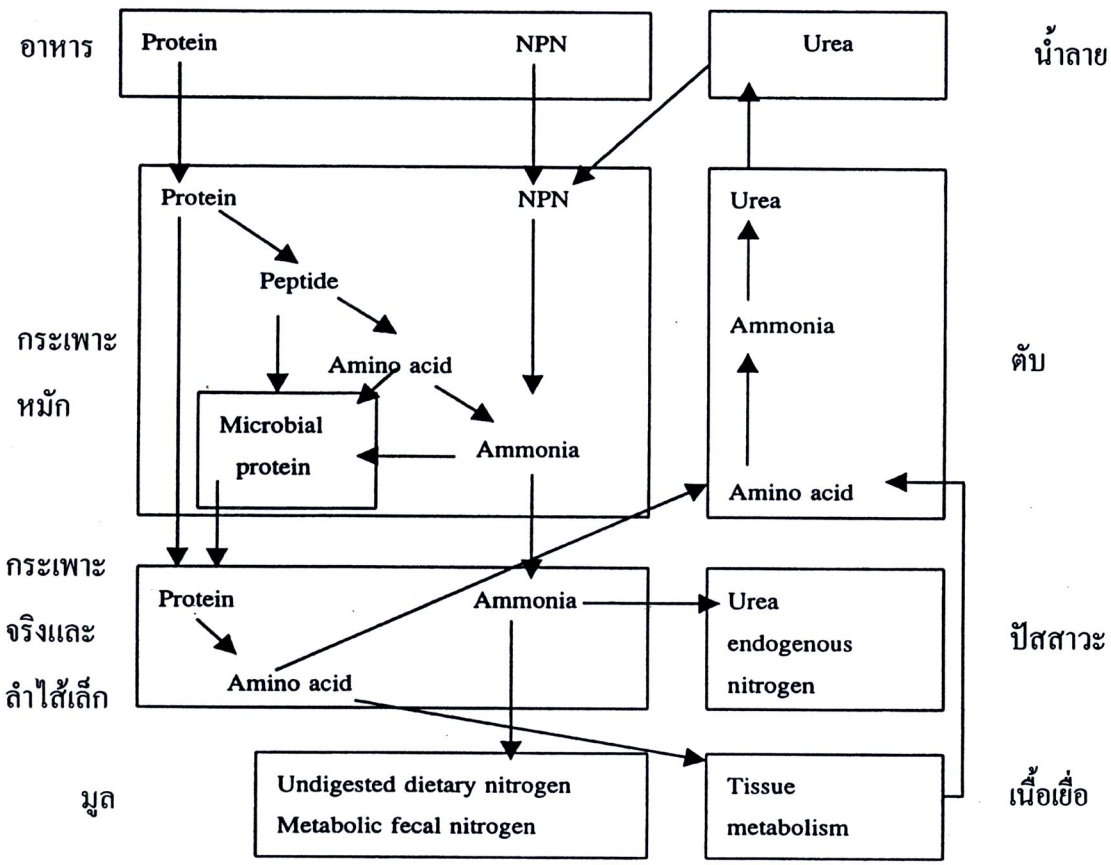
โดยทั่วไปแล้วเชื้อราในกระเพาะรูเมนนั้นจะมีบทบาทในการย่อยอาหารเยื่อใยเป็นส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตาม Hungate (1966) รายงานว่าเชื้อรามีความสามารถในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ โดยส่วนใหญ่แล้วจัดเป็นกลุ่มของ metalloprotease มีสังกะสีเป็นโคเอนไซม์ ซึ่งจะมีการสังเคราะห์เอนไซม์จากภายในเซลของเชื้อราแล้วปลดปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์ เพื่อทำหน้าที่ย่อยสลายอาหารโปรตีนต่อไป

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุด ชั้น
วันที่ 21 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 218259
เลขเรียกหนังสือ

2.5 เมแทบอลิซึมของโปรตีน

แหล่งของแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนได้มาจากการย่อยสลายของโปรตีน สายเพปไทด์ กรดอะมิโน และสารประกอบไนโตรเจนที่สลายตัวได้ง่าย เช่น ยูเรีย กรดยูริก และไนไตรท์ นอกจากนี้กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ก็สามารถถูกย่อยสลายได้เป็นแอมโมเนียไนโตรเจน เช่นกัน (ภาพที่ 2.3) หลังจากที่โปรตีนถูกย่อยสลายได้เป็นสายเพปไทด์ และกรดอะมิโน จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียไนโตรเจน โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน หากระดับของแอมโมเนียไนโตรเจน สูงเกินกว่าความต้องการเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่มีระดับพลังงานอยู่อย่างจำกัด พบว่าแอมโมเนียบางส่วนจะถูกดูดซึมผ่านผนังของกระเพาะรูเมนเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อลำเลียงไปยังตับ โดยผ่านทางเส้นเลือดดำ portal vein เพื่อเมทธาบอไลต์ให้เป็นยูเรียโดยวัฏจักรยูเรีย ซึ่งเกิดขึ้นที่บริเวณไมโทคอนเดรียของเซลล์ตับ โครงสร้างของยูเรียประกอบด้วยกรดอะมิโน 2 หมู่ และคาร์บอนิล 1 หมู่ โดยหมู่คาร์บอนิลเกิดจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย (พจน์ และคณะ, 2543) ดังนั้นวัฏจักรยูเรีย จึงทำหน้าที่ในการกำจัดผลผลิตสุดท้าย 2 ชนิดได้แก่ แอมโมเนีย และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ การเพิ่มของยูเรียในกระแสเลือดเป็นผลมาจากการได้รับโปรตีนแท้ หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับสูง (Hwang et al., 2001) โดยความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือดสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสมดุลระหว่างโปรตีน และพลังงานอีกทั้งช่วงเวลาในการได้รับอาหาร (Oltner and Wiktorsson, 1983) โดย Palmquist et al. (1993) ได้รายงานว่าระดับของยูเรียในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังจากได้รับอาหารประมาณ 2-4 ชั่วโมง สอดคล้องกับ NRC (1989) ที่รายงานว่า โคนมจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนสูงสุด หลังจากโคได้รับอาหารมาแล้ว 1.5-2 ชั่วโมง และหลังจากนั้นประมาณ 4 ชั่วโมง จะมีระดับของยูเรียในกระแสเลือดสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของอาหารก็มีอิทธิพลต่อระดับของยูเรียในกระแสเลือด (Gustafsson and Palmquist, 1993)

ยูเรียที่แพร่ไปตามกระแสเลือดส่วนหนึ่งจะหมุนเวียนผ่านทางน้ำลาย และแพร่ผ่านผนังกระเพาะรูเมนทำให้จุลินทรีย์ได้รับไนโตรเจนเพิ่มขึ้น เมธา (2533) พบว่าในน้ำลายมียูเรียประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมด ยูเรียที่แพร่ผ่านทางผนังกระเพาะรูเมนจะถูกจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบริเวณผนังกระเพาะรูเมนย่อยสลายโดยเอนไซม์ยูเรียเอส ได้แอมโมเนียไนโตรเจน เมื่อจุลินทรีย์ขาดไนโตรเจนจะมีการนำแอมโมเนียไนโตรเจน กลับเข้าสู่กระเพาะรูเมนประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนที่สัตว์ได้รับทั้งหมด



ภาพที่ 2.3 เมแทบอลิซึมของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง
ที่มา: Mercer and Annison (1976 อ้างถึงโดย เมธา, 2533)

Satter and Slyter (1974) รายงานว่า ในโคนมเขตหนาวมีความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนที่ระดับ 5-8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ต่ำสุดที่ยังคงให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง สำหรับโคเขตร้อนพบประมาณ 20 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่จุลินทรีย์สามารถดึงไนโตรเจนจากแอมโมเนียไนโตรเจน มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุด ในด้านปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และการรักษาระบบนิเวศของกระเพาะรูเมน ช่วยลดการสูญเสียไนโตรเจน (Perdox et al., 1988, อ้างถึงโดย เมธา, 2533) กรณีที่ระดับแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนสูงเกินไป อาจเป็นพิษได้เนื่องจากแอมโมเนียมีฤทธิ์เป็นด่างส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะรูเมนเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ส่วนหนึ่งยังถูกกำจัดออกในรูปยูเรียทางปัสสาวะ (Castillo et al., 2001) สร้างมลภาวะกับสิ่งแวดล้อม (Krober et al., 2000; Wu and Satter, 2000; Knaus et al., 2001; Sannes et al., 2002) แต่

มีรายงานว่าหากความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนที่ต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตจุลินทรีย์โปรตีนมีแนวโน้มลดลง และการเข้าย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตลดลง (Griswold et al., 2003)

2.6 ผลของอาหารโปรตีนต่อประสิทธิภาพการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง

2.6.1 ผลต่อปริมาณการกินได้

ระดับโปรตีนในอาหารที่สูงขึ้น ส่งผลให้ปริมารการกินได้ของวัตถุแห้ง และอินทรียวัตถุเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย (Ludden et al., 2002) เนื่องจากแหล่งอาหารโปรตีนมีผลต่อประสาทสัมผัส เช่น การมองเห็น กลิ่น ส่งผลให้ปริมาณการกินได้เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแหล่งอาหารโปรตีนแท้ สามารถกระตุ้นปริมาณการกินได้ดีกว่ายูเรียและพบว่าโคนมที่ได้รับโปรตีนที่สามารถสลายในกระเพาะรูเมนได้ระดับสูงมีปริมาณการกินได้เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าโคนมที่ได้รับแหล่งโปรตีนที่สลายในกระเพาะรูเมนได้ต่ำ และมีรายงานว่าการเสริมกากถั่วเหลืองในอาหารข้นสามารถกระตุ้นการกินได้มากกว่ายูเรีย ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ได้รับไนโตรเจนอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโตจึงทำการเข้าย่อยสลายเยื่อใย เพื่อให้ได้พลังงานเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อาหารไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมนเร็วขึ้น ทำให้ปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม หากระดับโปรตีนสูงเกินความต้องการในขณะที่คาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอต่อความต้องการ จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์ลดลง แต่มีการขับถ่ายธาตุไนโตรเจน และยูเรียไนโตรเจนออกจากร่างกายเพิ่มขึ้น (Griswold et al., 2003; Marini and Van Amburgh, 2003) สอดคล้องกับ Wu and Satter (2000) พบว่า การลดระดับโปรตีนในอาหารข้นโคนมช่วงแรกของการให้นมจาก 20.0 เป็น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตน้ำนม ซึ่งมีประมาณ 36.1 และ 36.0 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีระดับไนโตรเจนที่ขับถ่ายออกมาเท่ากันคือ 0.16 กิโลกรัมต่อวัน สอดคล้องกับรายงานของ Volden (1999) ที่ศึกษาการลดปริมาณโปรตีนในอาหารข้นจาก 18 เป็น 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตน้ำนม และปริมาณโปรตีนในน้ำนม และพบว่าระดับธาตุไนโตรเจนที่ขับถ่ายออกมามีค่าใกล้เคียงกัน 0.14 และ 0.11 กิโลกรัมต่อวัน (ตารางที่ 2.3)

2.6.2 ผลต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

แบคทีเรียสามารถนำเอาแอมโมเนียไนโตรเจน ที่ได้จากการสลายโปรตีนเพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนภายในเซลได้ (Fu et al., 2001) ขณะที่โปรโตซัวไม่สามารถนำใช้แอมโมเนีย-ไนโตรเจนได้ ดังนั้นโปรโตซัวจึงอาศัยกรดอะมิโนเป็นสำคัญ โดยจะได้รับกรดอะมิโนจากการย่อย

เซลแบคทีเรีย (NRC, 2001) อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน ที่เหมาะสมต่อประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดยังมีความแปรปรวนสูง เช่นระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่ระดับ 5.6-7.0 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เป็นความเข้มข้นต่ำสุดภายในกระเพาะรูเมนที่ทำให้มีการผลิตมวลจุลินทรีย์จากโภชนะที่มีอยู่ และเมื่อแอมโมเนียไนโตรเจน เพิ่มสูงขึ้นถึงระดับ 23.8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ทำให้มีไนโตรเจนจากจุลินทรีย์ (microbial nitrogen) สูงสุด (ฉลอง, 2541) สำหรับในกระบือ Pimpa et al. (1996) พบว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจน ในกระเพาะรูเมนที่ความเข้มข้น 17.6 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เป็นความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมต่อกระบวนการหมักภายในกระเพาะ รูเมน ส่งผลทำให้ปริมาณการกินได้ของฟางข้าว และความสามารถในการย่อยได้เพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 2.3 ผลของระดับโปรตีนต่อการปลดปล่อยไนโตรเจนสู่สิ่งแวดล้อม

โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	การกินได้ของวัตถุแห้ง (กิโลกรัม/วัน)	ผลผลิตน้ำนม (กิโลกรัม/วัน)	โปรตีนนม (กิโลกรัม/วัน)	ไนโตรเจนที่ขับออก (กิโลกรัม/วัน)	อ้างอิง
15.0	-	-	2.2	0.33	Dinn et al.
17.0	-	-	2.2	0.33	(1998)
15.0	9.1	13.1	3.2	0.11	Volden (1999)
18.0	9.1	13.1	3.3	0.14	
17.5	25.4	36.0	1.0	0.16	Wu and Satter
20.0	24.7	36.1	1.0	0.16	(2000)

แหล่งของไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนนั้นที่สำคัญมี 2 แหล่งคือ สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และโปรตีนแท้ ซึ่ง NRC (2001) รายงานว่าการใช้ยูเรีย ต่อกรดอะมิโนในสัดส่วน 75:25 ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้ยูเรียที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ยังพบว่ากรดอะมิโน หรือสายเพปไทด์จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้นเมื่อมีแหล่งของพลังงานที่ย่อยสลายเร็วอย่างเพียงพอ (Russell et al., 1992; Chikunya et al., 1996; Castillo et al., 2001; Fu et al., 2001) โดยแหล่งไนโตรเจนสำหรับการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนส่วนใหญ่มาจากแอมโมเนียไนโตรเจน และประมาณ 26 เปอร์เซ็นต์ได้จากสายเพปไทด์ (Wallace, 1997)

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการนำใช้ C^{14}-AA และสายเพปไทด์ สำหรับกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้สายเพปไทด์ได้ดีกว่ากรดอะมิโนอิสระ (NRC, 2001) และจากรายงานของ Ling and Armstead (1995) พบว่า *Selenomonas bovis*, *Selenomonas ruminatium*, *Fibrobactor succinogenes* และ *Anarovibio lipolytica* ต้องการกรดอะมิโนอิสระ ส่วน *P. ruminicola* นั้นต้องการสายเพปไทด์สำหรับกระบวนการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

2.7 ความต้องการโปรตีนในโคนม

2.7.1 ความต้องการโปรตีนสำหรับโคสาวทดแทน

การลดระดับพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด และโปรตีนในอาหารโครุ่นลง 10 เปอร์เซ็นต์ จากระดับที่ NRC (1989) แนะนำ พบว่ามีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง Promma et al.(1993) โดย สมคิด และบุญล้อม (2540) ได้รายงานว่าโคนมรุ่นที่มีอายุ 0-6, 6-12 และอายุมากกว่า 12 เดือน ที่ลี้ยงด้วยสูตรอาหารผสมสำเร็จรูปที่มีอัตราการเจริญเติบโตประมาณ 600 กรัมต่อวัน ควรได้รับอาหารที่มีโปรตีนประมาณ 14, 12 และ 11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และควรได้รับพลังงานของยอดโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดประมาณ 67, 65 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ NRC (1989) รายงานว่าโครุ่นมีอัตราการเจริญเติบโต 600 กรัมต่อวัน จำเป็นต้องได้รับพลังงานของโภชนะที่ใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดประมาณ 1.84 เปอร์เซ็นต์ และได้รับโปรตีน 421 กรัมต่อวัน หรือ 16 เปอร์เซ็นต์ จากอัตราการกินได้ของวัตถุแห้ง 2.6 กิโลกรัมต่อวัน จะเห็นได้ว่าความต้องการของโคนมพันธุ์ผสมโฮลส์ไตน์ในประเทศไทยต่ำกว่าข้อแนะนำของ NRC (1989) เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตของโคนมพันธุ์ผสมเพียง 600 กรัมต่อวัน ต่ำกว่ามาตรฐานของพันธุ์โคนมโฮลสไตน์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตประมาณ 700 กรัมต่อวัน (NRC, 1988)

2.7.2 ความต้องการโปรตีนสำหรับโครีดนม

สมคิด และบุญล้อม (2540) ได้ประเมินความต้องการโภชนะของโคนมในประเทศไทยดังแสดงใน ตารางที่ 2.4 พบว่าโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมในระดับต่ำ (10-14 กิโลกรัมต่อวัน) ที่ได้รับสูตรอาหารผสมสำเร็จรูป ต้องการพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดประมาณ 64 เปอร์เซ็นต์ และต้องการโปรตีนประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่โคที่ให้ผลผลิตน้ำนมระดับปานกลาง (15-20 กิโลกรัมต่อวัน) และให้ผลผลิตน้ำนมระดับสูง (21-30 กิโลกรัมต่อวัน) ที่ได้รับสูตรอาหารผสมสำเร็จรูป ต้องการพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดประมาณ 67 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับระดับที่ NRC (1988) แนะนำ คือ โคนมที่ให้ผลผลิต

น้ำนมน้อยกว่า 8, 8-13, 13-18 และมากกว่า 18 กิโลกรัมต่อวัน ต้องได้รับโปรตีนในสูตรอาหาร 13, 14, 15 และ 16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 2.4 โภชนะที่ต้องการสำหรับโคโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยนที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จ

น้ำหนัก	ผลผลิตน้ำนม (กิโลกรัม/วัน)			โคสาว		
400	10	15	21	3-6	6-12	>12
500	12	18	25	เดือน	เดือน	เดือน
600	14	20	30			
พลังงาน						
โภชนะที่ย่อยได้รวม, เปอร์เซ็นต์	64.0	67.0	67.0	67.0	65.0	62.0
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้,Mcal/kg	2.3	2.4	2.4	2.4	2.4	2.2
โปรตีน						
โปรตีนหยาบ, เปอร์เซ็นต์	14.0	16.0	16.0	14.0	12.0	11.0
โปรตีนที่ย่อยสลายไม่ได้,เปอร์เซ็นต์	37.0	37.0	36.0	42.0	38.0	26.0
เยื่อใย						
เยื่อใย ADF,เปอร์เซ็นต์(maximun)	30.0	30.0	27.0	30.0	30.0	31.0
ไขมัน, เปอร์เซ็นต์ (minimum)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

ที่มา: Modified from สมคิด และบุญล้อม (2540)

นอกจากนั้น ระดับของเยื่อใยในสูตรอาหารผสมสำเร็จรูปของโคนมทุกระดับมีปริมาณที่สูงกว่าคำแนะนำของ NRC (1988) คือต้องมีเยื่อใย ADF และ NDF ประมาณ 21 และ 28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

NRC (2001) ได้ให้คำแนะนำว่า โคนมที่กำลังให้ผลผลิตสูงๆ อาจต้องการโปรตีนสูงถึง 23 เปอร์เซ็นต์ แต่การเพิ่มโปรตีนในอาหาร จาก 15 เป็น 16 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตน้ำนมโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.8 กิโลกรัมต่อวัน แต่เมื่อเพิ่มโปรตีนในสูตรอาหารจาก 19 เป็น 20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นเพียง 0.4 กิโลกรัมต่อวัน ดังนั้นจึงต้องพิจารณาถึงความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย นอกจากนั้นแล้วควรพิจารณาถึงระดับของโปรตีนที่ถูกย่อยสลายและไม่ถูกย่อยสลายภายในกระเพาะรูเมนร่วมด้วย ดังรายงานของ NRC (2001) ที่แนะนำว่า

เมื่อโคนมมีปริมาณการกินได้ ที่ 20.6 กิโลกรัมต่อวัน ควรมีโปรตีนที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน ประมาณ 12.2 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน ประมาณ 6.2 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง เมื่อเพิ่มโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายภายในกระเพาะรูเมนขึ้นอีก 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปริมาณผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นแบบเส้นตรง คือ 1.9 กิโลกรัมต่อวัน จากการรายงานของ Wu and Satter (2000) ได้แนะนำว่า โคนมที่มีจำนวนวันให้นม (Day in milk, DIM) 0-8, 8-16, 16-30 และ 30-44 สัปดาห์ หลังคลอดควรได้รับโปรตีนในสูตรอาหารข้นประมาณ 17, 19, 17 และ 16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากรายงานของ (Frank et al., 2002) รายงานว่าโปรตีนที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารเป็นระดับต่ำสุดที่เพียงพอสำหรับการทำงานภายในกระเพาะรูเมน และการให้ผลผลิต 15 กิโลกรัมต่อวัน โดยการเพิ่มโปรตีนในสูตรอาหารเพิ่มขึ้นอีก 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้มีไนโตรเจนที่ถูกขับออกพร้อมกับมูลเพิ่มขึ้น 1.9 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักมูล 1 กิโลกรัม

คุณภาพของอาหารหยาบเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่ต้องพิจารณาในการประกอบสูตรอาหาร หากโคนมได้รับอาหารหยาบคุณภาพสูง คือมีโปรตีนมากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ และมีพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารข้นควรมีโปรตีนประมาณ 12.6 และ 14.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กรณีที่โคนมได้รับอาหารหยาบคุณภาพระดับปานกลาง คือ มีปริมาณโปรตีนและพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ประมาณ 8 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารข้นควรมีโปรตีนประมาณ 16.7 และ 17.8 เปอร์เซ็นต์ และถ้าอาหารหยาบคุณภาพต่ำ คือมีโปรตีน และพลังงานของโภชนะที่ย่อยได้ 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โคนมควรได้รับโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นในสูตรอาหารประมาณ 21.3 และ 21.7 เปอร์เซ็นต์ (เมธา และ ฉลอง, 2533) (ตารางที่ 2.6)

Frank et al. (2002) รายงานว่า เมื่อโคนมได้รับสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนเท่ากันแต่เมื่อให้แบบสูตรอาหารสำเร็จรูป ทำให้โคนมมีปริมาณการกินได้ที่สูงกว่า การให้อาหารแบบแยกให้ระหว่างอาหารข้น และอาหารหยาบ โดยการให้สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตน้ำนม และโปรตีนนม ขณะที่การให้โปรตีน 19 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารพบว่าไม่ทำให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น แต่ทำให้ความเข้มข้นของยูเรียในกระแสเลือด ยูเรียในน้ำนม และปริมาณไนโตรเจนในมูล เพิ่มสูงขึ้น โดย Tamminga (1996) รายงานว่าโคนมจะมีการปลดปล่อยไนโตรเจนสู่อากาศ และดินประมาณ 10-45 กรัมต่อการผลิตน้ำนม 1 กิโลกรัม ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เช่นในประเทศสวีเดนพบว่าปริมาณแอมโมเนียที่ถูกปลดปล่อยจากอุตสาหกรรมปศุสัตว์มีมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมาจากการเลี้ยงโคสูงถึง 64 เปอร์เซ็นต์ (Frank and Swensson, 2002)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณสารอาหารที่แนะนำสำหรับโคนม

น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักที่เพิ่ม (กิโลกรัมต่อวัน)	อาหารโค (เปอร์เซ็นต์)				
400	5.0	0.220	7	13	20	ช่วงแรกของการให้นม 0-3 สัปดาห์	ช่วงโคตั้งท้อง
500	4.5	0.275	8	17	25		
600	4.0	0.330	10	20	30		
700	3.5	0.386	12	24	36		
800	3.5	0.440	13	27	40		
พลังงาน							
พลังงานสุทธิเพื่อการผลิตน้ำนม, Mcal/kg			1.4	1.5	1.6	1.7	1.3
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้,Mcal/kg			2.4	2.5	2.7	2.8	2.0
โภชนะที่ย่อยได้รวม, เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง			7.8	8.7	9.6	7.9	12.0
โปรตีนเทียบเท่า							
โปรตีนหยาบ, เปอร์เซ็นต์			12.0	15	16.0	19.0	12.0
โปรตีนที่ย่อยสลายไม่ได้, เปอร์เซ็นต์			4.4	5.2	5.7	7.9	-
โปรตีนที่ย่อยสลายได้, เปอร์เซ็นต์			7.8	8.7	9.6	9.7	-
เยื่อใย							
เยื่อใยหยาบ, เปอร์เซ็นต์			17.0	17.0	17.0	17.0	22.0
เยื่อใย ADF, เปอร์เซ็นต์			21.0	21.0	21.0	21.0	27.0
เยื่อใย NDF, เปอร์เซ็นต์			28.0	28.0	28.0	28.0	35.0
ไขมัน, เปอร์เซ็นต์			3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

ที่มา: Modified from NRC (1989)

ตารางที่ 2.6 ความต้องการโภชนะในอาหารข้นสำหรับโครีดนม

คุณภาพอาหารหยาบ	น้ำหนัก, กิโลกรัม	ผลผลิตน้ำนม, กิโลกรัม/วัน			
	<400	<8	8-13	13-18	>18
	500	<11	11-17	17-23	>23
	600	<14	14-21	21-29	>29
	>700	<18	18-26	26-35	>35
ดีมาก[1]					
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		10.0	12.6	14.2	15.7
พลังงาน (เปอร์เซ็นต์พลังงานรวม)		52.5	59.2	65.8	72.4
ดี[2]					
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		15.0	16.7	17.8	18.9
พลังงาน (เปอร์เซ็นต์พลังงานรวม)		65.0	71.7	77.1	82.1
พอใช้[2]					
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		19.7	21.3	21.7	22.2
พลังงานม (เปอร์เซ็นต์พลังงานรวม)		71.7	78.3	82.7	86.9

[1]การกินได้ของอาหารหยาบ 1.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว

[2] การกินได้ของอาหารหยาบ 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว

ดีมาก = โปรตีน > 15 เปอร์เซ็นต์ และ TDN 70 เปอร์เซ็นต์

ดี = โปรตีน 8-10 เปอร์เซ็นต์ และTDN 60 เปอร์เซ็นต์

พอใช้ = โปรตีน 2-5 เปอร์เซ็นต์ และ TDN 50 เปอร์เซ็นต์

ที่มา: เมธา และฉลอง (2533)

2.7.3 ความต้องการโปรตีนสำหรับโคพักรีดนม

การให้อาหารสำหรับโคพักรีดนม (dry period) เป็นการให้อาหารเพื่อให้เพียงพอต่อการดำรงชีพ การเพิ่มน้ำหนักตัว และการตั้งครรภ์เป็นสิ่งที่สำคัญมาก เพราะจะส่งผลต่อการให้ผลผลิตน้ำนมช่วงภายหลังคลอด โดยปกติจะพักรีดน้ำนมแม่โคก่อนคลอดประมาณ 60 วัน เพื่อให้แม่โคนมเตรียมตัวสำหรับคลอด และการให้นมภายหลังคลอด โดย NRC (1989) แนะนำว่าโคพักรีดควรได้รับโปรตีนประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ใกล้เคียงกับการรายงานของ

(Frank et al., 2002) ที่พบว่าโคนมที่อยู่ในช่วงท้ายการให้นม ต้องการโปรตีนในสูตรอาหารประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

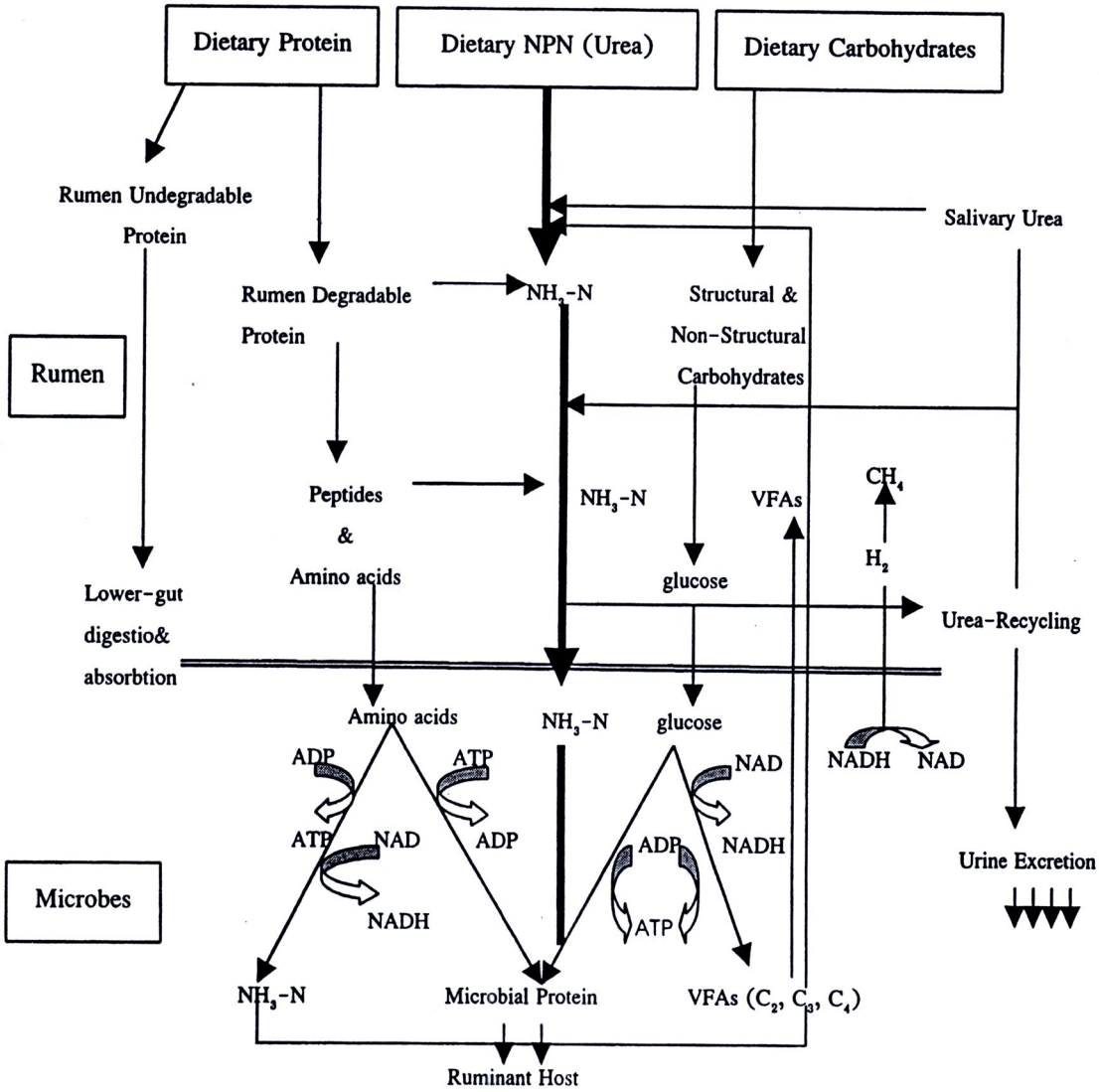
2.8 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและพลังงานในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

สมดุลโภชนะระหว่างโปรตีนและพลังงานในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นปัจจัยที่มีความจำเป็น เนื่องจากโปรตีนและพลังงานต่างก็มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจนการดูดซึมและการนำไปสร้างผลผลิต ความต้องการโปรตีนและพลังงานนั้นแยกเป็น 2 ส่วนหลัก คือส่วนแรกเป็นความต้องการสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และอีกส่วนหนึ่งเป็นความต้องการสำหรับตัวสัตว์เอง (McCarthy et al., 1989) ในการหมักคาร์โบไฮเดรทส่วนหนึ่งจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งของพลังงานสำหรับการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนและอีกส่วนหนึ่งผลิตกรดไขมันระเหยได้ เพื่อเป็นแหล่งพลังงานหลักของตัวสัตว์และจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์ขึ้นก็จะถูกย่อยที่ลำไส้เล็กเป็นแหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์ การเหนี่ยวนำอัตราการย่อยของคาร์โบไฮเดรทและโปรตีนในกระเพาะหมักน่าจะช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพและปริมาณของการสังเคราะห์จุลินทรีย์ แต่หลักการนี้ยากในการทดสอบในงานทดลอง เพราะเป็นการยากในการคำนวณสูตรอาหารเพื่อที่จะควบคุมให้มีเฉพาะการหมักของคาร์โบไฮเดรทและโปรตีนโดยไม่มีความแปรปรวนเนื่องจากสิ่งอื่น ในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนต่อหน่วยของคาร์โบไอเดรทที่ถูกหมัก จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (Mansfield et al., 1994) การใช้ประโยชน์ของโปรตีนที่ย่อยได้มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดกับปริมาณของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) ที่ได้รับ อาหารที่ขาดความสมดุลของพลังงานและโปรตีนมีผลทำให้การผลิตน้ำนม การย่อยได้ของไนโตรเจน และไนโตรเจนในน้ำนมลดลง (Gordon and Forbes, 1970 อ้างถึงใน เมธา, 2533)

โปรตีนเป็นแหล่งที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ จำเป็นต้องอาศัยพลังงานเข้ามาเกี่ยวข้อง ในกรณีที่สัตว์ได้รับพลังงานไม่เพียงพอ โปรตีนจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Henning et al., 1993) (More and Tyrrel, 1972 อ้างถึงใน เมธา, 2533) รายงานว่าการเพิ่มระดับของโปรตีนในอาหารที่ใช้ระดับพลังงานเท่ากัน (isocaloric) ช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโปรตีนและประสิทธิภาพการใช้พลังงานให้สูงขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและพลังงานจะมีผลกระทบต่อปัจจัยหลักที่สำคัญ เช่น ความสามารถในการย่อยได้ ปริมาณการกินได้ รวมทั้งการสังเคราะห์จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักด้วย (Oldham, 1984) ความแปรปรวนของแหล่งคาร์โบไฮเดรท และความสามารถในการย่อยได้ของอาหาร มีผลอย่างมากต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์ และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของสารอาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Casper et al., 1990) ในอาหารที่มีไนโตรเจนต่ำ

จะเป็นตัวจำกัดปริมาณการกินได้ เพราะมีไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของจุลินทรีย์ กิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจึงลดลง มีผลทำให้อัตราการย่อยสลายของอาหารลดลง แต่ถ้าระดับของโปรตีนเกินระดับที่เหมาะสม และทำให้ความสมดุลของพลังงานลดลงนั้น จะทำให้ประสิทธิภาพของการใช้ประโยชน์ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ลดลง แต่ในสภาพที่มีโปรตีนเพียงพอ ตัวที่จำกัดการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน คือ พลังงาน ดังนั้นจึงต้องมีโภชนะทั้งสองอย่างเพียงพอต่อความต้องการของจุลินทรีย์และต่อตัวสัตว์เอง Van Horn et al. (1969) พบว่าสัดส่วนระหว่างพลังงานต่อโปรตีน โดยพิจารณาในรูปของ total digestible nutrient : crude protein (TDN:CP) จะมีความน่าเชื่อถือในการนำมาพิจารณาเพื่อการประกอบสูตรอาหารตามความต้องการของสัตว์มากกว่าการพิจารณาเพียงโปรตีนอย่างเดียว เมื่อสัตว์กินอาหารโปรตีนและพลังงานเพิ่มขึ้น อัตราการไหลผ่านเร็วขึ้น ทำให้ปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น Van Soest (1982) พบว่าในอาหารที่มีโปรตีนต่ำ คือ อยู่ในช่วง 6-8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปริมาณการกินได้ต่ำ และประสิทธิภาพการย่อยได้ในกระเพาะหมักลดลง เนื่องจากขาดแหล่งไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ การสูญเสียไนโตรเจนทางมูล และความสมดุลไนโตรเจนเป็นลบ (negative balance) จะเพิ่มมากขึ้น ถ้ามีการเพิ่มอาหารคาร์โบไฮเดรทที่มีการย่อยได้สูงในอาหารที่มีไนโตรเจนต่ำ

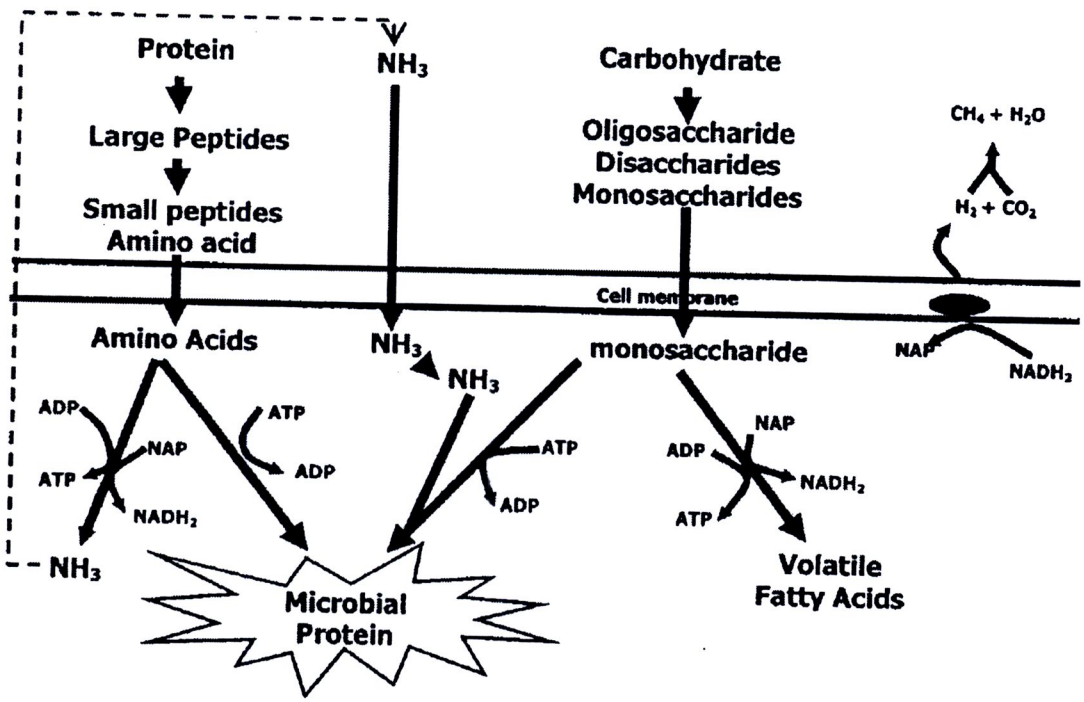
แหล่งของคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยสลายง่ายในโคนมระยะให้ผลผลิต อาจทำให้การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนสูงสุดและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของโปรตีนไหลผ่านสมดุล เมื่อเพิ่มการใช้แอมโมเนียในกระเพาะหมักโดยจุลินทรีย์โปรตีน ปัจจัยที่จำกัดการใช้สารประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนแท้ คือ พลังงาน (Huber and Kung, 1981) สอดคล้องกับรายงานของ Aldrich et al. (1993) กล่าวว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียต่ำลงเมื่ออาหารมีพลังงานสูง สามารถกล่าวได้ว่า การเพิ่มการใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรทที่ละลายง่าย จะทำให้ได้กรดคีโต เพื่อใช้ร่วมกับแอมโมเนียในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน เส้นทางการย่อยสลายและการใช้ประโยชน์ของอาหารโปรตีนและอาหารคาร์โบไฮเดรท โดยแบคทีเรียในกระเพาะหมักดังแสดงใน ภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 การย่อยสลายโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก
ที่มา: Wanapat (2000)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก จะใช้คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายได้ง่ายในกระเพาะหมักเพื่อเป็นแหล่งของพลังงานในรูป Adenosine triphosphate (ATP) สำหรับใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ (Nocek and Russell, 1988) (ภาพที่ 2.5) เพื่อให้มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างเหมาะสม ซึ่งอัตราการผลิต ATP จะมีความสำคัญกับการใช้และการสังเคราะห์เป็นส่วนประกอบของจุลินทรีย์โปรตีน หรือสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีนได้สูงสุด (Aldrich et al., 1993) Haig et al. (2002) ศึกษาระดับของ RDP ที่ 42, 47.9 และ 59 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ NSC ที่

ระดับ 24.5, 24.4 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ได้รับ RDP 47 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ NSC ที่ระดับ 24.4 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โปรตีน และ MP มากที่สุด และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนจะสูงที่สุด เมื่อได้รับอาหารที่มีทั้งคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก เช่นการใช้ข้าวบาร์เลย์เป็นแหล่งของ NSC และการใช้กากเมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งของโปรตีนไหลผ่าน ซึ่งโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักจะเป็นตัวจำกัดปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (Hoover and Stokes, 1991) ดังนั้นอัตราการละลายของโปรตีนและ NSC จึงสัมพันธ์กับเวลาที่อาหารอยู่ในกระเพาะหมัก โดยจุลินทรีย์จะได้รับพลังงาน แอมโมเนีย เพปไทด์ และกรดอะมิโนได้อย่างเพียงพอ เมื่อมีการเลือกใช้วัตถุดิบของอาหารโปรตีนที่มีอัตราการสลายตัวใกล้เคียงกันหรือเสริมกันได้



ภาพที่ 2.5 การใช้ประโยชน์ของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียในกระเพาะหมัก
ที่มา: Nocek and Russell (1988)

2.9 การนำกลับไนโตรเจนเข้าสู่กระเพาะหมัก

ไนโตรเจนสามารถกลับเข้าสู่กระเพาะหมักในรูปของยูเรียโดยผ่านทางน้ำลายและโดยการแพร่ (diffusion) ของยูเรียในเลือดผ่านผนังกระเพาะหมัก ขณะที่ยูเรียผ่านเข้าสู่ผนังกระเพาะหมัก

นั้น ส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย โดยเอนไซม์ยูรีเอส ของแบคทีเรียที่ซึมเข้าไปอยู่ใน ruminal epithelium การนำกลับของยูเรียเข้าสู่กระเพาะหมักนี้ช่วยทำให้การใช้ประโยชน์จากไนโตรเจนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในช่วงที่สัตว์ได้รับอาหารที่มีไนโตรเจนต่ำ หรืออยู่ในระยะอดอาหาร โดยประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนทั้งหมดที่สัตว์ได้รับ จะถูกนำกลับเข้าสู่กระเพาะหมักโดยผ่าน 2 ทางดังกล่าว (เมธา, 2533) แอมโมเนียไม่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์จะถูกดูดซึมผ่านกระเพาะหมักเข้ากระแสโลหิต ความเข้มข้นของแอมโมเนียลดต่ำลงอย่างรวดเร็วโดยผลิตเป็นยูเรียโดยวัฏจักรยูเรียในไซโตซอล (cytosal) และไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ที่ตับ N อะตอมหนึ่งของยูเรียมาจาก NH_4^+ และ N อีกอะตอมหนึ่งมาจาก แอสปาร์เตท (aspartate) ส่วน C อะตอมมาจาก CO_2 ออร์นิทีน (ornithine) ทำหน้าที่เป็นพาหะของ C และ N อะตอม ในยูเรีย สารต้นตอโดยตรงของยูเรีย คือ อาร์จินีน จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็นยูเรีย และออร์นิทีน โดยการทำงานของเอ็นไซม์ อาร์จิเนส (arginase) (อาภัสสรา, 2537)

2.10 นิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมน

สัตว์เคี้ยวเอื้องมีกระเพาะแบ่งเป็น 4 ส่วนประกอบด้วย รูเมน (rumen) เรติคูลัม (reticulum) โอมาซัม (omasum) และอะโบมาซัม (abomasums) กระเพาะรูเมนมีความสำคัญอย่างยิ่งในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากเป็นบริเวณที่เกิดกระบวนการทางชีวเคมีต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ซึ่งมีความแตกต่างจากกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนอื่น ๆ เช่น สามารถรักษาระดับอุณหภูมิได้ ซึ่งถูกควบคุมโดยกระบวนการ homeothermic metabolism โดยตัวสัตว์เอง กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย (volatile fatty acids; VFAs) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) เป็นต้น ภายในกระเพาะรูเมนมีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 6.0-7.0 และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 39-40 องศาเซลเซียส (Van Soest, 1994) จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนส่วนใหญ่เป็นพวก obligate anaerobes คือพวกที่ไม่สามารถอยู่ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และพวก facultative anaerobes ซึ่งอยู่ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่บ้าง แต่ถ้ามีระดับของออกซิเจนมากเกินไปอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ (เมธา, 2533) จุลินทรีย์ที่พบในกระเพาะรูเมนมีมากมายหลายชนิด มีคุณสมบัติที่สำคัญคือ มีชีวิตอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน และมีการสร้างผลผลิตสุดท้ายชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งพบในกระเพาะรูเมนเท่านั้น และต้องมีปริมาณไม่ต่ำกว่า 1 ล้านเซลล์ต่อกรัมของ rumen contents จุลินทรีย์ที่พบในกระเพาะรูเมนแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา โดยแบคทีเรียมีจำนวนประชากรประมาณ 10^9-10^{11} เซลล์ต่อมิลลิลิตร

โปรโตซัวมีจำนวนประชากรประมาณ 10^5-10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเชื้อรามีจำนวนประชากรประมาณ 10^2-10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Hungate, 1966)

2.10.1 แบคทีเรียในกระเพาะรูเมน

แบคทีเรียเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีปริมาณมากที่สุดในกระเพาะรูเมน และพบว่ามีมากกว่า 200 ชนิด ทั้งแกรมบวก (gram positive) และแกรมลบ (gram negative) ทั้งยังมีรูปร่างต่าง ๆ เช่น แท่ง (rods) กลม (cocci) เกรียว (helical) เส้น (filament) แขนง (branching filament) เป็นต้น จำนวนของแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนจะมีการกระจายตัวอยู่หลายรูปแบบภายในกระเพาะรูเมน (เมธา, 2533; ฉลอง, 2541) ดังนี้

2.10.1.1 แบคทีเรียที่ลอยตัวโดยอิสระภายในของเหลวรูเมน มีประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียทั้งหมด มีการแบ่งตัวสูงเพราะในกระเพาะรูเมนมีการไหลออกของของเหลวในระยะ liquid phase ดังนั้นอัตราการแบ่งตัวของจุลินทรีย์เหล่านี้จึงต้องสูงกว่า rumen fluid dilution rate

2.10.1.2 แบคทีเรียที่เกาะติดกับอนุภาคของอาหารมีประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียทั้งหมด โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ย่อยสลายอาหารหยาบ การเข้าเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวของอนุภาคอาหารนั้นเป็นลักษณะที่พิเศษมาก

2.10.1.3 แบคทีเรียที่ยึดเกาะกับผนังของกระเพาะรูเมน เป็นพวก facultative anaerobe พบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ทำหน้าที่สำคัญหลายประการในกระเพาะรูเมน กล่าวคือ

- สามารถใช้โปรตีนจากเซลล์ผนังรูเมนที่ตายแล้ว โดยอาศัยกระบวนการ deamination
- สามารถผลิตเอนไซม์พวก protease ในรูเมนได้มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์
- สามารถผลิตเอนไซม์ urease ซึ่งจะไฮโดรไลซ์ยูเรียให้ได้แอมโมเนีย และอาจมีส่วนช่วยในการขนถ่ายยูเรียผ่านผนังรูเมนให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น
- จุลินทรีย์กลุ่มนี้อาจมีส่วนช่วยป้องกันพวก obligate anaerobes จากการทำลายของออกซิเจน
- จุลินทรีย์กลุ่มนี้อาจใช้ออกซิเจนที่ซึมผ่านผนังรูเมนในการผลิตพลังงาน โดยผ่านกระบวนการ oxidative phosphorylation

2.10.1.4 แบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่กับโปรโตซัว โดยเฉพาะพวก methanogens นอกจากนี้แบคทีเรียในกระเพาะรูเมนยังสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น หรือการผลิตผลผลิตสุดท้าย ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 การจำแนกแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น

Items	Species	Substrate
Cellulolytic bacteria	*Bacteriodes succinogens*	cellulose
	Ruminococcus flavefacien	
	Ruminococcus albus	
Hemicellulose digesting bacteria	*Butyrivibrio fibrisolvens*	hemicellulose
	Lachnosperia multiparens	
	Bacteriodes ruminicola	
Amylolytic bacteria	*Bacteriodes amylophilus*	starch
	Succinomonas amylophilus	
	Butyrivibrio fibrisolvens	
	Selenomonas ruminantium	
	Bacteriodes ruminicola	
	Streptococcus bovis	
Bacteria utilizing sugar	*Veillonella gazogenes*	lactic acid, succinic acid,
	V. alacalescens	malic acid, fumaric acid
	Propionic bacterium sp.	Oxalic acid
	Selenomonas ruminantium	
Proteolytic bacteria	*Bacteriodes amylophilus*	protein
	Clostridium sporogens	
	Bacillus lichiniformis	
Ammonia producing bacteria	*Bacteriodes ruminicola*	amino acid, NPN
	Selenomonas ruminantium	
	Peptostreptococcus elsdenii	
	Butyrivibrio sp.	
Bacteria producing methane	*Methanobacterium formicicum*	C & H
	M. ruminantium	
Lipolytic bacteria	*Anaerovibrio lipolytica*	lipid
Hydrogenating bacteria	*Butyrivibrio fibrisolvens*	unsaturated fatty acid
	Ruminococcus albus	
Vitamin-synthesizing organisms		

ที่มา: ฉลอง (2541)

2.10.2 เชื้อราในกระเพาะรูเมน

เชื้อราที่อาศัยอยู่ในกระเพาะรูมนเป็นกลุ่มที่อยู่ได้ในสภาพที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic fungi) ความสำคัญของเชื้อราเหล่านี้คือ สามารถลดการสูญเสียพลังงานจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป โดยเปลี่ยนเอา chitin ซึ่งปกติย่อยไม่ได้ ให้มาเป็นผนังเซลล์ของเชื้อรา และสามารถเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (ฉลอง, 2541) วงจรชีวิตของเชื้อรากลุ่มนี้ประกอบด้วย

2.10.2.1 Motile stage (zoospore) เป็นระยะที่เชื้อราสามารถเคลื่อนไหวได้โดยใช้ flagella

2.10.2.2 Vegetative stage (sporangium) เป็นระยะที่การยึดเกาะของไรซอยด์ (rhizoids) กับเศษชิ้นส่วนของพืช ซึ่งไรซอยด์จะแทงผ่านผนังเซลล์ (cell wall) ของพืชเข้าไปเพื่อทำให้เกิดการหมักของคาร์โบไฮเดรตและทำให้ sporangia พัฒนาจนกระทั่งเข้าสู่ระยะ maturity และปลดปล่อย ซูโอสปอร์ออกมามีวงจรชีวิตเช่นเดิม (Orpin, 1975; Joblin, 1981; Orpin, 1989)

เชื้อราเข้าย่อยสลายส่วนของเยื่อใยเป็นกลุ่มแรก โดยย่อยจากส่วนด้านในก่อน ช่วยลดการยึดเกาะกันแน่นของอนุภาคอาหาร (เมธา, 2533) ลดความตึงของเส้นใย ทำให้เกิดการแตกของเส้นใยได้ง่ายเมื่อเกิดการเคี้ยวเอื้อง จึงช่วยให้แบคทีเรียเข้าย่อยสลายได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้เชื้อราอาจทำลาย hemicellulose-lignin complex ละลายส่วนของเพคตินและลิกนินออกมา แต่ไม่สามารถย่อยทั้งเพคตินและลิกนินได้ ดังนั้นเชื้อราจึงเป็นจุลินทรีย์ที่ความสำคัญอย่างยิ่งในการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย และในกระเพาะรูเมนมีเชื้อรามากจะช่วยลดระยะเวลา lag-phase ของการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย (ฉลอง, 2541; Preston and Leng, 1987) โดยเชื้อราที่พบในทางเดินอาหารของสัตว์กินพืชสามารถแยกได้ดังตารางที่ 2.8

2.10.3. โปรโตซัวในกระเพาะรูเมน

โปรโตซัวเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย โปรโตซัวที่พบในรูเมนส่วนใหญ่เป็นชนิด ciliate protozoa แต่ในช่วงที่เป็นลูกสัตว์จะมี flagellate protozoa มากกว่า (ฉลอง, 2541) จำนวนประชากรของโปรโตซัวมีมากกว่า 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร การจัดประเภทโปรโตซัวมักนิยมถือตามลักษณะของเซลล์ (cell morphology) ซึ่ง ciliate protozoa สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ holotrichs และ entodiniomorphs (Coleman, 1975) ดังแสดงในตารางที่ 2.9

กลุ่ม holotrichs มีรูปร่างคล้ายพารามีเซียม มีขนล้อมรอบและมีขนาดใหญ่ อยู่อิสระไม่เกาะติดกัน เคลื่อนไหวได้เร็ว สามารถทนอยู่ในสภาพมีออกซิเจนได้ดี มีความสามารถในการใช้น้ำตาล (sugar) เป็นแหล่งของพลังงาน

ตารางที่ 2.8 ชนิดและลักษณะของเชื้อราที่พบเฉพาะของสัตว์กินพืชชนิดต่างๆ

Genus and characteristic	Species	Source of isolate
Caecomyces,		
Monocentric or polycentric	*Caecomyces communis*	sheep
Uniflagellate		
Zoospores spherical	*Caecomyces equi*	house
Holdfasts		
Piromyces,	*Piromyces communis*	sheep
Monocentric, uniflagellate	*P. mae*	horse
Zoospores, filamentous	*P. dumbonica*	elephant
Rhizomycelium	*P. rhiziflata*	shaharan ass
	P. minutus	deer
	P. spiralis	goat
Neocallimastix,		
Monocentric,	*Neocallimastixfrontalis*	sheep
Polycentric zoospores,	*N. patriciarum*	sheep
Extensive filamentous	*N. hurleyensis*	sheep
Rhizomycelium	*N. variablis*	cow
Anaeromyces,		
Polycentric, uniflagellate	*Anaeromyces elegans*	cow
Zoospores, filamentous	*Anaeromyces mucronatans*	sheep
Rhizomycelium		
Orpnomyces,		
Polycentric, Plyflagellate	*Opinomyces joyonii*	sheep
Zoospores, filamentous		cattle
Rhizomycelium	*Opinomyces intercalaris*	

ที่มา: ดัดแปลงจาก Theodorou et al. (1991)

ในขณะที่กลุ่ม entodiniomorphs มีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีซิเลียเป็นแผงบริเวณ anterior เพื่อใช้กินอาหารและเคลื่อนไหว มีความสามารถในการใช้แป้ง (starch) เป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญ โดยเฉพาะจีนัส Epidinium และ Ophryoscolex แต่บางตัวสามารถใช้เซลยูโลสและเฮไมเซลยูโลสเป็นแหล่งของพลังงานได้ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ายึดเกาะกับ

สารตั้งต้นนั้นๆ ซึ่งอาจเป็นคลอโรพลาสต์ (chloroplast) หรือส่วนของเยื่อใย (fibrous particles) (Van Soest, 1994)

จุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มซึ่งได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และโปรโตซัวมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันตามอายุของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังแสดงในภาพที่ 2.6

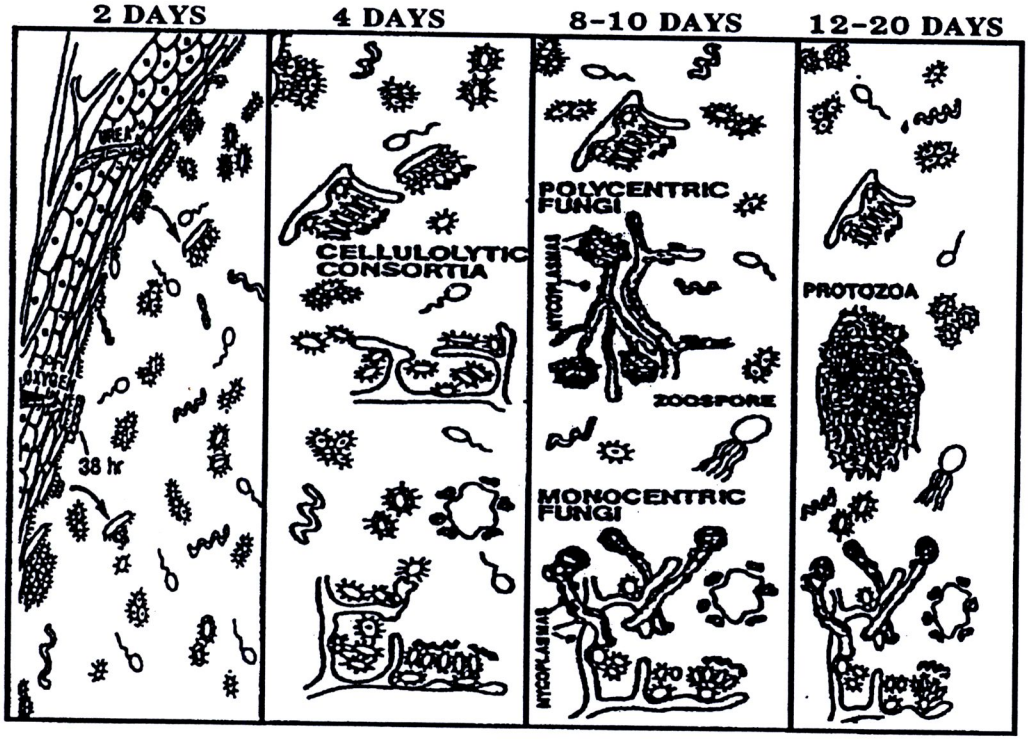
ตารางที่ 2.9 กลุ่มของโปรโตซัวในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Genus	Common species	Holotrich/entodiniomorp	Type group	Cilia
Isotricha	*I. Intestinalis*	Holotrich	A and B	all over
	I. prostoma	Holotrich	A and B	all over
Dasytricha	*D. ruminantium*	Holotrich	A and B	all over
Diplodinium	*D. dentatum*	Entodiniomorp	A and B	2 bands
Entodinium	*E. caudatum*	Entodiniomorp	A and B	1 band
Epidinium	*Ep. Caudatum*	Entodiniomorp	B	2 bands
Eudiplodinium	*Eu. Magii*	Entodiniomorp	B	2 bands
Ophryoscolex	*O. purkynjei*	Entodiniomorp	A	2 bands
Ostracodinium	*O. Dentatum*	Entodiniomorp	B	2 bands
Polyplastron	*P. multivesiculatum*	Entodiniomorp	A	2 bands

ที่มา: Coleman (1975)

2.10.4 การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะรูเมนสังเคราะห์จากกรดอะมิโน และเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน อย่างไรก็ตามพบว่าแอมโมเนียที่หมุนเวียนอยู่ภายในกระเพาะรูเมนเป็นแหล่งไนโตรเจนหลักในการสังเคราะห์โปรตีนเช่นกัน (Aharoni et al., 1991) ซึ่ง Al-Rabbat et al. (1971) รายงานว่า 61 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์โปรตีนมาจากแอมโมเนีย และ 39 เปอร์เซ็นต์มาจากกรดอะมิโนและเปปไทด์ อย่างไรก็ตาม Maeng et al. (1976) รายงานว่าสัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างแอมโมเนียและกรดอะมิโนในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนคือ 75 เปอร์เซ็นต์แอมโมเนียไนโตรเจน และ 25 เปอร์เซ็นต์กรดอะมิโน นอกจากนี้พลังงาน ATP ที่สัตว์ได้รับ ซึ่งได้จากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะรูเมนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน



ภาพที่ 2.6 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องแรกเกิดอายุ 2-20 วัน
ที่มา: Cheng et al. (1991)

จุลินทรีย์โปรตีนเมื่อถูกย่อยสลายที่กระเพาะจริงและลำไส้เล็ก จะมีผลต่อองค์ประกอบของกรดอะมิโน เนื่องจากจุลินทรีย์มีความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน เพื่อนำมาสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีนในเซลล์ ฉลอง (2541) รายงานว่าปริมาณไนโตรเจนในจุลินทรีย์เท่ากับ 36-49 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ซึ่ง 85 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดจะอยู่ในรูปของโปรตีนแท้ โปรตีนในตัวจุลินทรีย์เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง โดยโปรตีนจากโปรโตซัวถูกย่อยได้ดีกว่าแบคทีเรีย แม้ว่าค่า biological value ของโปรตีนของโปรโตซัวและแบคทีเรียจะไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อคิดเป็นค่า net protein utilization พบว่าโปรตีนของโปรโตซัวมีค่าสูงกว่าของแบคทีเรีย

2.11 ยูเรียในเลือด

จากการศึกษาเมแทบอลิซึมของไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทำให้ทราบว่าโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ถูกย่อยสลายครั้งแรกในกระเพาะหมักโดยการทำงานของ

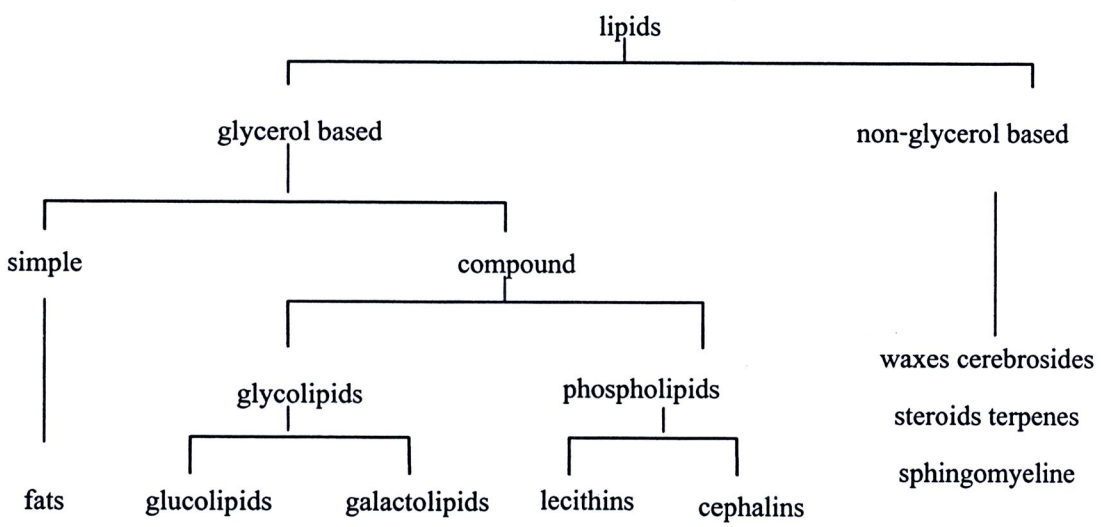
จุลินทรีย์ ผลจากการย่อยได้ส่วนหนึ่งจะเป็นแอมโมเนีย โดยแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในกระเพาะหมักจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะหมักทางเส้นเลือดฝอย และถูกนำเข้าสู่ ruminal vein แล้วส่งไปสู่ตับทาง portal vein จากนั้นตับจะเปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นยูเรีย ยูเรียที่สังเคราะห์ในตับนี้จะส่งออกมายังเลือด ส่วนหนึ่งของยูเรียจะถูกนำกลับเข้าสู่กระเพาะหมักทางน้ำลาย ส่วนหนึ่งจะถูกขับออกมากับปัสสาวะ ดังนั้นประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของโปรตีนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงขึ้นอยู่กับปริมาณของแอมโมเนียที่ผลิตขึ้นในกระเพาะหมัก (Lewis, 1957) พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักมีค่าสหสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอมโมเนียใน portal vein ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียใน portal vein สูงขึ้นความเข้มข้นของแอมโมเนียในเลือดจะมีค่าสหสัมพันธ์โดยตรงกับอาหารที่กินหากอาหารมีระดับไนโตรเจนสูง ความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักสูง ความเข้มข้นของยูเรียในเลือดก็จะสูงตามไปด้วย Akkada and Osman (1967) กล่าวว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของยูเรียในเลือด และสามารถนำมาใช้เป็นดัชนีบอกถึงค่าการสะสมไนโตรเจนในร่างกาย

2.12 สมดุลไนโตรเจน

ไนโตรเจนถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ ในการประเมินความสมดุลของโปรตีนในสูตรอาหารที่ได้รับและที่ถูกขับออกจากตัวสัตว์ โดยไนโตรเจนที่ถูกขับออกจะอยู่ในรูปของยูเรีย และแอมโมเนียในปัสสาวะ โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในมูล รวมถึงโปรตีนที่ถูกนำไปสร้างในเซลล์จุลินทรีย์ ไนโตรเจนในปัสสาวะ (urine nitrogen) จะเป็นตัวบ่งชี้ของโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ (metabilizable protein) โดยในกระบวนการเมแทบอลิซึมของโปรตีน จะเกิดกระบวนการ deamination เป็นส่วนใหญ่ และไนโตรเจนก็จะถูกขับออกมากับปัสสาวะละส่วนใหญ่ที่ไม่ถูกย่อยก็ขับออกมากับมูล กรดอะมิโนนอกจากจะเป็นตัวหลักในการสร้างโปรตีนแล้วยังเป็นแหล่งพลังงานด้วย เมื่อแหล่งพลังงานอื่นไม่เพียงพอ ก็จะสลายกรดอะมิโนและได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นแอมโมเนีย จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์ ดังนั้นร่างกายสัตว์จะลดความเป็นพิษของแอมโมเนียโดยการเปลี่ยนรูปเป็นยูเรีย หรือ ยูริค เพื่อพิจารณาถึงสมดุลไนโตรเจน ถ้าไนโตรเจนที่ได้รับน้อยกว่าไนโตรเจนที่ขับออก สมดุลไนโตรเจนเป็นลบ กล่าวได้ว่า โปรตีนและกรดอะมิโน จะถูกนำไปใช้รวดเร็วมากกว่าที่กักเก็บได้ และอาจจะเนื่องจากความไม่สมดุลของสัดส่วน กรดอะมิโน เช่นถ้ากรดอะมิโน A มีปริมาณน้อยและขาดไม่ได้ ดังนั้น กรดอะมิโน B จะต้องเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน A ต้องใช้พลังงานถ้าพลังงานอื่นไม่เพียงพอแหล่งพลังงานก็จะมาจากกรดอะมิโนนั่นเอง ทำให้มีการขับออกของไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และอาจจะต้องใช้ กรดอะมิโน 1-2 ตัว ในการสร้างกรดอะมิโน 1 ตัว

2.13 ลิปิดส์

ลิปิดส์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ ไลปิดส์ที่ประกอบอยู่ในอาหารสัตว์หรือร่างกายสัตว์ส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมัน (fatty acid), glycerol, mono-di-triglycerides และ phospholipids ลิปิดส์สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภทคือ simple lipids เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์หลายชนิด compound lipids เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีกลุ่มของสารต่างๆ เกาะอยู่และต่อกับแอลกอฮอล์ แบ่งออกเป็น phospholipids, และ lipoproteins และ derived lipids คือพวกที่เปลี่ยนแปลงมาจากลิปิดส์ เช่น แอลกอฮอล์ รวมไปถึง sterol และพวก hydrocarbons (ธีรวรรธน์, 2543) อย่างไรก็ตามกรณีที่จำแนกโดยอาศัย glycerol based จะจำแนกได้ดังต่อภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 การจำแนกลิปิดส์

ที่มา: Murray et al. (1990)

2.13.1 ไขมัน

ไขมันในทางเคมีจัดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ที่ชื่อกลีเซอรอล (glycerol) ประกอบด้วยธาตุ C, H และ O หากอยู่ในสภาพค่อนข้างแข็งที่อุณหภูมิห้องเรียกว่าไขมัน (fats) แต่หากอยู่ในสภาพเหลวจะเรียกว่า น้ำมัน (oils) สารนี้พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ (organic solvent) เช่น เบนซิน อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม หน้าที่ของไขมันมีหลายอย่างด้วยกัน ได้แก่ เป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งให้พลังงานเป็น 2.5

เท่าของคาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบของฮอร์โมน สมอง และกล้ามเนื้อ เป็นฉนวนป้องกันความหนาว นำพาวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน นอกจากนี้ยังสามารถลดฝุ่นและเพิ่มความน่ากินให้แก่อาหารสัตว์ สัตว์ที่ขาดไขมันจะแสดงอาการเบื่ออาหาร น้ำหนักลด ขนร่วง ผิวหนังแตก ตกสะเก็ด เกิดแผลเนื้อตายที่รอบๆ คอและบ่า (นภา, 2537)

2.13.2 กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นพวก monocarboxylic acid มีแนวโน้มละลายในสารละลายอินทรีย์ได้มากกว่าในน้ำ ซึ่งพวกที่จัดเป็น polar carboxy group จะละลายในน้ำ ส่วนพวก non-polar จะไม่ละลายในน้ำ แต่จะละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ทั่วไป กรดไขมันที่ละลายในน้ำได้ดีจะเป็นพวกสายสั้น หากสายของกรดไขมันยาวขึ้นจะทำให้ความสามารถในการละลายน้ำค่อยๆ ลดลง ในธรรมชาติทั่วๆ ไป ไขมันจากสัตว์มักประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ และมักอยู่ในช่วง 16-26 อะตอม อย่างไรก็ตามกรดไขมันสามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภทคือ กรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (saturated and unsaturated fatty acids)

กรดไขมันประกอบด้วยสายของคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 2-24 ตัว หรือมากกว่า ปลายข้างหนึ่งต่อด้วยหมู่คาร์บอกซิล (–COOH) สูตรทั่วๆ ไปจึงเขียนเป็น RCOOH โดยที่ R เรียกว่าหมู่อัลคิล (alkyl group) ที่คาร์บอนอะตอมของกรดไขมันอิ่มตัว จะมีไฮโดรเจน 2 อะตอมมาเกาะอยู่และต่อกันไปเป็นเส้นยาวหรือแตกกิ่งออกไปเรื่อยๆ ยกเว้นตรงส่วนปลายสุดจะมีไฮโดรเจนมาเกาะอยู่ 3 อะตอม ดังนั้นพันธะที่ยึดต่อกันระหว่างคาร์บอนด้วยกันจะเป็นพันธะเดี่ยว ขณะที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีคาร์บอนอะตอมบางตัวยึดต่อกันด้วยพันธะคู่ ซึ่งพันธะคู่นี้มีตั้งแต่ 1 พันธะขึ้นไป ในกรณีที่จำนวนคาร์บอนอะตอมเท่ากัน กรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าจะมีจุดหลอมที่ต่ำกว่า มีลักษณะนิ่มกว่าหรือมีลักษณะเหลวกว่าที่อุณหภูมิห้อง ในเวลาเดียวกันไขมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวประกอบอยู่มากจะแข็งกว่า มีจุดหลอมเหลวสูงกว่า ดังนั้นจุดหลอมเหลวของไขมันจึงเป็นตัวบ่งให้ทราบถึงปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่ประกอบอยู่ในไขมันนั้นทางอ้อม นอกจากนี้พบว่ากรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมากกว่าจะมีจุดหลอมเหลวและเดือดสูงกว่าเสมอ ไม่ว่าจะเป็นชนิดอิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัวก็ตาม (ธีรวรรธน์, 2543)

กรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid; EFA) ได้แก่ linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3) และ arachidonic acid (C20:4) คือกรดไขมันที่ร่างกายสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้หรือสังเคราะห์ขึ้นเองได้แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการ กรดไขมันเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และเป็นส่วนประกอบของฮอร์โมน prostaglandins การขาดกรดไขมันเหล่านี้จะส่งผลต่อสัตว์หลายประการ อย่างไรก็ตามพบการขาดน้อยในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

เนื่องจากไขมันที่ประกอบอยู่ในวัตถุดิบอาหารที่สัตว์ได้รับมักมีสัดส่วนของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง

2.13.3 คุณสมบัติทางกายภาพของไขมันกับการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้าง

ดังที่ทราบกันแล้วว่าไขมันคือเอสเทอร์ของกลีเซอรอลกับกรดไขมันซึ่งการรวมตัวมีหลายรูปแบบ และกรดไขมันมีหลายชนิด ทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว เป็นเหตุให้ไขมันแต่ละชนิดมีคุณสมบัติต่างๆ แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของกรดไขมันที่ประกอบอยู่ ดังนั้นจึงมีการวัดค่าต่างๆ ของไขมันตามธรรมชาติแต่ละชนิดเพื่อหาความแตกต่างให้ชัดเจน ซึ่งมีหลายวิธี และวิธีเหล่านี้สามารถบอกความเก่าใหม่ของไขมันได้ ได้แก่ saponification number, Reichert-Meissel (RM) number, iodine number และ acid value โดยที่ไขมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมน้อยซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะวัดค่า saponification value ออกมาได้สูง แสดงว่าไขมันนั้นประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ มาก ขณะที่ค่า RM number เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายในไขมัน ส่วนค่า Iodine number เป็นค่าที่สามารถบอกถึงสัดส่วนของกรดไขมันที่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในไขมันได้ โดยไขมันที่มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงจะมีค่า iodine number สูง ทั้งนี้เนื่องจากค่า iodine number คือจำนวนกรัมของไอโอดีนที่ไปรวมตัวกับไขมัน 100 กรัม โดยไอโอดีนจะไปเกาะกับคาร์บอนอะตอมคู่ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ ดังนั้นค่า iodine number จึงเป็นค่าที่บ่งถึงปริมาณการเกิด hydrogenation ได้ด้วย ซึ่งกระบวนการ hydrogenation คือกระบวนการที่นำเอาไฮโดรเจนเติมเข้าในโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัวตรงตำแหน่งพันธะคู่ กรดไขมันไม่อิ่มตัวจึงเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและทำให้คุณสมบัติต่างๆ เปลี่ยนไปด้วย ในส่วนของการหืน (rancidity) คือการที่ไขมันเกิดการเปลี่ยนแปลงจากการถูกออกซิไดซ์ ทำให้กลิ่น รส ไม่ดี รวมทั้งสภาพทางฟิสิกส์เปลี่ยนไป คือไขมันมีลักษณะข้นขึ้นแข็งขึ้น วิตามิน A, D, E และ K ถูกทำลาย การนำไปใช้ประโยชน์ของโภชนะและพลังงานลดลง การหืนเกิดขึ้นได้ทั้งไขมันในอาหารและไขมันที่อยู่ในร่างกาย (นภา, 2537)

2.13.4 เมทธาโบลิซึมของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

เมแทบอลิซึมของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ เมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนและเมแทบอลิซึมที่เนื้อเยื่อของสัตว์ เมแทบอลิซึมของไขมันในกระเพาะรูเมนเป็นบทบาทของจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรีย กระบวนการเมแทบอลิซึมแรกที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมนคือ hydrolysis เป็นกระบวนการที่แบคทีเรียหลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ lipase ทำให้ไขมันในอาหารถูกย่อยจนได้เป็นกรดไขมัน กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะเป็นอันตรายต่อแบคทีเรีย ดังนั้นแบคทีเรียจึงหลั่งเอนไซม์

ออกมาเพื่อกำจัดความเป็นพิษนั้น กระบวนการนั้นเรียกว่า biohydrogenation ซึ่งกระบวนการนี้ทำให้ได้กรดไขมันที่อิ่มตัว กรดไขมันที่เกิดขึ้นอาจถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือนำมาสังเคราะห์เป็นไขมันของตัวเอง (lipids biosynthesis) หรือไหลผ่านลงสู่ทางเดินอาหารส่วนถัดไป และไขมันเหล่านั้นอาจถูกย่อยเป็นกรดไขมันสายสั้นลงและ/หรือถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายสัตว์ (Lennarz, 1966)

2.13.5 กระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ไขมันชนิดต่างๆ

2.13.5.1 ไตรกรีเซอไรด์

กระบวนการไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ทำให้มีความเข้มข้นของกรดไขมันที่สูงในสัตว์ที่ได้รับอาหารข้น เอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ esterase และ lipase จากเยื่อหุ้มเซลล์ ทั้งสองเอนไซม์ถูกผลิตในช่วงที่เซลล์จุลินทรีย์อยู่ในช่วง logarithmic phase เอนไซม์ lipase จะเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมัน C 12 หรือมากกว่า โดยความสามารถนี้มีความเกี่ยวข้องกับน้ำหนักโมเลกุล ในส่วนของไดกลีเซอไรด์ (diglycerides) จะถูกไฮโดรไลซ์ได้เร็วกว่าไตรกลีเซอไรด์ แบคทีเรียที่มีส่วนในกระบวนการนี้มากที่สุดคือ *Anaerovibrio lipolytica* ซึ่งพบอยู่ประมาณ 0.5-1.1 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตรของของเหลวในรูเมน อย่างไรก็ตามพบว่าเอนไซม์ lipase ที่ติดมากับพืชสามารถไฮโดรไลซิสได้ดีกว่าเอนไซม์ที่มากจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Jenkins, 1993)

2.13.5.2 กาแลคโตไลปิด

ไขมันส่วนใหญ่ที่สัตว์แทะเล็มได้รับจากอาหารจะเป็น galactolipids ซึ่งจะถูกไฮโรไลซิสอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังพบว่าเกิดก่อนที่จะมีกระบวนการ biohydrogenation กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวอีกด้วย ซึ่งเอนไซม์ที่เข้ามาทำงานในจุดนี้จะเป็นเอนไซม์ galactolipase จากพืชเป็นส่วนใหญ่ การสลาย galactolipids จะทำให้ได้ monogalactosyldiglycerides และ digalactosyldiglycerides ซึ่ง monogalactosyldiglycerides จะถูกไฮโดรไลซิสได้เร็วกว่า digalactosyldiglycerides อย่างไรก็ตามมีการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์ต่อการไฮโดรไลซิส galactolipids น้อยมาก (Jenkins, 1993)

2.13.5.3 ฟอสโฟไลปิด

พบว่า 20-30% ของไขมันในใบพืชเป็น phospholipids และพบว่าที่เนื้อเยื่อของพืชมีเอนไซม์ phospholipases อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียในรูเมนบางชนิดสามารถไฮโดรไลซ์ phosphatidylcholine และ lysophosphatidylcholine ได้ และมีการพบว่า phosphotidylcholine จะถูกไฮโดรไลซ์อย่างรวดเร็วในรูเมนของแกะที่ถูกกำจัดโปรโตซัว แต่

อย่างไรก็ตามไม่สามารถบอกได้ว่าเอนไซม์ phospholipase มาจากพืชหรือแบคทีเรีย ต่อมาได้มีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ โดยเอนไซม์นี้จะมีกิจกรรมสูงสุดในช่วงที่เซลล์แบคทีเรียอยู่ในช่วง exponential phase เมื่อ phospholipids ถูกไฮโดรไลซ์จะได้เป็น lysophospholipids และกรดไขมัน ซึ่ง lysophospholipids จะถูกสลายอย่างรวดเร็วโดย lysophospholipase เป็น glycerylphosphorylated และเป็นกรดไขมันตามลำดับ (Jenkins, 1993)

2.13.6 กระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น (biohydrogenation) กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว

ในช่วงแรกได้มีคาดการณ์ว่ากระบวนการ hydrogenation น่าจะเกิดขึ้นที่เนื้อเยื่อ แต่ต่อมาพบว่ากระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และนอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการนี้ยังสามารถเกิดได้ที่ ilium, caecum และ colon ซึ่งทั้งแบคทีเรียและโปรโตซัวมีส่วนในกระบวนการนี้ อย่างไรก็ตามพบว่าหากไม่มีโปรโตซัวจะทำให้กระบวนการนี้ลดลงเพียงเล็กน้อย นั่นแสดงว่าแบคทีเรียน่าจะมีส่วนมากที่สุด (Bauman et al., 2003) แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกระบวนการ hydrogenation กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวได้ Kemp et al. (1975) ได้ทำการจำแนกแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องออกเป็น 5 สายพันธุ์ และประมาณว่าแต่ละสายพันธุ์มีประมาณ 10^8 cell / ml ขณะที่ Verhulst et al. (1985) จำแนกออกเป็น 7 สายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่าสายพันธุ์ *Butyrivibrio fibrisolvens* เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทมากที่สุด Hazlewood et al. (1976) ได้จำแนกแบคทีเรียเหล่านี้ออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะของผลผลิตสุดท้ายที่ผลิตได้ Erwin and Bloch (1963) พบว่าโปรโตซัวมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrogenation อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์หลักที่มีบทบาทในกระบวนการ biohydrogenation ส่วนโปรโตซัวมีบทบาทเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Kepler et al., 1966)

Hazlewood et al. (1976) พบว่ากระบวน biohydrogenation กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว จำเป็นที่จะต้องอาศัยหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) กระบวนการ biohydrogenation กรดไขมัน linoleic acid ได้แสดงในภาพที่ 2.8 กระบวนการเริ่มต้นจากกระบวนการ isomerization กรดไขมัน linoleic acid ได้เป็น conjugated cis-9, trans-11 (CLA) จากนั้น CLA จะถูก hydrogenate ได้เป็น trans-11 octadecenoic acid และสุดท้ายคือกระบวน hydronation ซึ่งจะเปลี่ยน trans-11 octadecenoic acid เป็น stearic acid

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกระบวนการ hydrogenation ไม่ได้เกี่ยวข้องกับทุกขั้นตอน Kemp and Lander (1984) ได้จำแนกแบคทีเรียออกเป็นกลุ่ม A และ B โดยแบคทีเรียในกลุ่ม A จะ hydrogenate กรดไขมัน linoleic acid และ α-linoleic acid เป็น trans-11-octadecenoic acid ขณะที่แบคทีเรียในกลุ่ม B มีความสามารถในการ hydrogenate กรดไขมัน octadecenoic acids ได้แก่ cis-9 (oleic) และ trans-11 (trans-vaccenic) รวมทั้ง กรดไขมัน linoleic acid เป็นกรดไขมัน stearic acid

จากการศึกษาของ Bauman et al. (2000) พบว่าอัตราการเกิดกระบวนการ hydrogenation ของแบคทีเรียเกิดขึ้นได้สูงมาก แต่ช่วงค่อนข้างกว้าง โดยขึ้นอยู่กับ ความยาวและโครงสร้างของสายไขมัน ชนิดของจุลินทรีย์ และเงื่อนไขของแต่ละงานทดลอง ความสามารถ hydrogenate กรดไขมัน oleic acid, linoleic acid และ α-linoleic acid เท่ากับ 12-100%, 15-95% และ 9-90% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเกิดกระบวนการ biohydrogenation ในหลอดทดลอง (in vitro) สามารถใช้แทนอัตราในตัวสัตว์จริงได้ (in vivo)

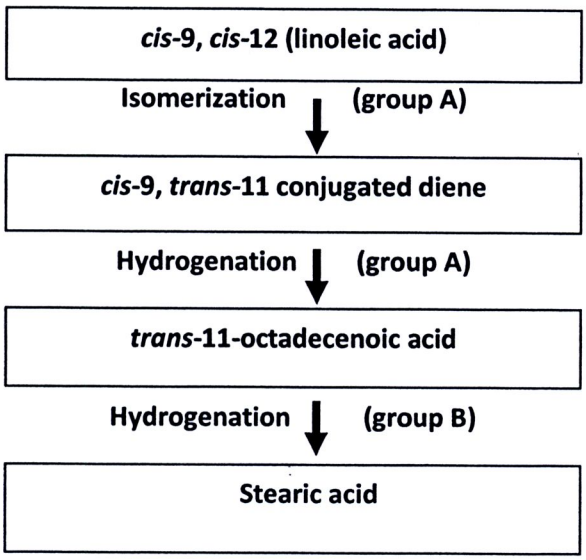
ตารางที่2.10 แบคทีเรียในกระเพาะรูเมนที่มีบทบาทในกระบวนการไฮโดรจิเนชั่น

กลุ่ม1	แบคทีเรีย	อ้างอิง
A	*Butyrivibrio fibrisolvens*	Kepler and Tove (1967), Hazlewood and Dawson (1979)
A	*Treponema (Borrelia)*	Yokoyama and Davis (1971)
A	*Micrococcus sp.*	Miles et al. (1970)
A	*Ruminococcus albus F2/6*	Kemp et al. (1975)
A	*Eubacterium F2/6*	Kemp et al. (1975)
A	*EC7/2 Gram –ve rod*	Hazlewood et al. (1976)
A	*R7/5 Gram –ve rod*	Hazlewood et al. (1976)
B	*Fusocillus babrahamensis P2/2*	White et al. (1970), Hazlewood et al. (1976), Kemp et al. (1975)
B	*Fusocillus T344*	Hazlewood et al. (1976)
B	*R8/5 Gram –ve rod*	Hazlewood et al. (1976)

ที่มา: Song (2000)

ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการ biohydrogenation เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอน 2 โมเลกุล (2H) โดยพบว่าแหล่งของอิเล็คตรอนคือ α-tocopherolquinol โดย α-tocopherolquinol จะถูกรีดิวซ์ขณะที่มี NADH ในสัดส่วน 1:1 ได้เป็น α-tocopherolquinone นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบคล้าย flavin เป็นตัวที่ทำหน้าที่ขนถ่ายอิเล็คตรอนให้แก่ tocopherolquinone เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrogenation ได้แก่เอนไซม์ linoleate isomerase ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ isomerization กรดไขมัน linoleic acid ได้เป็น cis-9, trans-

11 octadecaenoic acid และเอนไซม์ reductase ที่ทำหน้าที่รีดิวซ์กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวได้เป็นกรดไขมันที่อิ่มตัว (Kepler et al., 1966)



ภาพที่ 2.8 กระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นกรดไขมัน linoleic acid โดยแบคทีเรียกลุ่ม A และ B ตามตารางที่ 2.10

ที่มา: Song (2000) ดัดแปลงจาก Harfoot and Hazlewood (1988)

กระบวนการ biohydrogenation เกิดได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์เมื่อมีชิ้นของอาหาร โดย Harfoot et al. (1973, 1975) พบว่า 80% ของกระบวนการ biohydrogenation กรดไขมัน linoleic acid เกี่ยวข้องกับชิ้นอาหารที่ละเอียด ซึ่งสามารถดูดซึมเอากรดไขมันไว้ทำให้แบคทีเรียสามารถหลั่งเอนไซม์ออกมา hydrogenate กรดไขมันได้ นอกจากนี้รูปแบบของไขมันก็มีส่วนด้วย โดยพบว่ากรดไขมันอิสระจะยับยั้งกระบวนการ hydrogenation นอกจากนี้ Latham et al. (1972) พบว่าหากโคได้รับอาหารหยาบน้อยจะทำให้เกิดกระบวนการ biohydrogenation ลดลง และ Gerson et al. (1985) พบว่าการเพิ่มคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสะลายได้ง่ายไม่ทำให้กระบวนการ hydrogenation ลดลง แต่กลับพบว่าหากทดแทนอาหารประเภทเยื่อใยด้วยแป้งจะทำให้อัตราการเกิดกระบวนการ biohydrogenation ลดลง นอกจากนี้ Gerson et al. (1985) ยังพบว่าหากเพิ่มสัดส่วนของไนโตรเจนจะทำให้อัตราการเกิดกระบวนการ biohydrogenation เพิ่มขึ้น จึงสรุปได้ว่ากระบวนการ biohydrogenation น่าจะเกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของประชากรจุลินทรีย์ ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrolysis

2.13.7 ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น

กระบวนการ hydrolysis มักเกิดขึ้นก่อนกระบวนการ hydrogenation เนื่องจากกระบวนการ hydrolysis จะปลดปล่อยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวออกมาซึ่งจะเกิดกระบวนการ hydrogenation ตามมา Noble (1978) พบว่าแกะที่ได้รับกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวอิสระโดยตรง จะพบกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวนั้นในพลาสม่าได้เร็วกว่าแกะที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวในรูปไตรกลีเซอไรด์ ประเด็นที่ว่าทำไมจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจึงมีความสามารถ hydrogenate ต่างกันนั้นยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน แต่เป็นที่ทราบกันดีว่ากรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นพิษกับจุลินทรีย์ทุกตัว ซึ่งกระบวนการ hydrogenation นี้ก็เป็นการกำจัดพิษ นอกจากนี้กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเหล่านั้นยังถูก esterified หรือถูกดูดซึมเข้าสู่ชิ้นอาหารอีกด้วย นอกจากนี้ไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ยังเป็นชนิดอิ่มตัว ดังนั้นเป็นไปได้ว่ากระบวนการ biohydrogenation น่าจะเป็นการเปลี่ยนรูปกรดไขมันเพื่อที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Song, 2000)

2.13.8 การดูดซึมและการใช้ประโยชน์สารประกอบไขมันของจุลินทรีย์

โปรโตซัว *Entodinium simplex* มีอัตราการนำกรดไขมันเข้าสู่เซลล์ดังนี้ palmitic acid > oleic acid > stearic acid > linoleic acid ขณะที่ *Isotricha prostoma* มีความสามารถเป็น stearic acid > oleic acid > palmitic acid > linoleic acid และ *I. intestinalis* มีความสามารถเป็น palmitic acid > oleic acid > linoleic acid > stearic acid ซึ่ง oleic acid จะถูก hydrogenate เปลี่ยนเป็น stearic acid ส่วน linoleic acid พบว่าไม่เกิดการ hydrogenate ค้นพบโดย Gutierrez et al. (1960) และ Williams and Coleman (1992) ในขณะเดียวกัน Emmanuel (1978) พบว่าโปรโตซัวจะใช้ palmitic acid 84.3% และ stearic acid 85.0% ที่นำเข้าเซลล์สร้างเป็นกรดไขมัน และจะนำ 4.8% palmitic acid และ 10.1% stearic acid ไปสังเคราะห์เป็นกรดไขมัน C15:0 และ C17:0 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า stearic acid 3% จะถูกโปรโตซัวเปลี่ยนเป็นกรดไขมัน C16:0 แสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการ β-oxidation เกิดขึ้น และพบว่า 4-5% ของ palmitic aid จะถูกใช้เพื่อสร้างเป็น octadecenoic acid แบคทีเรียสามารถดูดซึมกรดไขมันอิ่มตัวได้เป็นอย่างดี แต่จะดูดซึมได้ลดลงหากเป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว การดูดซึมไขมันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 1 นาที อย่างไรก็ตามพบว่า triglyceride ถูกดูดซึมได้ต่ำ (Harfoot et al., 1975)

2.13.9 กระบวนการสังเคราะห์ไขมันของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

2.13.9.1 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

แบคทีเรียโดยเฉพาะกลุ่ม cellulolytic bacteria มีความต้องการทั้งกรดไขมันที่เป็นสายตรงและมีกิ่งก้านเพื่อใช้ในการดำรงชีพ และเป็นที่ทราบกันดีว่าไขมันที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยกระบวนการ de novo synthesis และได้รับโดยตรงจากอาหาร Knight et al. (1979) พบว่ากรดอะซิติกจะถูกใช้ในการสังเคราะห์เป็นกรดปาล์มมิติกเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรอง กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันที่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแสดงดังภาพที่ 9 ซึ่ง β-hydroxy C10 จะเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์เป็น cis-3 double bond หรือ trans-2 double bond โดยปราศจากกระบวนการ reduction กรดไขมันพันธะคู่เหล่านี้จะเพิ่มความยาวต่อไป (elongation) จนได้เป็น C16:1 และ C18:1 ตามลำดับ แบคทีเรียไม่ชอบที่จะสังเคราะห์กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว แต่จะได้รับจากภายนอก Fulco (1983) พบว่า monounsaturated fatty acids ที่อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์ 15-20% จะมาจากการสังเคราะห์ภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน

ในส่วนของกรดไขมันที่มีกิ่งก้านของแบคทีเรียจะสังเคราะห์โดยการต่อสายของ iso- และ anteiso-branched chain precursors เช่น isobutyrate, isovalerate และ 2-methylbutyrate นอกจากนี้แบคทีเรียยังสามารถสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวได้โดยใช้ acetate และ glucose และพบว่ากรดไขมันในอาหารอาจถูกแบคทีเรียหรือโปรโตซัวนำไปสังเคราะห์เป็นไขมันของตัวเอง เนื่องจากความจริงแล้วในสภาพไร้ออกซิเจนไม่เหมาะกับการเกิดกระบวนการ oxidation กรดไขมันสายยาว ในส่วนของโปรโตซัวและเชื้อราพบว่าจะสังเคราะห์ไขมันของตัวเองโดยวิถี de novo เช่นเดียวกัน (Song, 2000)

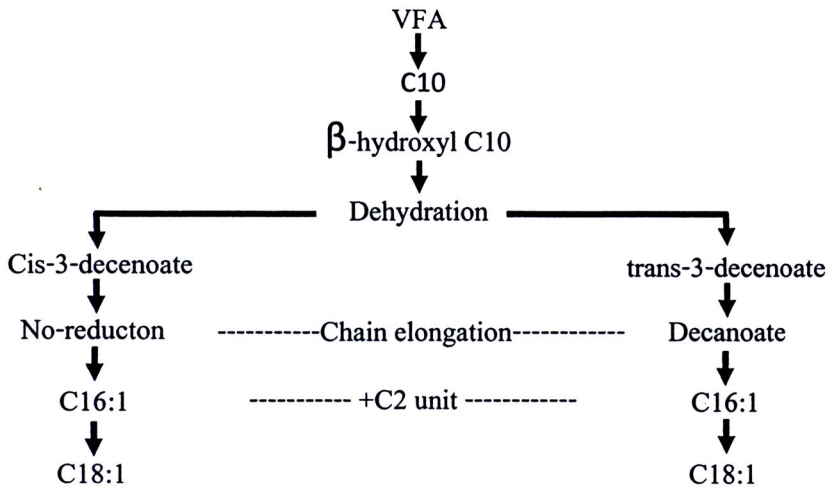
2.13.9.2 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสายยาว

ถึงแม้ว่าแบคทีเรียในรูเมนจะสามารถสังเคราะห์ monounsaturated fatty acid สายยาวได้ด้วยวิถี de novo แต่กลับพบว่ามีการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 คู่ได้อย่างจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ desaturase มีความจำเป็นต้องใช้ออกซิเจน อย่างไรก็ตามมีการพบ polyunsaturated fatty acids ในเซลล์แบคทีเรียบางชนิด ซึ่งกรดไขมันเหล่านั้นผู้วิจัยคาดว่าน่าจะมาจากการดูดซึมจากอาหาร สอดคล้องกับ Patton et al. (1970) พบว่าจุลินทรีย์ในรูเมนไม่มีการนำ acetate หรือ glucose ไปสังเคราะห์เป็นกรดไขมัน C18:1 หรือ C18:2

2.13.9.3 กระบวนการสังเคราะห์ฟอสโฟไลปิด

Patton et al. (1970) พบว่าจุลินทรีย์ในรูเมนสามารถใช้ acetate และ glucose ผลิตเป็น phospholipids, phosphstidylcholine, phosphatidylethanolamine และกรด phosphatidic ได้โดยอาศัยกระบวนการ de novo synthesis ซึ่งพบว่าเกิดขึ้นในเซลล์โปรโตซัวแต่โดยทั่วไปไม่พบในแบคทีเรีย สอดคล้องกับ Bucholtz and Bergen (1973) อย่างไรก็ตาม Kamio et al. (1981) พบว่า

แบคทีเรีย S. ruminantium สามารถผลิต phospholipids ได้โดยใช้กรดไขมันสายสั้นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง butyrate และ Kamio et al. (1981) ยังกล่าวว่ามีการเกิดกระบวนการ α-oxidation ของกรดไขมันในระหว่างกระบวนการสังเคราะห์ phospholipids



ภาพที่ 2.9 การสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated and monounsaturated fatty acids) ของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน

ที่มา: Song (2000) ดัดแปลงจาก Jenkins (1993)

ในส่วนของเมแทบอลิซึมของไขมันในเนื้อเยื่อของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะคล้ายกับสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้องกล่าวคือ กรดไขมันสายยาวจะถูกนำไปใช้ในการให้ผลผลิตเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากพลังงานต่างๆ ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะได้รับจากกลูโคสที่สังเคราะห์จากกรดไขมันที่ระเหยได้เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นกรดไขมันสายยาวจึงถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานน้อยมาก กรดไขมันสายยาวจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นไขมันเก็บไว้ในกล้ามเนื้อ หรือสังเคราะห์เป็นไขมันในน้ำนม ซึ่งไขมันในน้ำนมนั้นมีส่วนประกอบเป็นกรดไขมัน (fatty acids) ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ในเนื้อเยื่อไขมันและอาหาร (เมธา 2533)

2.13.10 ผลของไลปิดต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน

การเสริมไขมันลงในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถรบกวนกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน กล่าวคือลดความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะแหล่งพลังงานอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไขมัน Jenkins and Palmquist (1984) พบว่าการเพิ่มไขมัน 10% มีผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างในกระเพาะรูเมนลดลงมากกว่า 50% ส่งผลให้การผลิต

สำนักหอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก๊าซเมทเธน ไฮโดรเจน และกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย รวมทั้งสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิกลดลง นอกจากนี้ยังส่งผลให้การขับออกของเยื่อใยทางมูลเพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามผลของไขมันต่อความสามารถในการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างมีน้อยกว่าผลต่อคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง

นอกจากนี้ไขมันยังมีผลต่อเมแทบอลิซึมของโปรตีนในกระเพาะรูเมนอีกด้วย Ikwuegbu and Sutton (1982) พบว่าการฉีดน้ำมัน linseed ลงในกระเพาะรูเมนของแกะมีผลทำให้การย่อยได้ของโปรตีนลดลง ส่งผลให้ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนลดลง และเพิ่มปริมาณไนโตรเจนที่ไหลลงสู่ลำไส้เล็ก สอดคล้องกับ Jenkins and Fotouhi (1990) ซึ่งได้ทำการเสริมน้ำมันข้าวโพดและ lecithin ในแกะ นอกจากนี้ยังส่งผลให้จำนวนประชากรของโปรโตซัวและการหมุนเวียนของแบคทีเรีย-ไนโตรเจนลดลง และทำให้อัตราการละลายของของแข็งในกระเพาะ รูเมนเพิ่มขึ้น เป็นผลให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น

2.13.11 คุณสมบัติของไลปิดและความเป็นอันตรายต่อกระบวนการหมัก

ปัจจุบันการนำไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับความสนใจมากขึ้น โดยมีการทดสอบผลกระทบของไขมันจากแหล่งต่างๆ ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ซึ่งผลกระทบของไขมันที่แตกต่างกันต่อกระบวนการหมักนี้มีสาเหตุมาจากความแตกต่างทางโครงสร้างของไขมันจากแต่ละแหล่ง ความแตกต่างอย่างหนึ่งคือ ระดับของความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวมีผลกระทบต่อกระบวนการหมักมากกว่ากรดไขมันที่อิ่มตัว (Palmquist and Jenkins, 1980) นอกจากนี้กลุ่มคาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) ในกรดไขมันก็มีบทบาทมาก ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าอนุพันธ์ของกรดไขมันได้แก่ เกลือแคลเซียม แอลกอฮอล์ เอไมด์ และไตรกลีเซอไรด์ มีผลกระทบต่อกระบวนการหมักน้อยกว่ากรดไขมันอิสระ การใช้ไขมันจากหลายแหล่งน่าจะสามารถปรับปรุงกระบวนการหมักเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เพียงแหล่งเดียว ทั้งนี้เนื่องจากสามารถป้องกันการลดลงของสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิก อย่างไรก็ตาม Wainman and Dewey (1987) พบว่ากรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวไม่มีลักษณะเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันต่อประสิทธิภาพการเป็นแหล่งพลังงาน

นอกจากนี้จำนวนและชนิดของไขมันในอาหารแล้ว ควรมีคำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความรุนแรงของผลกระทบมากกว่ากรดไขมันอื่นๆ ซึ่งความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกระเพาะรูเมนนี้

ขึ้นอยู่กับทั้งจำนวนและชนิดของไขมันในอาหาร อีกทั้งอัตรากระบวนการไฮโดรไลซิส กระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น และการฟอร์มตัวของเกลือแคลเซียม กล่าวคือความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะต่ำลงเมื่อ เกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นน้อยลง ขณะที่การเกิดเกลือของแคลเซียมจะทำให้ความเข้มข้นลดลง โดยปกติอัตราการเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสเพียงพอสำหรับเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันอิสระในระยะเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นจะเปลี่ยนแปลงตามอายุของอาหารหยาบ องค์ประกอบไนโตรเจน และขนาดของชิ้นอาหารในกระเพาะรูเมน ในการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าอัตราการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นจะเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารตั้งต้น อายุและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และการมีปัจจัยร่วมที่จำเป็นในของเหลวจากกระเพาะรูเมน ส่วนอัตราการเกิดเกลือคาร์บอกซิลจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายได้ของแคลเซียมและไขมัน ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมน กรดไขมันอิ่มตัว และความยาวของสายกรดไขมัน นอกจากนี้องค์ประกอบของอาหารพื้นฐานก็มีส่วนต่ออิทธิพลของไขมันต่อกระบวนการหมัก พบว่าไขมันจะมีอิทธิพลลดลงเมื่อมีอาหารหยาบแห้งในระดับสูง (Jenkins, 1993; Song, 2000; Bauman et al., 2003)

2.13.12 กลไกการยับยั้งของไลปิดต่อกระบวนการหมัก

ได้มีการเสนอหลายกลไกเพื่ออธิบายผลของไขมันต่อกระบวนการหมัก ทฤษฎีการเคลือบ (coating) และการเป็นสารต้านจุลินทรีย์โดยตรงของไขมันได้รับความสนใจมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีทฤษฎีการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและการลดแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้สำหรับจุลินทรีย์ (Jenkins, 1993)

Henderson (1973) ได้ทำการเติมกรดไขมันลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียจากกระเพาะรูเมนพบว่าการเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียถูกยับยั้ง แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ นอกจากนี้ Harfoot et al. (1974) พบว่าแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์จะดูดซึมกรดไขมันที่เติมลงไป 90% จนกระทั่งเมื่อเติมชิ้นอาหารลงไปพบว่ามากกว่า 60% ของกรดไขมันจะกลายเป็นส่วนหนึ่งของชิ้นอาหาร แสดงให้เห็นว่าการเคลือบชิ้นอาหารของไขมันมีผลทำให้กระบวนการหมักลดลง โดยชั้นของไขมันที่เคลือบบนชิ้นอาหารจะยับยั้งการย่อยของเซลลูโลส กล่าวคือการเคลือบจะยับยั้งการเข้าจับชิ้นอาหารของจุลินทรีย์และเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ซึ่งการเข้าจับชิ้นอาหารของจุลินทรีย์นี้จำเป็นมากต่อการย่อยสลายเซลลูโลส สอดคล้องกับ Immig et al. (1991) พบว่ากรดไขมันอิสระมีผลทำให้การเข้าจับ

carboxymethyl cellulose ของเอนไซม์ cellulases ลดลง มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ cellulases ลดลง

การมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกรดไขมันในกระเพาะรูเมนน่าจะมีลักษณะเช่นเดียวกับการเป็นพิษต่อเซลล์ยูคาริโอต กล่าวคือมีผลต่อหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่นมีผลต่อกลไก oxidative phosphorylation กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะเข้าจับกรดชั้น lipid bilayers ในเยื่อหุ้มเซลล์เนื่องเป็นพวก hydrophobic และ amphiphilic มีผลทำให้หน้าที่ทางชีววิทยาของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนไปหลายประการ (Palmquist and Jenkins, 1980)

2.14 น้ำมันเมล็ดทานตะวัน

น้ำมันเมล็ดทานตะวันเป็นน้ำมันพืชที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยมีองค์ประกอบของกรดไขมันคือ C16:0 7.60%, C16:1 0.10%, C18:0, 3.78%, C18:1 21.13%, C18:2 66.22%, C18:3 0.29%, C20:0 0.21%, C20:1 0.15% และ C22:0 0.52% ปกติน้ำมันเมล็ดทานตะวันจะใช้สำหรับประกอบอาหารสำหรับมนุษย์ โดยมีราคาประมาณ 55-65 บาท/ลิตร เมล็ดทานตะวันให้ผลผลิตน้ำมันประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามกากเมล็ดทานตะวันสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดี

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่ผลิตเมล็ดทานตะวันอันดับที่ 32 ของโลก โดยอันดับที่ 1 และ 2 คือ รัสเซีย และยูเครนตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากในประเทศไทยยังมีการเพาะปลูกน้อย ด้วยเหตุนี้ทำให้ต้องนำเข้าน้ำมันเมล็ดทานตะวันจากต่างประเทศเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการ โดยในปี พ.ศ. 2548 ประเทศไทยนำเข้าน้ำมันเมล็ดทานตะวันเป็นมูลค่ามากกว่า 600 ล้านบาท ซึ่งใกล้เคียงมูลค่าการผลิตเมล็ดทานตะวันในประเทศปี พ.ศ. 2548 ซึ่งมีมูลค่าประมาณ 500 ล้านบาทเช่นเดียวกัน

2.15 การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของฟางข้าว

ฟางข้าวนับเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นผลพลอยได้ทางการเกษตรที่ใช้มากในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปัจจุบันมีการใช้ฟางข้าวเพื่อเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องอย่างกว้างขวาง แต่ฟางข้าวมีคุณค่าทางโภชนะที่ค่อนข้างต่ำ คือมีโปรตีนหยาบประมาณ 3-4 % มีคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างในปริมาณที่สูง มีปริมาณของฟอสฟอรัสและแร่ธาตุที่จำเป็นอยู่ต่ำมาก (Wanapat et al., 1983) นอกจากนี้ฟางข้าวยังมีโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดค่อนข้างต่ำคือประมาณ 45.6% (Wanapat et al., 1985) และเนื่องจากฟางข้าวมีความฟ่ามสูงจึงทำให้สัตว์กินฟางได้น้อย ส่งผลให้ได้รับโภชนะไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (เมธา, 2528)

ส่วนประกอบของฟางข้าวจะแตกต่างจากฟางของธัญพืชชนิดอื่น โดยฟางข้าวประกอบด้วยผนังเซลล์ 79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเซลยูโลส 33 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการจับตัวของกลูโคสเป็นเซลยูโลสในผนังเซลล์นั้นเป็นแบบ crystalline ซึ่ง degree of crytallinity มีส่วนสัมพันธ์ทางตรงกันข้ามกับการย่อยได้ของเซลยูโลส นอกจากนั้นลิกนินและซิลิกายังเป็นส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้การย่อยได้ของฟางลดลง (Devendra, 1982 อ้างถึงโดยเมธา, 2533) ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อปรับปรุงคุณภาพของฟางข้าวให้มีคุณค่าทางโภชนะสูงขึ้น ทำให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากฟางข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี การหมักฟางข้าวด้วยยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นอีกวิธีการหนึ่งซึ่งสามารถเพิ่มคุณภาพของฟางข้าวได้ โดยพบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนจาก 2 เปอร์เซ็นต์ เป็น 8 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มการย่อยได้จาก 46 เปอร์เซ็นต์ เป็น 50-55 เปอร์เซ็นต์ และสัตว์ยังสามารถกินฟางได้เพิ่มอีก 30-40 เปอร์เซ็นต์ เป็นการเพิ่มพลังงานสุทธิสำหรับสัตว์ที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิต ทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารเยื่อใยสูงขึ้น (Wanapat, 1983, 1999; Wanapat et al., 1985, Wanapat and Wachirapakorn, 1990; Hart and Wanapat, 1992) และที่สำคัญที่สุดคือความเป็นกรด-ด่างของโคที่ได้รับฟางข้าวหรือฟางข้าวหมักยูเรียคือ 6.4-7.0 และยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) (Ngarmsang, et al., 2000) ซึ่งผลดังกล่าวเป็นผลดีต่อจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียในกลุ่ม cellulolytic bacteria จากการรายงานของกรมปศุสัตว์ (2550) พบว่าฟางข้าวมีเยื่อใยหยาบอยู่ที่ 38.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฟางหมักยูเรียสดมี 21.1 เปอร์เซ็นต์ และฟางหมักยูเรียแห้งมี 33.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.11)

ตารางที่ 2.11 โภชนะของฟางข้าว ฟางหมักยูเรียแบบสดและแห้ง

โภชนะ	ฟางข้าว	ฟางหมักยูเรีย	
		สด	แห้ง
วัตถุแห้ง (เปอร์เซ็นต์)	90.0	57.0	90.0
		.....% วัตถุแห้ง.....	
โปรตีนหยาบ	2.8	5.0	7.9
เยื่อใยหยาบ	38.1	21.1	33.3
ไขมัน	2.0	3.1	4.9

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2550)

Djajanegara et al. (1983) ได้ทำการหมักฟางข้าวด้วยยูเรีย 1, 2, 4, 8 และ 16 เปอร์เซ็นต์ นาน 1, 2, 4, 8 และ 16 สัปดาห์ตามลำดับ พบว่าหลังจากเปิดกองฟางหมักและปล่อยให้แอมโมเนียระเหย ได้ฟางหมักที่มีปริมาณไนโตรเจนและ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นตามระดับยูเรียที่สูงขึ้น อีกทั้งวัตถุแห้งก็เพิ่มขึ้นตามระดับยูเรียที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นถึงการคงอยู่ของไนโตรเจนจากยูเรียในรูปใดรูปหนึ่งที่ไม่สามารถระเหยออกไปได้ อย่างไรก็ตาม ค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูงขึ้นยังแสดงให้เห็นถึงการแตกตัวของยูเรีย โดยหลังจากการหมัก 1 สัปดาห์ ค่าความเป็นกรด-ด่างจะสูงถึง 9 ในทุกๆทรีทเมนต์ และหากยังคงเก็บให้อยู่ในสภาพปิดสนิทค่าความเป็นกรด-ด่างจะคงอยู่ในระดับนี้ต่อไปจนถึงที่ระยะหมัก 4 เดือน Wanapat et al. (1983) ได้ทำการหมักฟางข้าวด้าวยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ต่อฟางข้าวในอัตรา 1:1 โดยน้ำหนัก นาน 3 สัปดาห์ พบว่า โปรตีนหยาบ (CP) เพิ่มขึ้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ ADL ลดลงเมื่อเทียบกับฟางธรรมดา ค่า CP ที่เพิ่มขึ้นนี้ใกล้เคียงกับ Saadullah and Haque (1983) ที่ใช้ยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเพิ่มขึ้นจากฟางธรรมดา 3.9 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ Wanapat (1990) ยังได้รายงานว่าการหมักฟางข้าวด้วยยูเรียจะทำให้โปรตีนรวมเพิ่มขึ้นตามระดับยูเรียที่สูงขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีผลต่อองค์ประกอบของแร่ธาตุ (ตารางที่ 2.12) การใช้ระยะเวลาหมักนานขึ้นทำให้ค่า ADF เพิ่มขึ้นแต่ CP ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการระเหยไปของไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนีย

ปฏิกิริยาในการหมักฟางข้าวด้วยยูเรีย เริ่มจากยูเรียเมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยเอนไซม์ยูรีเอส (urease) จากจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะตามพื้นผิวฟาง ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายยูเรีย (ureolytic bacteria) (ภาพที่ 2.10) จากนั้นแอมโมเนียจะรวมตัวกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) ได้เป็นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) ที่มีคุณสมบัติเป็นด่างและทำให้การยึดเกาะของพันธะคลายตัวลง Wanapat (1985) ศึกษาการใช้ฟางข้าวหมักยูเรีย 3 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณการกินได้ต่อหน่วยกิโลกรัมต่อวัน และต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การกินได้เมื่อคิดเป็นกรัมต่อน้ำหนักเมแทบอลิก ในกลุ่มที่ใช้ฟางข้าวหมักยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ และผนังเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับฟางหมักยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับฟางข้าวหมักยูเรีย 3 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามฟางข้าวจัดเป็นอาหารหยาบคุณภาพต่ำ ซึ่งอาจส่งผลให้มีการผลิตก๊าซเมทเธนมากกว่าอาหารหยาบที่มีคุณภาพสูง

$$NH_2CONH_2 + H_2O \xrightarrow{urease} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + H_2O \longrightarrow NH_4OH$$

$$NH_4OH \longrightarrow NH_4^+ + OH^-$$

ภาพที่ 2.10 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการหมักฟางข้าวด้วยยูเรีย

ที่มา: Wanapat (1983)

ตารางที่ 2.12 องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว ฟางหมักยูเรีย และฟางหมักยูเรีย-ลาม

Treatments	DM	OM	CP	Ash	NDF	ADF	ADL	pH	อ้างอิง
RS	46.2	82.8	4.2	17.2	-	-	-	5.7	Wanapat (1990)
	-	81.7	4.1	18.3	75.9	56.7	5.1	-	Cheva-Lsarakul and Potikanond (1986)
	90.5	80.9	4.3	19.1	78.6	59.5	3.3	-	บุญเสริม และบุญล้อม
1%UTS	43.6	-	7.2	18.0	-	-	-	7.1	Wanapat (1990)
3%UTS	44.1	-	11.9	17.2	-	-	-	8.7	Wanapat (1990)
	38.5	-	9.6	16.6	76.0	-	5.1	-	Wanapat (1985)
4%UTS	50.3	80.0	9.2	20.0	73.5	61.8	5.4	-	บุญล้อม (2531)
	56.0	80.9	8.1	19.1	79.9	59.1	4.1	-	Cheva-Lsarakul and Potikanond (1986)
5%UTS	44.8	82.7	17.7	17.3	-	62.3	4.0	9.0	Wanapat (1990)
	90.5	80.3	5.3	-	80.5	-	4.9	-	บุญเสริม และบุญล้อม
	55.1	-	7.8	-	72.0	53.5	-	-	Wanapat et al. (2009)
6%UTS	95.4	82.0	7.5	-	76.4	60.8	5.7	-	Cheva-Lsarakul and Potikanond (1986)
ULRS	50.2	-	5.8	-	74.6	55.1	-	-	Wanapat et al. (2009)

RS= ฟางข้าว, UTS= ฟางหมักยูเรีย, ULRS= ฟางหมักเรีย 2.2% + แคลเซียมไฮดรอกไซด์ 2.2%

2.16 การประเมินจุลินทรีย์โปรตีนโดยใช้อนุพันธ์พิวรีน

การประเมินจุลินทรีย์โปรตีนจากสารอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ถือว่าเป็นวิธีการวัดปริมาณจุลินทรีย์ทางอ้อม (Indirect measurement) ซึ่งกำลังมีการเผยแพร่ให้มีการนำมาใช้ โดยวิธีนี้ไม่ต้องทำการผ่าตัดสัตว์หรือทำการสุ่มเอาของเหลวจากส่วนกระเพาะรูเมนหรือ

ลำไส้เล็ก เพียงแค่นำปัสสาวะมาวิเคราะห์และทำการประเมินหาสารพิวรีนที่ถูกดูดซึมก็เพียงพอ โดยมีการศึกษาพบว่าปริมาณสารอนุพันธ์พิวรีนที่ขับออกมากับปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับสารพิวรีนที่ดูดซึมในลำไส้เล็ก ซึ่งในการศึกษาแต่ก่อนจะใช้วิธีการวิเคราะห์จากปริมาณปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งวัน โดยการเก็บปัสสาวะทั้งหมด(total collection) ซึ่งเป็นวิธีการที่ยุ่งยากต่อการนำมาใช้กับสัตว์ที่มีการเลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาทั้งในแกะและโคนั้นพบว่าอัตราส่วนของสารอนุพันธ์พิวรีนต่อสารครีเอตินิน (creatinine) ต่อน้ำหนักตัว ซึ่งเรียกว่า PDC index มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารอนุพันธ์พิวรีนที่ขับออกมาในแต่ละวัน (Chen et al., 1995) ดังนั้นการใช้ PDC index จากส่วนของปัสสาวะที่สุ่มมา (spot sampling) ก็สามารถนำมาใช้ประเมินถึงปริมาณของจุลินทรีย์โปรตีนได้เช่นกัน ซึ่งวิธีการดังกล่าวได้มีการนำมาใช้เพื่อประเมินจุลินทรีย์โปรตีนในโคนมและโคเนื้อที่มีการเลี้ยงในประเทศไทยทั้งแบบที่เลี้ยงปล่อยทุ่งและเลี้ยงในฟาร์ม เพื่อให้ทราบถึงศักยภาพการเลี้ยงสัตว์และการเจริญของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของสัตว์ในสภาพการให้อาหารที่แตกต่างกันตามฤดูกาล

2.16.1 สารอนุพันธ์พิวรีน (Purine derivatives)

สารอนุพันธ์พิวรีนประกอบด้วย 4 ตัวคือ ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) แซนทีน (xanthine) กรดยูริก (uric acid) และอะแลนโตอิน (allantoin) โดยไฮโปแซนทีน มีสูตรเคมีคือ $C_6H_4N_4O$ มีน้ำหนักโมเลกุล 136.1 กรัม ไฮโปแซนทีนถือเป็นเบสพิวรีนตัวหนึ่งตามการจัดกลุ่มของซึ่งไฮโป-แซนทีนจะเป็นพิวรีนเบสของไอโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) โดยการย่อย IMP จะได้ไฮโปแซนทีนนั่นเอง (Stryer, 1995) ซึ่ง IMP เป็นสารตั้งต้นของ อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (AMP) และกวาโนซีนโมโนฟอสเฟต (GMP) ในปัสสาวะของโคและกระบือจะมีไฮโปแซนทีนที่ต่ำมากคือน้อยกว่า 0.3 เปอร์เซนต์ของอนุพันธ์ทั้งหมด แซนทีน มีสูตรเคมี $C_5H_4N_4O_2$ มีน้ำหนักโมเลกุล 152.1 กรัม เป็นผลผลิตจากการย่อย เบสกวานีน และไฮโปแซนทีน กวานีนจะถูกย่อยโดยเอนไซม์กวานีนดีอะ-มิเนสหรือ กวาเนสและได้แซนทีน ส่วนไฮโปแซนทีนจะถูกย่อยโดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Fox, 1978) ในกระแสเลือดและปัสสาวะของโคและกระบือจะมีแซนทีนต่ำมากคือมีน้อยกว่า 0.3 % ของอนุพันธ์พิวรีนทั้งหมด กรดยูริก มีสูตรเคมีคือ $C_5H_4N_4O_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 168.1 กรัม เป็นผลผลิตจากการย่อยแซนทีนโดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ในกระแสเลือดของแกะจะมีความเข้มข้นของกรดยูริกแปรปรวนระหว่าง 6-8 ไมโครโมล/ลิตร (Chen et al., 1990) ส่วนในโคจะมีความเข้มข้น 19-34 ไมโครโมล/ลิตร (Giesecke et al., 1994) ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะพบกรดยูริกประมาณ 15-20 % ของอนุพันธ์พิวรีนทั้งหมดรองจากอะแลนโตอิน และอนุพันธ์ตัวสุดท้ายในกระบวนการย่อยพิวรีนในสัตว์เคี้ยวเอื้องคือ อะแลนโตอิน มีสูตรเคมีคือ $C_4H_6N_4O_3$

มีน้ำหนักโมเลกุล 158.1 กรัม ได้จากการย่อยกรดยูริกด้วยเอนไซม์ยูริเคส (uricase) จากตับ ระดับอะแลนโตอินที่พบในปัสสาวะแกะจะสูงกว่าแพะ และกระบือตามลำดับ อะแลนโตอินนับเป็นอนุพันธ์พิวรีนที่มีปริมาณมากที่สุดในปัสสาวะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง คือมีประมาณ 80-90 % ของอนุพันธ์ทั้งหมด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์และแหล่งของพิวรีนที่ถูกย่อยเช่น จากจุลินทรีย์โปรตีน (exogenous source) จะมีสูงกว่าจากเซลล์ของสัตว์เอง (endogenous source) ในเลือดของแกะจะมีความแปรปรวนของความเข้มข้นประมาณ 52-130 ไมโครโมล/ลิตร (Chen et al., 1989; Balcells et al., 1992) ซึ่งในโคจะมีความเข้มข้น 140-392 ไมโครโมล/ลิตร (โอภาส และทองสุข, 2547)

อัตราส่วนของกรดนิวคลีอิก RNA ต่อ DNA ในน้ำรูเมน จะไม่แตกต่างจากในแบคทีเรียในรูเมน และอัตราส่วนนี้จะไม่มีความแปรปรวนกับชนิดหรือปริมาณของอาหารที่สัตว์ได้รับด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากรดนิวคลีอิกที่พบในรูเมนได้มาจากจุลินทรีย์เท่านั้น (Smith and McAllan, 1970) นอกจากนี้ กรดนิวคลีอิกจากอาหารจะถูกย่อยในรูเมนจนหมด ดังนั้นกรดนิวคลีอิกที่ไหลลงไปยังลำไส้เล็กจึงได้มาจากจุลินทรีย์เท่านั้น กรดนิวคลีอิกที่ส่งมาจากรูเมนจะถูกย่อยที่ลำไส้เล็กโดย RNA และ DNA จะถูกย่อย 89 % และ 80 % ตามลำดับ (McAllan, 1980) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดนิวคลีอิกโดยเฉพาะส่วนเบสพิวรีนที่ถูกส่งมาที่ลำไส้เล็กกับปริมาณอะแลนโตอินที่ถูกขับออกในปัสสาวะจะมีความสัมพันธ์กัน ทั้งนี้มีการศึกษาโดยการฉีดเบสพิวรีน หรือฉีดยีสต์ RNA เข้าไปในส่วนดูโอดินัม ซึ่งจากการศึกษาในโคสามารถเขียนสมการความสัมพันธ์ได้ดังนี้

$Y= 0.85X+0.385W^{0.75}$ (Verbic et al., 1990)

$Y= 0.85X+0.30W^{0.75}$ (Pimpa et al., 2001)

โดย Y คือปริมาณสารอนุพันธ์พิวรีนที่ขับออกมากับปัสสาวะ (mmol/วัน)

X คือปริมาณพิวรีนเบสที่ดูดซึมจากลำไส้เล็ก (mmol/วัน)

2.16.2 สารอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะ (Purine derivatives in urine)

อัตราส่วนของสารอนุพันธ์พิวรีนในกระแสเลือดที่ขับออกมากับปัสสาวะของแกะ โค และกระบือ จะเป็นค่าที่ใช้ในการประเมินปริมาณพิวรีนที่สัตว์ได้รับจากการดูดซึมเอาจุลินทรีย์โปรตีนที่ลำไส้เล็ก ซึ่งไม่ใช่ว่าสารอนุพันธ์พิวรีนในกระแสเลือดทั้งหมดจะถูกขับออกมากับปัสสาวะ โดยจะมีบางส่วนขับออกมาตามระยะเวลา และจะเรียกส่วนที่ขับออกมาว่า อนุพันธ์ที่ผ่านการกรองของหน่วยไต (renal routes) และส่วนที่ไม่ถูกขับออกมาว่า non-renal routes ซึ่งส่วนที่ไม่ถูกขับออกมานั้นอาจมีการดึงกลับไปใช้ประโยชน์โดยวิถี *de novo* หรืออยู่ในของเหลวอื่นๆ

ในร่างกาย เช่น ในน้ำลาย และน้ำนม เป็นต้น ปริมาณสารอนุพันธ์ที่ขับออกมากับปัสสาวะจะมีความสัมพันธ์กันสูงกับ ปริมาณกรดนิวคลีอิกในรูเมนของแกะและโค นอกจากนี้ปริมาณสารอนุพันธ์ที่ขับออกมากับปัสสาวะยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่ย่อยได้ทั้งหมด (digestible organic matter intake, DMOI) ดังนั้น ปริมาณสารอนุพันธ์พิวรีนที่ขับออกมานั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณจุลินทรีย์ในรูเมน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยการได้รับอาหารและความเหมาะสมของสภาพนิเวศวิทยาภายในรูเมน โดยการให้อาหารพลังงานสูงจะมีผลทำให้ปริมาณการขับสารอนุพันธ์พิวรีนในแกะเพิ่มขึ้น (Nakamura and Fujihara, 1994) ทั้งนี้ชนิดของอาหารหยาบ และจำนวนครั้งในการให้อาหารจะไม่มีผลกับความเข้มข้นของสารอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะ (โอภาสและทองสุข, 2547) ส่วนผลของปริมาณอาหารที่กินได้ โดยคิด DOMI ต่อน้ำหนักตัว ($kg^{0.75}$) พบว่ามีผลต่อการขับสารอนุพันธ์พิวรีนทั้งในแกะ แพะ โค และกระบือ (Pimpa et al., 2003)

ตารางที่ 2.13 สารอนุพันธ์พิวรีนที่หลั่งในปัสสาวะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ชนิดสัตว์	PD excretion		อ้างอิง
	mmol/d	(μmol/$W^{0.75}$)	
กระบือ		201	Sammraweera (1995)
		200	Pimpa (2002)
โคเนื้อ		530	Chen et al. (1990)
		300	Pimpa (2002)
โคนม	75.5		Liu et al. (2008)
	107		Peterson (2006)
	379.3		Reynal et al. (2005)
แกะ		165	Chen et al. (1990)
		202	Balcells et al. (1991)
แพะ		202	Jetana et al. (2003 a,b)

สารอนุพันธ์พิวรีนที่หลั่งในน้ำปัสสาวะมาจากสองแหล่งคือ สารอนุพันธ์พิวรีนจากภายนอก(exogenous PD) และสารอนุพันธ์พิวรีนพื้นฐาน (endogenous PD) สารอนุพันพิวรีนจากภายนอกส่วนมากจะมาจากการแตกตัวของพิวรีนเบสของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนกับพิวรีนจากอาหารที่กินเข้าไป ขณะที่สารอนุพันธ์พิวรีนพื้นฐานจะมาจากการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของสัตว์หลังการแตกตัวของกรดนิวคลีอิกสารอนุพันธ์พิวรีนก็จะเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อต้องการวัดปริมาณ

พิวรีนที่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก จึงจำเป็นที่จะต้องหักลบส่วนของสารอนุพันธ์พิวรีนพื้นฐานออก การวัดสารอนุพันธ์พิวรีนพื้นฐานนั้นสามารถวัดได้หลายวิธีเช่น การให้อาหารที่ไม่มีไนโตรเจน การคำนวณจากกราฟ การอดอาหาร การใช้สารกัมมันตรังสี และการเอาอาหารออกจากกระเพาะรูเมนให้หมด

2.16.3 การใช้อนุพันธ์พินรีนในการประเมินจุลินทรีย์โปรตีน

อนุพันธ์ของพิวรีนสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนของกระบือได้ โดยพบว่าอะแลนโตอินมีสัดส่วนมากที่สุดคิดเป็น 86-90 เปอร์เซ็นต์ของพิวรีนทั้งหมด สามารถใช้เป็นตัวแทนในการประเมินการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนได้ (Perez et al., 1996) อย่างไรก็ตาม ปริมาณการขับอนุพันธ์พิวรีนออกมากับปัสสาวะแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ (ตารางที่ 2.13) นอกจากนี้ Kittiworawech et al. (1995) รายงานว่าความแตกต่างในชนิดของอาหารโปรตีน เช่น ใบกระถิน และใบมันสำปะหลัง และความแตกต่างในระดับของโปรตีน มีผลต่อการขับอนุพันธ์พิวรีน โดยอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงจะให้ค่าที่สูงกว่าอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำ Samaraweera et al. (1995) รายงานว่า กระบือที่ได้รับฟางข้าวเสริมด้วยยูเรีย 1 เปอร์เซ็นต์ จะมีการขับออกของอะแลนโตอินและอนุพันธ์ของพิวรีนทั้งหมด เท่ากับ 18.1 และ 20.1 โมลต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว Parker (1995) กล่าวว่า ค่าอะแลนโตอินที่ขับออกมทางปัสสาวะของกระบือ (17.1 มิลลิโมลต่อวัน) จะมีค่าต่ำกว่าในโค (21.1 มิลลิโมลต่อวัน) ส่งผลให้การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในกระบือ (15.8 กรัมไนโตรเจนต่อวัน) ต่ำกว่าในโค (19.5 กรัมไนโตรเจนต่อวัน) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารที่สัตว์ได้รับเป็นหลัก สอดคล้องกับ Pimpa et al. (1996) รายงานว่าปริมาณการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน และอนุพันธ์ พิวรีนมีค่าเพิ่มขึ้นได้ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในอาหาร และค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน