บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 นิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมน

สัตว์เคี้ยวเอื้องมีกระเพาะแบ่งเป็น 4 ส่วนประกอบด้วย รูเมน (rumen) เรติคูลั่ม (reticulum) โอมาซั่ม (omasum) และอะโบมาซั่ม (abomasums) กระเพาะรูเมนถือว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากเป็นบริเวณที่เกิดกระบวนการทางชีวเคมีต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ซึ่งมีความแตกต่างจากกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนอื่น ๆ เช่น สามารถรักษาระดับอุณหภูมิได้ ซึ่งถูกควบคุมโดยกระบวนการ homeothermic metabolism โดยตัวสัตว์เอง กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย (volatile fatty acids; VFAs) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (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 แต่ถ้ามีระดับของออกซิเจนมากเกินไปอาจเป็นพิษจ่อจุลินทรีย์พวกนี้ได้ (เมธา 2533) จุลินทรีย์ที่พบในกระเพาะรูเมนมีมากมายหลายชนิด โดยจุลินทรีย์เหล่านี้มีคุณสมบัติที่สำคัญคือ ต้องมีชีวิตอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน 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)

2.1.1. 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)

2.1.1.1. แบคทีเรียที่ลอยตัวโดยอิสระภายในของเหลวรูเมน มีประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียทั้งหมด มีการแบ่งตัวสูงเพราะในกระเพาะรูเมนจะมีการไหลออกของของเหลวในระยะ liquid phase เพราะฉะนั้นอัตราการแบ่งตัวของจุลินทรีย์เหล่านี้ต้องสูงกว่า rumen fluid dilution rate

2.1.1.2. แบคทีเรียที่เกาะติดกับอนุภาคของอาหารมีประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียทั้งหมด โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ย่อยสลายอาหารหยาบ การเข้าเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวของอนุภาคอาหารนั้นเป็นลักษณะที่พิเศษมาก

2.1.1.3. แบคทีเรียที่ยึดเกาะกับผนังของกระเพาะรูเมน เป็นพวก facultative anaerobe พบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ทำหน้าที่สำคัญหลายประการในกระเพาะรูเมน กล่าวคือ

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

2.1.1.4. แบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่กับโปรโตซัว โดยเฉพาะพวก methanogens นอกจากนี้แบคทีเรียในกระเพาะรูเมนยังสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น หรือการผลิตผลผลิตสุดท้าย ดังแสดงในตารางที่ 2.1

2.1.2. เชื้อราในกระเพาะรูเมน

เชื้อราที่อาศัยอยู่ในกระเพาะรูมนเป็นกลุ่มที่อยู่ได้ในสภาพที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic fungi) ความสำคัญของเชื้อราเหล่านี้คือ จะสามารถลดการสูญเสียพลังงานจากอาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไป โดยเปลี่ยนเอา chitin ซึ่งปกติย่อยไม่ได้ให้มาเป็นผนังเซลล์ของเชื้อรา และสามารถเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (ฉลอง 2541) วงจรชีวิตของเชื้อรากลุ่มนี้ประกอบด้วย

2.1.2.1 Motile stage (zoospore) เป็นระยะที่เชื้อราสามารถเคลื่อนไหวได้โดยใช้ flagella

2.1.2.2 Vegetative stage (sporangium) เป็นระยะที่การยึดเกาะของไรซอยด์ (rhizoids) กับเศษชิ้นส่วนของพืช ซึ่งไรซอยด์จะแทงผ่านผนังเซลล์ (cell wall) ของพืชเข้าไปเพื่อทำให้เกิดการหมักของคาร์โบไฮเดรตและทำให้ sporangia มีการพัฒนาจนกระทั่งเข้าสู่ระยะ maturity ก็จะมีการปลดปล่อยซูโอสปอร์ออกมาและมีวงจรชีวิตเช่นเดิม (Orpin, 1975; Joblin, 1981; Orpin, 1985)

ตารางที่ 2.1 แสดงการจำแนกแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนตามการใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้น

Items	Species	Substrate
Cellulolytic bacteria	*Bacteriodes succinogens*	cellulose
	Ruminococcus flavefacien	
	Ruminococcus albus	
Hemicellulose digesting	*Butyrivibrio fibrisolvens*	hemicellulose
bacteria	*Lachnosperia multiparens*	
	Bacteriodes ruminicola	
Amylolytic bacteria	*Bacteriodes amylophilus*	starch
	Succinomonas amylophilus	
	Butyrivibrio fibrisolvens	
	Selenomonas ruminantium	
	Bacteriodes ruminicola	
	Streptococcus bovis	
Bacteria utilizing sugar	*Veillonella gazogenes*	lactc acid, succunic 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*	C & H
	formicicum	
	M. ruminantium	
Lipolytic bacteria	*Anaerovibrio lipolytica*	lipid
Hydrogenating bacteria	*Butyrivibrio fibrisolvens*	unsaturated fatty acid
	Ruminococcus albus	
Vitamin-synthesizing organisms		

ที่มา: ฉลอง (2541)

เชื้อราจะเข้าย่อยสลายส่วนของเยื่อใยเป็นกลุ่มแรก โดยย่อยจากส่วนด้านในก่อน ซึ่งเชื้อราจะช่วยลดการยึดเกาะกันแน่นของอนุภาคอาหาร (เมธา 2533) ลดความตึงของเส้นใย ทำให้เกิดการแตกของเส้นใยได้ง่ายเมื่อเกิดการเคี้ยวเอื้อง จึงช่วยให้แบคทีเรียเข้าย่อยสลายได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้เชื้อราอาจจะทำลาย hemicellulose-lignin complex ละลายส่วนของเพคตินและลิกนินออกมา แต่ไม่สามารถย่อยทั้งเพคตินและลิกนินได้ ดังนั้นเชื้อราจึงเป็นจุลินทรีย์ที่ความสำคัญอย่างยิ่งในการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย การที่ในกระเพาะรูเมนมีเชื้อรามากจะช่วยลดระยะเวลา lag-phase ของการเข้าย่อยอาหารเยื่อใย (ฉลอง 2541; Preston and Leng, 1987) โดยเชื้อราที่พบในทางเดินอาหารของสัตว์กินพืชสามารถแยกได้ดังตารางที่ 2

2.1.3. โปรโตซัวในกระเพาะรูเมน

โปรโตซัวเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย โปรโตซัวที่พบในรูเมนส่วนใหญ่เป็นชนิด ciliate protozoa แต่ในช่วงที่เป็นลูกสัตว์จะมี flagellate protozoa มากกว่า (ฉลอง 2541) จำนวนประชากรของโปรโตซัวมีมากกว่า 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร การจัดจำพวกโปรโตซัวมักนิยมถือตามลักษณะของเซลล์ (cell morphology) ซึ่ง ciliate protozoa สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ holotrichs และ entodiniomorphs (Coleman, 1975) ดังแสดงในตารางที่ 3

กลุ่ม holotrichs มีรูปร่างคล้ายพารามีเซียม มีขนล้อมรอบและมีขนาดใหญ่ อยู่อิสระไม่เกาะติดกัน เคลื่อนไหวได้เร็ว สามารถทนอยู่ในสภาพมีออกซิเจนได้ดี มีความสามารถในการใช้น้ำตาล (sugar) เป็นแหล่งของพลังงาน ในขณะที่กลุ่ม entodiniomorphs มีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีซิเรียเป็นแผงบริเวณ anterior เพื่อใช้กินอาหารและเคลื่อนไหว มีความสามารถในการใช้แป้ง (starch) เพื่อเป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญ โดยเฉพาะจีนัส Epidinium และ Ophryoscolex แต่บางตัวก็สามารถใช้เซลยูโลส และเฮไมเซลยูโลสเป็นแหล่งของพลังงานได้ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ายึดเกาะกับสารตั้งต้นนั้นๆ ซึ่งอาจเป็นคลอโรพลาสต์ (chloroplast) หรือส่วนของเยื่อใย (fibrous particles) (Van Soest, 1994)

ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดและลักษณะของเชื้อราที่พบเฉพาะของสัตว์กินพืชชนิดต่าง ๆ

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 (1991)

ตารางที่ 2.3 แสดงกลุ่มของโปรโตซัวในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

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)

2.2 การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน

จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะรูเมนสังเคราะห์จากกรดแอมมิโน และเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนหรือพวกที่อยู่ในรูปอิสระ อย่างไรก็ตามพบว่าแอมโมเนียที่หมุนเวียนอยู่ภายในกระเพาะรูเมนเป็นแหล่งไนโตรเจนหลักในการสังเคราะห์โปรตีนเช่นกัน (Aharoni et al., 1991) Al-Rabbat et al. (1971) รายงานว่า 61 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์โปรตีนมาจากแอมโมเนีย และ 39 เปอร์เซ็นต์มาจากกรดแอมมิโนและเปปไทด์ อย่างไรก็ตาม Maeng et al. (1976) รายงานว่าสัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างแอมโมเนียและกรดแอมมิโนในการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนคือ 75 เปอร์เซ็นต์แอมโมเนีย ไนโตรเจน และ 25 เปอร์เซ็นต์กรดแอมมิโน-ไนโตรเจน นอกจากนี้พลังงาน ATP ที่สัตว์ได้รับ ซึ่งได้จากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะรูเมนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน จุลินทรีย์โปรตีนเมื่อถูกย่อยสลายที่กระเพาะจริงและลำไส้เล็ก จะมีผลต่อองค์ประกอบของกรดแอมมิโนที่ได้ เนื่องจากจุลินทรีย์มีความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน เพื่อนำมาสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีนในเซลล์ ฉลอง (2541) รายงานว่าปริมาณไนโตรเจนในจุลินทรีย์เท่ากับ 36-49 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ซึ่ง 85 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดจะอยู่ในรูปของโปรตีนแท้ โปรตีนในตัวจุลินทรีย์เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง โดยโปรโตซัวมีการย่อยได้ดีกว่าแบคทีเรีย แม้ว่าค่า biological value ของโปรตีนของโปรโตซัวและแบคทีเรียจะไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อคิดเป็นค่า net protein utilization พบว่าโปรโตซัวมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย

2.3 การกำจัดโปรโตซัวออกจากกระเพาะรูเมน

จากการศึกษาพบว่าโปรโตซัวมีผลเสียมากกว่าผลดีต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงผลของการจำกัดโปรโตซัวต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ซึ่งวิธีในการกำจัดโปรโตซัวนั้นสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้สารเคมีเช่น dioctyle sodiumsulphosuccinate (DSS), sodium lauryl diethoxysulphate, alkylphenol ethoxylate การใช้ลิปิด (lipids) ทั้งที่เป็นน้ำมัน เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันทานตะวัน และกรดไขมันเช่น lauric acid (C12:0), myristic acid (C14:0), linoleic acid (C18:2) นอกจากนี้สารประกอบจากพืช เช่น saponins ซึ่งพบมากในพืชในเขตร้อน (tropical area) ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) และกรดอะมิโนที่มีองค์ประกอบของกำมะถัน (sulfur) ก็มีการนำมาใช้ด้วยเช่นเดียวกัน (Islam and Begum, 1997; Chandramoni et al., 2001; Takahashi et al., 2005)

2.3.1 ผลของการกำจัดโปรโตซัวต่อแบคทีเรียในรูเมน

โปรโตซัวและแบคทีเรียมีความต้องการอาหารคล้ายกัน และโปรโตซัวก็กินแบคทีเรียเป็นอาหารเพื่อเป็นแหล่งของไนโตรเจนและกรดนิวคลีอิค ทั้งนี้เนื่องจากมีขนาดที่ใหญ่กว่า ดังนั้นการกำจัดโปรโตซัวจึงมีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลจากทั้งมีอาหารที่เพียงพอและไม่มีโปรโตซัวมาคอยกิน ดังนั้นจึงทำให้สัตว์ได้รับผลผลิตจุลินทรีย์จากกระบวนการหมักและไหลผ่านไปสู่ลำไส้เล็กได้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามการกำจัดโปรโตซัวก็ส่งผลให้จุลินทรีย์บางกลุ่มลดลงด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซเมธเทน (methanogenic bacteria) ซึ่งอาศัยอยู่บนผิวด้านข้างของโปรโตซัว แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวมีทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ ที่ต้องการและไม่ต้องการออกซิเจน และพวกที่อาศัยกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiotic bacteria) โดยอาศัยอาหารจากกระบวนการเมทธาโบลิซึมของโปรโตซัว (Newbold et al., 1995)

2.3.2 ผลของการกำจัดโปรโตซัวต่อผลผลิตสุดท้ายในกระบวนการหมัก

การกำจัดโปรโตซัวมีผลทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมดลดลง แต่มีผลทำให้จำนวนโมลของโพรพริออนิคสูงขึ้น ในขณะที่กรดอะซิติกและกรดบิวทีริคลดลง ทั้งนี้เนื่องจากโปรโตซัวมีอิทธิพลในการขัดขวางการผลิตกรดโพรพริออนิค (Takahashi, 2001)

2.3.3 ผลของการกำจัดโปรโตซัวต่อการย่อยได้

จากการศึกษาของ Bird (1989) พบว่าความสามารถในการย่อยได้ของฟางข้าวของแกะที่ได้รับการกำจัดโปรโตซัวออกมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้กำจัดโปรโตซัว ทั้งนี้อาจสอดคล้องกับการกำจัดโปรโตซัวมีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียสูงขึ้น

2.3.4 ผลของการกำจัดโปรโตซัวต่อแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในรูเมน

การกำจัดโปรโตซัวมีผลทำให้ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนลดลง ซึ่งการที่ความเข้มข้นลดลงนี้ไม่ได้เป็นผลมาจากการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์หลังจากการกำจัดโปรโตซัว แต่เป็นผลเนื่องมาจากการย่อยสลายโปรตีนหรือการย่อยเปปไตท์ในกระเพาะรูเมนได้น้อยลง ซึ่งส่งผลให้โปรตีนไหลผ่านลงสู่ทางเดินอาหารส่วนล่างได้มากขึ้น (Santra and Karim, 2002)

2.3.5 ผลของการกำจัดโปรโตซัวต่อสมรรถนะของสัตว์

จากการศึกษาของ Bird (1989) พบว่าการกำจัดโปรโตซัวในแกะสามารถเพิ่มผลผลิตขนและน้ำหนักตัว สอดคล้องกับการศึกษาถึงอัตราการเจริญเติบโตในกระบือ พบว่าการกำจัดโปรโตซัวในรูเมนทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นต่อวันสูงขึ้น และประสิทธิภาพการใช้อาหารก็ดีขึ้นด้วย นอกจากนี้ Moate (1989) ยังพบว่าการกำจัดโปรโตซัวออกจากกระเพาะรูเมนมีผลทำให้ผลผลิตและโปรตีนน้ำนมสูงขึ้น และยังผลให้อัตราส่วนของโปรตีนต่อไขมันนมสูงขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากการกำจัดโปรโตซัวทำให้ผลผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้สูงขึ้น

2.4 ก๊าซเมธเทน

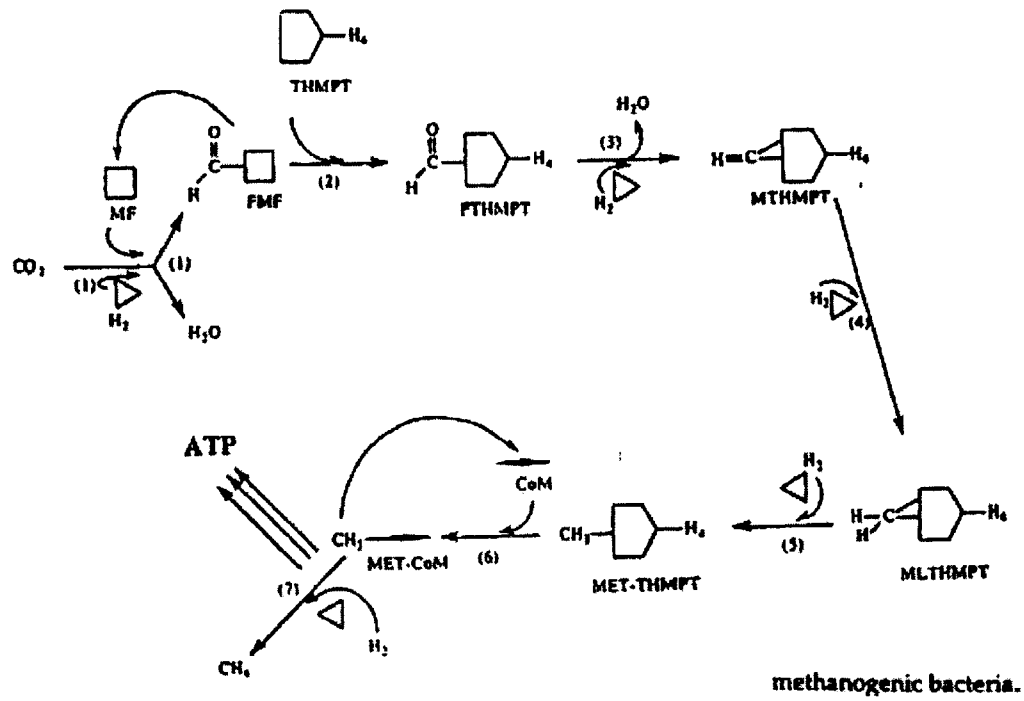
ก๊าซเมธเทน (CH_4) เป็นหนึ่งในก๊าซที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก (green house effect) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ส่งผลให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลทำให้โอโซนในชั้นบรรยากาศลดน้อยลง ส่งผลให้รังสีคลื่นสั้นที่ส่องผ่านชั้นโอโซนลงมายังพื้นผิวโลกได้มากขึ้น รวมทั้งปล่อยให้รังสีที่ทำอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตส่องผ่านลงมาทำอันตรายกับสิ่งมีชีวิตบนโลกได้ด้วย ปรากฏการณ์เรือนกระจกเกิดจากก๊าซหลายชนิดได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ก๊าซเมธเทน (CH_4) ก๊าซคลอโรฟลูออโรคาร์บอน (CFC-11, 12) และก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ส่งผลต่อปรากฏการณ์นี้ครึ่งหนึ่ง ส่วนก๊าซเมธเทนส่งผลเป็นอันดับสอง ความเข้มข้นของก๊าซเมธเทนในชั้นบรรยากาศมีเพียง 2 ppmv ซึ่งน้อยกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นถึง 350 ppmv อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของก๊าซเมธเทนสูงกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้เมื่อเทียบต่อหน่วยพบว่าก๊าซเมธเทนยังมีผลต่ออุณหภูมิของโลกมากกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 21% อีกด้วย ก๊าซเมธเทนที่สะสมในชั้นบรรยากาศประมาณ 20-30% มาจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Takahashi et al., 2005)

2.4.1 การผลิตก๊าซเมธเทนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย และก๊าซชนิดต่างๆ ส่วนประกอบของก๊าซเหล่านั้นคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 40% ก๊าซเมธเทน 30-40% ก๊าซไฮโดรเจน 5% และก๊าซออกซิเจนกับก๊าซไนโตรเจนอีกเล็กน้อย ก๊าซเมธเทนเกิดจากกระบวนการรวมตัวกันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) กับก๊าซไฮโดรเจน (H_2) โดยแบคทีเรีย (เมธา 2533) ซึ่งทำให้พลังงานจากอาหารสูญเสียไป 10% (Van Kessel and Russell, 1996) การผลิตอะซิเตท (acetate) จะก่อให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน ส่วนการผลิตโพรปิออเนทไม่ก่อให้เกิดก๊าซเลย ส่วนการผลิตบิวทีเรท (butyrate) จะอาศัยก๊าซไฮโดรเจนเพื่อไปรีดิวซ์อะซิโตอะซิเตท (เมธา 2533)

กระบวนการสังเคราะห์ก๊าซเมธเทนเป็นกระบวนการรีดิวซ์ equivalent disposal (ไฮโดรเจน) ที่เกิดจากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต หากกระบวนการนี้ถูกยับยั้งจะทำให้มีไฮโดรเจนสะสมเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรียสามารถลดปริมาณไฮโดรเจนได้โดยกระบวนการอื่น เช่น

การนำไปใช้ในการสังเคราะห์เป็น propionate ซึ่งเป็นผลผลิตที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ (Van Kessel and Russell, 1996) การรีดิ้วคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นก๊าซเมธเทนมีขั้นตอนดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กระบวนการสังเคราะห์ก๊าซเมธเทนโดยแบคทีเรียในกระเพาะรูเมน (MF = methanofuran, THMPT = tetrahydromethanopterin, F420 = factor 420, CoM = coenzyme M (Ferry, 1995)

ปฏิกิริยาเคมีในกระบวนการสังเคราะห์ก๊าซเมธเทน

1. เกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างเมธเทนโนฟูแรน (MF), CO_2 และ H_2 โดยความช่วยเหลือของ F420 ทำให้เกิดสารฟอร์มิลเมทเทนโนฟูแรน (formyl methanofuran; FMF) และน้ำ (H_2O)

2. เกิดปฏิกิริยาเคมีการย้ายกลุ่มฟอร์มิล (formyl group) จาก FMF ไปให้สารเตทตร้าไฮโดรเมธเทนน็อฟทีรีน (THMPT) ซึ่งจะกลายเป็นสารฟอร์มิลเตทตร้าไฮโดรเมธเทนน็อฟทีรีน (formyl tetrahydromethanoptrin, FTHMPT)

3-5. ปฏิกิริยาการรีดิ้วสาร FTHMPT โดย H_2 และมี F420 ทำให้มีการเคลื่อนย้ายตำแหน่งของคาร์บอนหนึ่งอะตอมในโครงสร้างของ THMPT จึงเปลี่ยนเป็นสารเมททีนิลเตทตร้าไฮโดรเมทเทนน็อฟทีรีน (methenyltetrahydromethanopterin; MTHMP) จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นสารเมททิลเลนนิลเตทตร้าไฮโดรเมทเทนน็อฟทีรีน (methyllenyltetrahydromethanopterin; MLTHMPT) และเปลี่ยนเป็นสารเมททิลเตทตร้าไฮโดรเมทเทนน็อฟทีรีน (methyltetrahydro-methanopterin; MET-MTHMP) ตามลำดับ

6. ปฏิกิริยาเคมีการย้ายเมททิลกรุ๊ฟจากสาร MET-THMPT ไปให้โคเอนไซม์เอ็ม แล้วจึงเปลี่ยนเป็นสาร เมททิลโคเอ็ม (Methyl CoM; Met CoM)

7. การรีดิ้วเมททิลโคเอ็มในที่มี F420 ไปเป็นก๊าซเมธเทน (CH_4) และโคเอนไซม์เอ็ม โดยมีพลังงาน ATP เกิดขึ้นด้วย

2.4.2 แบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซเมธเทน

แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซเมธเทน (methanogens) สามารถจำแนกออกได้เป็น 12 genera อย่างไรก็ตามมีเพียงบางชนิดที่พบในกระเพาะรูเมน (ตารางที่ 2.4) แบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซเมธเทนทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากนี้ยังจัดเป็น facultative autotroph bacteria กล่าวคือสามารถผลิตก๊าซเมธเทนได้จากปฏิกิริยาระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์ หรือจากเมทานอลกับไฮโดรเจน หรือจากอะซิเตทกับฟอร์เมทเป็นต้น แบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซเมธเทนส่วนมากจะสร้าง ATP จากการส่งผ่านอิเลคตรอนไปตามสารพาอิเลคตรอนที่เรียงกันเป็นระบบที่เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) ซึ่งเป็นสารพาอิเลคตรอนที่พบเฉพาะในแบคทีเรียก๊าซเมธเทนเท่านั้น (unique electron carriers) ก่อให้เกิดแรงขับเคลื่อนโปรตอน (proton motive force: PMF) และเกิดการรีดิ้วเมททิลโคเอนไซม์เอ็ม (methyl-coenzyme M) ซึ่งเป็นพรีเคอร์เซอร์ (precursor) ในการเกิดก๊าซเมธเทน แสดงให้เห็นว่าการส่งผ่านอิเลคตรอน (electron transport) นี้เชื่อมโยงกับการเกิดก๊าซเมธเทน (methanogenesis) (Morgavi et al., 2006)

ตารางที่ 2.4 แบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซเมธเทนได้บางชนิดที่พบในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

แบคทีเรีย	สารตั้งต้นที่สามารถใช้	ผลผลิต
Methanobacterium ruminantum	CO_2, H_2, HCOOH	CH_4, CO_2, H_2O
Methanobacterium fomicicum	HCOOH	CH_4, CO_2, H_2O
Methanobrevivactor ruminantum	HCOOH	CH_4, CO_2, H_2O
Methanomicrobium mobile	HCOOH	CH_4, CO_2, H_2O
Methanosarcina barkerii	Methanol, Methylamine, Acetate	CH_4, CO_2, NH_4

ที่มา: Yokoyama and Johnson (1988)

โปรโตซัวมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ก๊าซเมธเทนในรูเมน (Newbold et al., 1995) เนื่องจากส่วนหนึ่งของแบคทีเรียที่สังเคราะห์ก๊าซเมธเทนจะเกาะอยู่กับโปรโตซัว (ecto- and endosymbiotically) (Finlay, 1994) สอดคล้องกับ Ushida and Jouany (1996) ซึ่งกล่าวว่ากิจกรรมทางเมทาบอลิซึมของโปรโตซัวมีส่วนเกี่ยวข้องกับการผลิตก๊าซเมธเทน Kreuzer et al. (1986) พบว่าการกำจัดโปรโตซัวออกจากกระเพาะรูเมนมีผลทำให้การผลิตก๊าซเมธเทนลดลงเฉลี่ย 20-30% ซึ่งน้อยกว่าการลดลงด้วยน้ำมันมะพร้าว (Dohme et al., 1999)

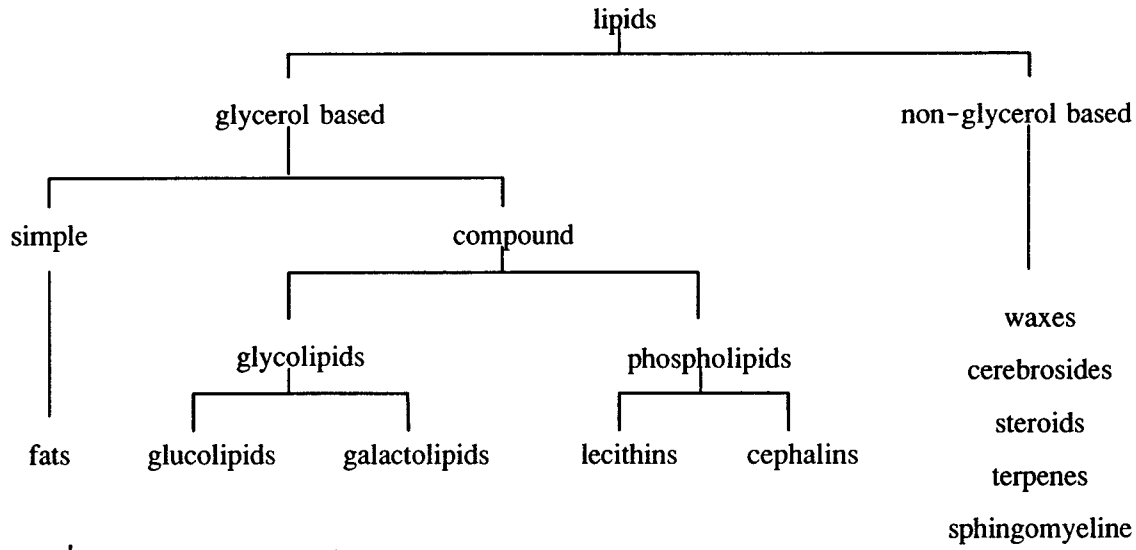
Blaxter and Czerkawaki (1966) พบว่ากรดไขมันสายยาวปานกลางสามารถลดการผลิตก๊าซเมธเทนได้ Soliva et al. (2003) ได้ทำการศึกษาผลของสัดส่วนกรดไขมัน C12/C14 ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซเมธเทนในรูเมน และการผลิตก๊าซเมธเทนในระบบ in vitro พบว่าการผลิตก๊าซเมธเทนและจำนวนของโปรโตซัว Archaea จะลดลงเมื่อสัดส่วนของ C12:0 เพิ่มขึ้น ซึ่งที่สัดส่วน 2:1 ทำให้การผลิตก๊าซเมธเทนลดลงถึง 96% ซึ่งเช่นเดียวกับการมี C12:0 เพียงตัวเดียว ดังนั้น C14:0 เพียงตัวเดียวไม่มีผลต่อการผลิตก๊าซเมธเทน แต่จะมีอิทธิพลเมื่อมี C12 ด้วย สอดคล้องกับ Soliva et al. (2004) ซึ่งได้ทำการทดลองในระบบ in vitro พบว่ากรดไขมัน C12:0 (30 mg) ทำให้การผลิตก๊าซเมธเทนลดลง 80% ขณะที่กรดไขมัน C14:0 และ C18:0 ไม่สามารถลดก๊าซเมธเทนได้ แต่ก็พบว่าการใช้ C14:0 ร่วมกับ C12:0 สามารถลดการผลิตก๊าซเมธเทนและจำนวนโปรโตซัวได้ด้วยเช่นเดียวกัน

Dohme et al. (1999, 2001) ได้ทำการศึกษาผลของชนิดของกรดไขมันต่อการผลิตก๊าซเมธเทน พบว่ากรดไขมัน C12:0, C14:0 และ C18:2 ทำให้การขับก๊าซและการผลิตก๊าซเมธเทนลดลง ขณะที่กรดไขมัน C8:0, C10:0, C16:0 และ C18:0 ไม่ปรากฏผล และกรดไขมัน C12:0, C18:2, C8:0 และ C10:0 มีผลทำให้จำนวน ciliate protozoa ลดลง สอดคล้องกับ Machmuller et al. (1998, 2000, 2003) ซึ่งพบว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบของน้ำมันมะพร้าวจะมีการขับก๊าซเมธเทนในแกะลดลง

นอกจากนี้ Lovett et al. (2003) ได้ทำการทดลองผลของน้ำมันมะพร้าวต่อการผลิตก๊าซเมธเทนในโคเนื้อ พบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันมะพร้าว 350 กรัม/วัน มีจำนวนโปรโตซัวลดลงโดยไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต นอกจากนี้ยังสามารถลดการขับก๊าซเมธเทน แต่ก็ทำให้การกินได้ลดลง สอดคล้องกับ Giger-reverdin et al. (2003) ซึ่งได้ทำการศึกษาเอกสารวิจัยต่างๆ พบว่าการผลิตก๊าซเมธเทนจะลดลงเมื่อระดับของไขมันในอาหารเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว อย่างไรก็ตามพบว่าอาจส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของเยื่อใย Machmuller et al. (1998) พบว่าเมล็ดทานตะวันทำให้จำนวนโปรโตซัวและการผลิตก๊าซเมธเทนลดลง 40% สอดคล้องกับ Ivan et al. (2001) ซึ่งได้ทำการศึกษาการเสริมน้ำมันเมล็ดทานตะวันในแกะพบว่าการเสริมมีผลทำให้จำนวนโปรโตซัวทั้งหมดลดลงจาก 1,000,000 เซลล์/มิลลิลิตร เป็น 200,000 เซลล์/มิลลิลิตร ภายใน 6 วัน ซึ่งเกี่ยวข้องการเพิ่มขึ้นของ pH อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ อัตราการแลกเนื้อ และน้ำหนักซากไม่แตกต่างกัน

2.5 ลิปิดส์

ลิปิดส์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ ไลปิดส์ที่ประกอบอยู่ในอาหารสัตว์หรือร่างกายสัตว์ส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมัน (fatty acid), glycerol, mono-, di-triglycerides และ phospholipids ลิปิดส์สารมารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภทคือ simple lipids เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอร์หลายชนิด compound lipids เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีกลุ่มของสารต่างๆ เกาะอยู่และต่อกับแอลกอฮอร์ แบ่งออกเป็น phospholipids, และ lipoproteins และ derived lipids คือพวกที่เปลี่ยนแปลงมาจากลิปิดส์ เช่น แอลกอฮอร์ รวมไปถึง sterol และพวก hydrocarbons (ธีรวรรธน์ 2543) อย่างไรก็ตามกรณีที่จำแนกโดยอาศัย glycerol based จะจำแนกได้ดังต่อภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การจำแนกลิปิดส์ (Murray et al., 1990)

2.5.1 ไขมัน

ไขมันในทางเคมีจัดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอร์ที่ชื่อกลีเซอรอล (glycerol) ประกอบด้วยธาตุ C, H และ O หากอยู่ในสภาพค่อนข้างแข็งที่อุณหภูมิห้องเรียกว่า ไขมัน (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 ผิวหนังแตกตกสะเก็ด เกิดแผลเนื้อตายที่รอบๆ คอและบ่า (นภา 2537)

2.5.2 กรดไขมัน

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

กรดไขมันประกอบด้วยสายของคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 2-24 ตัว หรือมากกว่า ปลายข้างหนึ่งต่อด้วยหมู่คาร์บอกซิว (-COOH) สูตรทั่วๆ ไปจึงเขียนเป็น RCOOH โดยที่ R เรียกว่าหมู่อัลคิล (alkyl group) ที่คาร์บอนอะตอมของกรดไขมันอิ่มตัว จะมีไฮโดรเจน 2 อะตอมมาเกาะอยู่ และต่อกันไปเป็นเส้นยาวหรือแตกกิ่งออกไปเรื่อยๆ 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

2.5.3 คุณสมบัติทางกายภาพของไขมันกับการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้าง

ดังที่ทราบกันแล้วว่าไขมันคือเอสเทอร์ของกลีเซอรอลกับกรดไขมันซึ่งการรวมตัวมีหลายรูปแบบ และกรดไขมันมีหลายชนิด ทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว เป็นเหตุให้ไขมันแต่ละชนิดมีคุณสมบัติต่างๆ แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของกรดไขมันที่ประกอบอยู่ ดังนั้นจึงมีการวัดค่าต่างๆ ของไขมันตามธรรมชาติแต่ละชนิดเพื่อหาความแตกต่างให้ชัดเจน ซึ่งมีหลายวิธี และวิธีเหล่านี้สามารถบอกความเก่าใหม่ของไขมันได้ ได้แก่ saponification number, Reichert-Meissel (RM) number, iodine number และ acid value โดยที่ไขมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวน

คาร์บอนอะตอมน้อยซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 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 คือไขมันมีลักษณะข้นขึ้น แข็งขึ้น วิตามิน A, D, E และ K ถูกทำลาย การนำไปใช้ประโยชน์ของโภชนะและพลังงานลดลง การหืนเกิดขึ้นได้ทั้งไขมันในอาหารและไขมันที่อยู่ในร่างกาย (นภา 2537)

2.5.4 เมทธาโบลิซึมของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

เมทาบอลิซึมของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ เมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนและเมทาบอลิซึมที่เนื้อเยื่อของสัตว์ เมทาบอลิซึมของไขมันในกระเพาะรูเมนเป็นบทบาทของจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรีย กระบวนการเมทาบอลิซึมแรกที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมนคือ hydrolysis เป็นกระบวนการที่แบคทีเรียหลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ lipase ทำให้ไขมันในอาหารถูกย่อยจนได้เป็นกรดไขมัน กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะเป็นอันตรายต่อแบคทีเรีย ดังนั้นแบคทีเรียจึงหลั่งเอนไซม์ออกมาเพื่อกำจัดความเป็นพิษนั้น กระบวนการนั้นเรียกว่า biohydrogenation ซึ่งกระบวนการนี้ทำให้ได้กรดไขมันที่อิ่มตัว กรดไขมันที่เกิดขึ้นอาจถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือนำมาสังเคราะห์เป็นไขมันของตัวเอง (lipids biosynthesis) หรือไหลผ่านลงสู่ทางเดินอาหารส่วนถัดไป และไขมันเหล่านั้นอาจถูกย่อยเป็นกรดไขมันสายสั้นลงและ/หรือถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายสัตว์ (Lennarz, 1966)

2.5.5 กระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ไขมันชนิดต่างๆ

2.5.5.1 ไตรกรีเซอไรด์

กระบวนการไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) เป็นที่ทราบกันดีในหลายปีที่ผ่านมา กระบวนการนี้จะทำให้มีความเข้มข้นของกรดไขมันที่สูงในสัตว์ที่ได้รับอาหารข้นเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมีอยู่ 2 ชนิดได้แก่ เอนไซม์ esterase และ lipase ซึ่งคาดว่าน่าจะมีแหล่งมาจากเยื่อหุ้มเซลล์ ทั้งสองเอนไซม์ถูกผลิตในช่วงที่เซลล์จุลินทรีย์อยู่ในช่วง logarithmic phase เอนไซม์ lipase จะเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมัน C 12 หรือมากกว่า โดยความสามารถนี้มีความเกี่ยวข้องกับน้ำหนักโมเลกุล ในส่วนของ ไดกลีเซอไรด์ (diglycerides) จะ

ถูกไฮโดรไลซ์ได้เร็วกว่าไตรกลีเซอไรด์ แบคทีเรียที่มีส่วนในกระบวนการนี้มากที่สุดคือ *Anaerovibrio lipolytica* ซึ่งพบอยู่ประมาณ 0.5-1.1 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตรของของเหลวในรูเมน อย่างไรก็ตามพบว่าเอนไซม์ lipase ที่ติดมากับพืชสามารถไฮโดรไลซิสได้ดีกว่าเอนไซม์ที่มากจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Jenkins, 1993)

2.5.5.2 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)

2.5.5.3 ฟอสโฟไลปิด

พบว่า 20-30% ของไขมันในใบพืชเป็น phospholipids และพบว่าที่เนื้อเยื่อของพืชมีเอนไซม์ phospholipases อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียในรูเมนบางชนิดสามารถไฮโดรไลซ์ phosphatidylcholine และ lysophosphatidylcholine ได้ และมีการพบว่า phosphotidylcholine จะถูกไฮโดรไลซ์อย่างรวดเร็วในรูเมนของแกะที่ถูกกำจัดโปรโตซัว แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถบอกได้ว่าเอนไซม์ phospholipase มาจากพืชหรือแบคทีเรีย ต่อมาได้มีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ โดยเอนไซม์นี้จะมีกิจกรรมสูงสุดในช่วงที่เซลล์แบคทีเรียอยู่ในช่วง exponential phase เมื่อ phospholipids ถูกไฮโดรไลซ์จะได้เป็น lysophospholipids และกรดไขมัน ซึ่ง lysophospholipids จะถูกสลายอย่างรวดเร็วโดย lysophospholipase เป็น glycerylphosphorylated และเป็นกรดไขมันตามลำดับ (Jenkins, 1993)

2.5.6 กระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น (biohydrogenation) กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว

ในช่วงแรกได้มีคาดการณ์ว่ากระบวนการ hydrogenation น่าจะเกิดขึ้นที่เนื้อเยื่อ แต่ต่อมาพบว่ากระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และนอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการนี้ยังสามารถเกิดได้ที่ ilium, caecum และ colon ซึ่งทั้งแบคทีเรียและโปรโตซัวมีส่วนในกระบวนการนี้ อย่างไรก็ตามพบว่าหากไม่มีโปรโตซัวจะทำให้กระบวนการนี้ลดลงเพียงเล็กน้อย นั่นแสดงว่าแบคทีเรียน่าจะมีส่วนมากที่สุด (Bauman et al., 2003)

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกระบวนการ hydrogenation กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวได้แสดงดังตารางที่ 3 Kemp et al. (1975) ได้ทำการจำแนกแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องออกเป็น 5 สายพันธุ์ และประมาณว่าแต่ละสายพันธุ์มีประมาณ 10^{7-8} cell / ml ขณะที่ Verhulst et al. (1985) จำแนกออกเป็น 7 สายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่าสายพันธุ์ *Butyrivibrio fibrisolvens* เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทมากที่สุด Hazlewood et al. (1976) ได้จำแนกแบคทีเรียเหล่านี้ออกเป็น 3 กลุ่มตาม

ลักษณะของผลผลิตสุดท้ายที่ผลิตได้ Erwin and Bloch (1963) พบว่าโปรโตซัวมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrogenation อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์หลักที่มีบทบาทในกระบวนการ biohydrogenation ส่วนโปรโตซัวมีบทบาทเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Kepler et al., 1966)

ตารางที่ 2.5 แบคทีเรียในกระเพาะรูเมนที่มีบทบาทในกระบวนการไฮโดรจิเนชั่น

Group1	Bacterium	References
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)

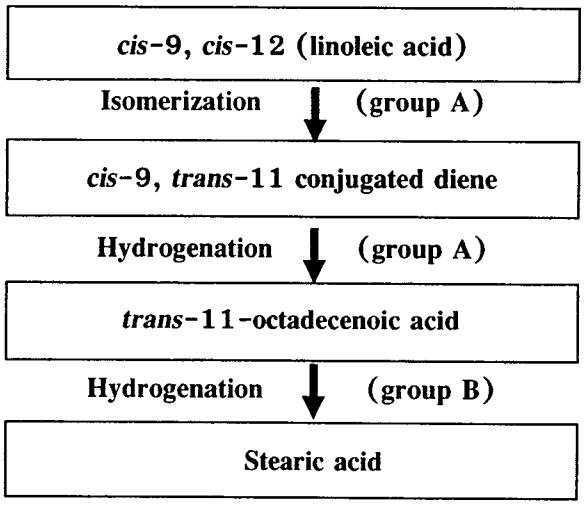
Hazlewood et al. (1976) พบว่ากระบวน biohydrogenation กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจำเป็นที่จะต้องอาศัยหมู่คาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) กระบวนการ biohydrogenation กรดไขมัน linoleic acid ได้แสดงในภาพที่ 2.3 กระบวนการเริ่มต้นจากกระบวนการ isomerization กรดไขมัน linoleic acid ได้เป็น conjugated cis-9, trans-11 (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 (ตารางที่ 3) 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)

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 ที่ทำหน้าที่รีดิวซ์กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวได้เป็นกดไขมันที่อิ่มตัว (Kepler et al., 1966)



ภาพที่ 2.3 กระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นกรดไขมัน linoleic acid โดยแบคทีเรียกลุ่ม A และ B ตามตารางที่ 3

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

เป็นที่ทราบกันดีว่ากระบวนการ biohydrogenation จะเกิดได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์เมื่อมีชิ้นของอาหาร 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

2.5.7 ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น

มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องการกระบวนการ hydrolysis ก่อนกระบวนการ 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)

2.5.8 การดูดซึมและการใช้ประโยชน์สารประกอบไขมันของจุลินทรีย์

Gutierrez et al. (1960) และ Williams and Coleman (1992) พบว่าโปรโตซัว *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

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

Harfoot et al. (1975) พบว่าแบคทีเรียสามารถดูดซึมกรดไขมันอิ่มตัวได้เป็นอย่างดี แต่จะดูดซึมได้ลดลงหากเป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว การดูดซึมไขมันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 1 นาที อย่างไรก็ตามพบว่า triglyceride ถูกดูดซึมได้ต่ำ

2.5.9 กระบวนการสังเคราะห์ไขมันของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

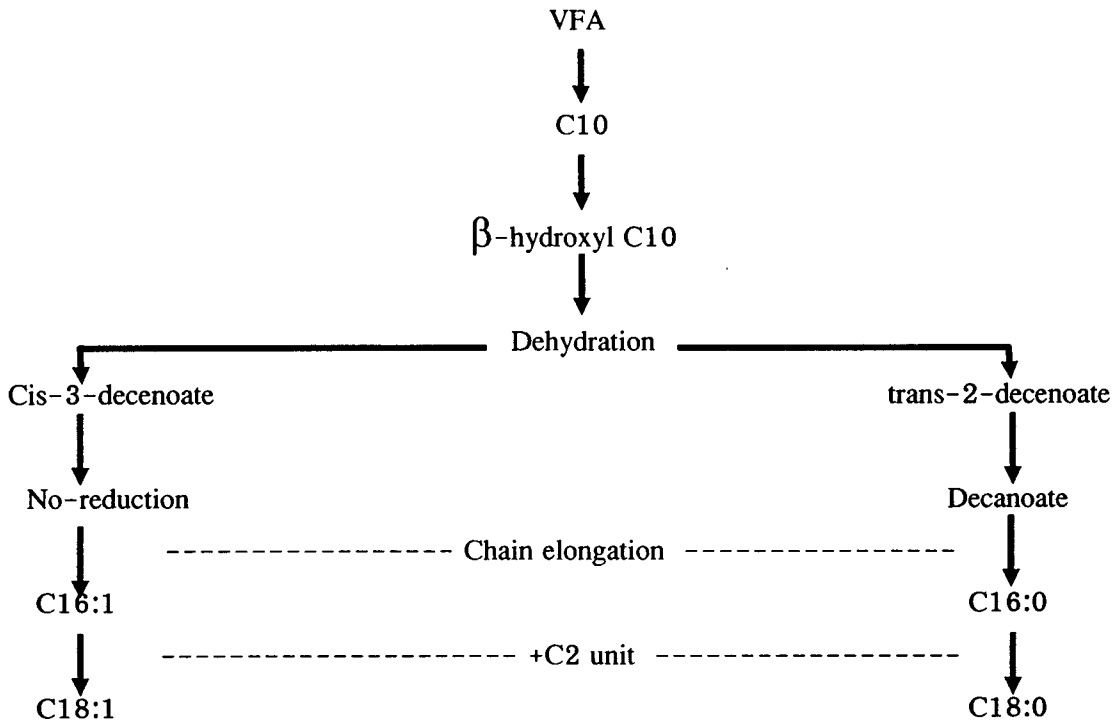
2.5.9.1 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

แบคทีเรียโดยเฉพาะกลุ่ม cellulolytic bacteria มีความต้องการทั้งกรดไขมันที่เป็นสายตรงและมีกิ่งก้านเพื่อใช้ในการดำรงชีพ และเป็นที่ทราบกันดีว่าไขมันที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยกระบวนการ de novo synthesis และได้รับโดยตรงจากอาหาร Knight et al. (1979) พบว่ากรดอะซิติกจะถูกใช้ในการสังเคราะห์เป็นกรดปาล์มมิติกเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรอง กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันที่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแสดงดังภาพที่ 2 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)

2.5.9.2 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



ภาพที่ 2.4 การสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated and monounsaturated fatty acids) ของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน

ที่มา: Song (2000) ดัดแปลงจาก Jenkins (1993)

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

ในส่วนของเมทาบอลิซึมของไขมันในเนื้อเยื่อของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะคล้ายกับสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้องกล่าวคือ กรดไขมันสายยาวจะถูกนำไปใช้ในการให้ผลผลิตเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากพลังงานต่างๆ ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะได้รับจากกลูโคสที่สังเคราะห์จากกรดไขมันที่ระเหยได้เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นกรดไขมันสายยาวจึงถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานน้อยมาก กรดไขมันสายยาวจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นไขมันเก็บไว้ในกล้ามเนื้อ หรือสังเคราะห์เป็นไขมันในน้ำนม ซึ่ง

ไขมันในน้ำนมนั้นมีส่วนประกอบเป็นกรดไขมัน (fatty acids) ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ในเนื้อเยื่อไขมันและอาหาร (เมธา 2533)

2.5.10 ผลของไลปิดต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน

การเสริมไขมันลงในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถรบกวนกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน กล่าวคือลดความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะแหล่งพลังงานอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ไขมัน Jenkins and Palmquist (1984) พบว่าการเพิ่มไขมัน 10% มีผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างในกระเพาะรูเมนลดลงมากกว่า 50% ส่งผลให้การผลิตก๊าซเมธเทน ไฮโดรเจน และกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย รวมทั้งสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิออนิกลดลง นอกจากนี้ยังส่งผลให้การขับออกของเยื่อใยทางมูลเพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามผลของไขมันต่อความสามารถในการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างมีน้อยกว่าผลต่อคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง

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

2.5.11 คุณสมบัติของไลปิดและความเป็นอันตรายต่อกระบวนการหมัก

ปัจจุบันมีความสนใจที่จะนำไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยมีการทดสอบผลกระทบของไขมันจากแหล่งต่าง ๆ 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 ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความรุนแรงของผลกระทบมากกว่ากรดไขมันอื่น ๆ ซึ่งความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกระเพาะรูเมนนี้ขึ้นอยู่กับทั้งจำนวนและชนิดของไขมันในอาหาร อีกทั้งอัตรากระบวนการไฮโดรไลซิส กระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่น และการฟอร์มตัวของเกลือแคลเซียม กล่าวคือความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะต่ำลงเมื่อ เกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นน้อยลง ขณะที่การเกิดเกลือของแคลเซียมจะทำให้ความเข้มข้นลดลง โดยปกติอัตราการเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสเพียงพอสำหรับเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันอิสระในระยะเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นจะเปลี่ยนแปลงตามอายุของอาหารหยาบ องค์ประกอบไนโตรเจน และขนาดของชิ้นอาหารในกระเพาะรูเมน ในการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าอัตราการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่นจะเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารตั้งต้น อายุและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ และการมีปัจจัยร่วมที่จำเป็นในของเหลวจากกระเพาะรูเมน ส่วนอัตราการเกิดเกลือคาร์บอกซิลจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายได้ของแคลเซียมและไขมัน ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมน กรดไขมันอิ่มตัว และความยาวของสายกรดไขมัน นอกจากนี้องค์ประกอบของอาหารพื้นฐานก็มีส่วนต่ออิทธิพลของไขมันต่อกระบวนการหมัก พบว่าไขมันจะมีอิทธิพลลดลงเมื่อมีอาหารหยาบแห้งในระดับสูง (Jenkins, 1993; Song, 2000; Bauman et al., 2003)

2.5.12 กลไกการยับยั้งของไลปิดต่อกระบวนการหมัก

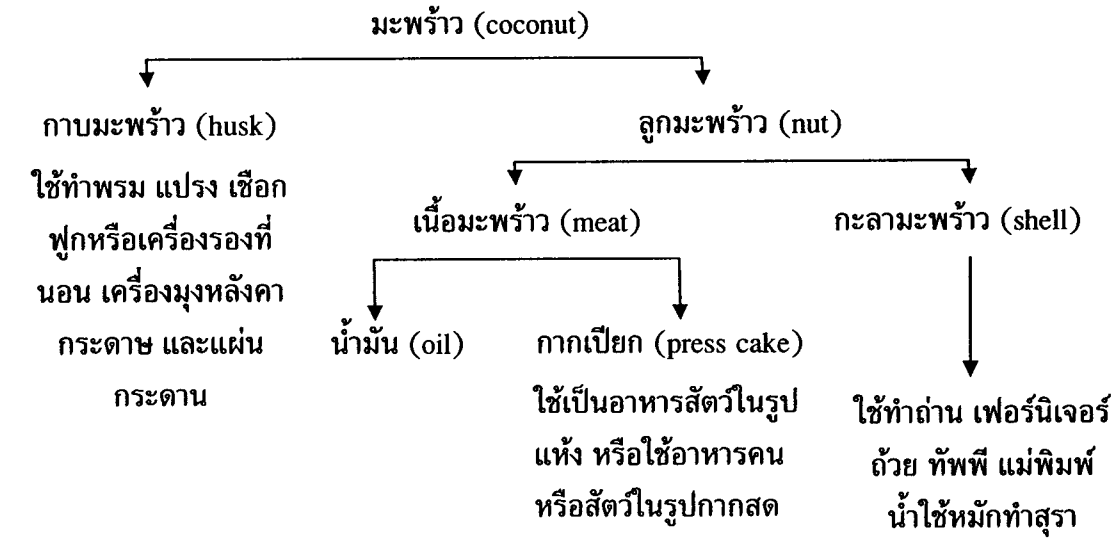
ได้มีการเสนอหลายกลไกเพื่ออธิบายผลของไขมันต่อกระบวนการหมัก ทฤษฎีการเคลือบ (coating) และการเป็นสารต้านจุลินทรีย์โดยตรงของไขมันได้รับความสนใจมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีทฤษฎีการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและการลดแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้สำหรับจุลินทรีย์ (Jenkins, 1993)

Henderson (1973) ได้ทำการเติมกรดไขมันลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียจากกระเพาะรูเมนพบว่าการเจริญเติบโตและเมทาบอลิซมของแบคทีเรียถูกยับยั้ง 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 มีผลทำให้หน้าที่ทางชีวะวิทยาของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนไปหลายประการ (Palmquist and Jenkins, 1980)

2.6 น้ำมันมะพร้าว

น้ำมันมะพร้าวเป็นน้ำมันพืชที่เป็นแหล่งของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง โดยมีส่วนประกอบของกรดไขมัน lauric acid (C12:0) 48.83% และ myristic (C14:0) 19.97% ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือ oleic acid และ linoleic acid มีเพียง 6% และ 2% ตามลำดับ (Dohme et al., 1999) อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของกรดไขมันเหล่านี้อาจผันแปรได้ตามคุณภาพของน้ำมันมะพร้าว เช่น น้ำมะพร้าวดิบ น้ำมันมะพร้าวสกัดทำให้บริสุทธิ์ น้ำมันมะพร้าวผ่านกรรมวิธี และน้ำมันมะพร้าวเติมไฮโดรเจน เป็นต้น ซึ่งปกติน้ำมันมะพร้าวจะใช้ในการประกอบอาหารสำหรับมนุษย์ โดยมีราคาอยู่ที่ประมาณ 28-32 บาท/ลิตร ในกระบวนการผลิตเนื้อมะพร้าวสดสามารถให้ผลผลิตน้ำมันอยู่ในช่วง 55-62 เปอร์เซ็นต์ กระบวนการแปรรูปมะพร้าวแสดงดังภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 กระบวนการแปรรูปมะพร้าว

ประเทศไทยถือเป็นประเทศที่ผลิตและส่งออกน้ำมันมะพร้าวรายใหญ่ของโลก โดยในปี พ.ศ. 2548 เกษตรกรมีรายได้จากอาชีพปลูกมะพร้าวเกือบ 6 พันล้านบาท (ตารางที่ 2.6) และในปี พ.ศ. 2546 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกน้ำมันมะพร้าวกว่า 43 ล้านบาท (ตารางที่ 2.7) อย่างไรก็ตามก็มีการนำเข้าจากประเทศเพื่อนบ้านบ้างเล็กน้อย สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

ตารางที่ 2.6 มะพร้าว: เนื้อที่ให้ผล ผลผลิต ผลผลิตต่อไร่ ราคาและมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ ปี พ.ศ. 2539-2548

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (พันไร่)	ผลผลิต (พันตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)	ราคาที่เกษตรกรขายได้ (บาท/ตัน)	มูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ (ล้านบาท)
2539	2,021	2,291	1,134	3,368	7,715
2540	1,981	2,064	1,042	2,592	5,351
2541	1,961	2,005	1,023	4,152	8,325
2542	1,965	2,110	1,074	5,640	11,900
2543	2,034	1,400	688	2,008	2,810
2544	2,037	1,396	685	1,984	2,770
2545	1,711	1,877	1,097	2,608	4,896
2546	1,627	1,957	1,202	2,696	5,276
2547	1,590	1,848	1,162	3,456	6,386
2548	1,471	1,674	1,138	3,512	5,879

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

ตารางที่ 2.7 ปริมาณและมูลค่าน้ำมันมะพร้าวนำเข้า-ส่งออก พ.ศ. 2545-2546

รายการสินค้า	2545		2546	
	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (พันบาท)	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (พันบาท)
น้ำมันมะพร้าวนำเข้า	78	7,225	90	3,733
ดิบ, สกัด ทำให้บริสุทธิ์	5	706	13	1,243
ผ่านกรรมวิธี	67	5,517	77	2,490
เติมไฮโดรเจน	6	1,002	-	-
น้ำมันมะพร้าวส่งออก	4,583	51,202	3,647	43,280
ดิบ, สกัด ทำให้บริสุทธิ์	811	9,926	193	2,264
ผ่านกรรมวิธี	180	3,574	1,011	14,738
เติมไฮโดรเจน	3,592	37,702	2,443	26,278

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2548)

2.7 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

40-45 บาท/ลิตร เมล็ดทานตะวันให้ผลผลิตน้ำมันประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม กากเมล็ดทานตะวันสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดี

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่ผลิตเมล็ดทานตะวันอันดับที่ 32 ของโลก โดยอันดับที่ 1 และ 2 คือ รัสเซีย และยูเครนตามลำดับ (ตารางที่ 2.8, ข้อมูลปี พ.ศ. 2549) ทั้งนี้เนื่องจากในประเทศไทยยังมีการเพาะปลูกน้อย ด้วยเหตุนี้ทำให้ต้องนำเข้าน้ำมันเมล็ดทานตะวันจากต่างประเทศเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการ โดยในปี พ.ศ. 2548 ประเทศไทยนำเข้าน้ำมันเมล็ดทานตะวันเป็นมูลค่ามากกว่า 600 ล้านบาท (ตารางที่ 2.10) ซึ่งใกล้เคียงมูลค่าการผลิตเมล็ดทานตะวันในประเทศปี พ.ศ. 2548 ซึ่งมีมูลค่าประมาณ 500 ล้านบาทเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.8 ทานตะวัน: เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ของประเทศผู้ผลิตที่สำคัญ ปี พ.ศ. 2546-2548

ประเทศ	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (พันไร่)			ผลผลิต (พันตัน)			ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)		
	2546	2547	2548	2546	2547	2548	2546	2547	2548
รวมทั้งโลก	146,518	133,627	145,819	27,717	26,382	30,597	189	197	210
รัสเซีย	30,518	29,430	33,250	4,871	4,801	6,280	160	163	189
ยูเครน	23,813	21,419	22,925	4,254	3,050	4,400	179	142	192
อาร์เจนตินา	14,525	11,388	11,850	3,714	3,100	3,652	256	272	308
จีน	7,331	6,125	6,781	1,743	1,750	1,850	238	286	273
อินเดีย	12,625	13,125	18,750	1,086	1,300	1,850	86	99	99
สหรัฐอเมริกา	5,557	4,328	6,528	1,209	930	1,756	218	215	269
ฝรั่งเศส	4,337	3,847	4,025	1,505	1,467	1,450	347	381	360
ฮังการี	3,195	2,994	3,262	992	1,198	1,270	310	400	389
โรมาเนีย	7,208	6,083	5,938	1,506	1,558	1,257	209	256	212
ตุรกี	3,406	3,438	3,000	88	900	950	235	262	317
ไทย[1]	286	161	133	32	49	51	113	305	385
อื่นๆ	33,717	31,290	29,377	6,005	6,280	5,832	178	201	199

[1] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ประเทศไทยลำดับที่ 33 ของโลก

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

ตารางที่ 2.9 ทานตะวัน: เนื้อที่ ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ราคา และมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ ปี พ.ศ. 2543-2548

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (พันไร่)	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (พันไร่)	ผลผลิต (พันตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)	ราคาที่เกษตรกรขายได้ (บาท/กิโลกรัม)	มูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ (ล้านบาท)
2543	444	428	51	118	6.37	322
2544	232	229	32	142	9.57	310
2545	254	237	29	123	10.60	306
2546	291	286	32	113	9.89	320
2547	321	299	49	164	10.28	505
2548	321	133	51	385	11.79	602

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

ตารางที่ 2.10 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าน้ำมันเมล็ดทานตะวันรายเดือน

เดือน	2544		2545		2546		2547		2548	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
ม.ค.	41	1.2	1,046	31.8	1,285	43.8	476	14.5	484	16.4
ก.พ.	940	28.1	965	32.4	841	27.6	382	12.1	270	9.64
มี.ค.	1,177	36.3	1,259	41.6	764	25.8	650	21.1	4,220	124.8
เม.ย.	701	23.9	797	26.6	1,253	41.1	611	20.9	668	22.1
พ.ค.	603	18.8	725	23.4	694	23.5	722	24.0	3,397	101.5
มิ.ย.	3,137	69.1	992	31.6	569	19.6	548	21.7	1,473	50.7
ก.ค.	672	18.7	836	26.0	1,173	37.0	1,004	35.2	1,185	42.4
ส.ค.	727	20.1	782	24.0	653	22.7	1,026	35.2	1,191	44.0
ก.ย.	600	17.2	2,342	61.3	798	27.0	683	23.0	3,296	106.5
ต.ค.	507	14.9	2,687	85.7	4,229	101.5	283	11.9	300	10.5
พ.ย.	1,193	36.0	637	21.6	1,010	28.6	598	20.9	1,008	360.0
ธ.ค.	1,106	33.7	622	21.2	1,088	30.6	380	13.7	1,228	42.9
รวม	11,404	318.1	13,690	427.0	14,357	428.8	7,363	254.2	18,720	607.6

หมายเหตุ: ปริมาณ (ตัน), มูลค่า (ล้านบาท)

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

2.8 ฟางข้าว

ฟางข้าวนับเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นผลพลอยได้ทางการเกษตรที่ใช้มากในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อย่างไรก็ตามการย่อยได้ของฟางข้าวค่อนข้างต่ำ คือประมาณ 45.6% (Wanapat et al., 1995) อย่างไรก็ตามการหมักฟางข้าวด้วยยูเรีย 5% สามารถเพิ่มคุณภาพของฟางข้าวได้ โดยพบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนหยาบจาก 2% เป็น 8% เพิ่มการกินได้ เพิ่มการย่อยได้ ปรับปรุงการย่อยได้ของ NDF เพิ่มผลผลิตจากการหมัก ลด retention time และเพิ่มสมรรถภาพการผลิตในที่สุด (Wanapat, 1983, 1999; Wanapat et al., 1985, 1986, Wanapat and Wachirapakorn, 1990; Hart and Wanapat, 1992) และที่สำคัญที่สุดคือ ความเป็นกรด-ด่างของโคที่ได้รับฟางข้าวหรือฟางข้าวหมักยูเรียคือ 6.4-7.0 และยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) (Ngarmsang, et al., 2000) ซึ่งผลดังกล่าวเป็นผลดีต่อจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียในกลุ่ม cellulolytic bacteria อย่างไรก็ตามฟางข้าวจัดเป็นอาหารหยาบคุณภาพต่ำ ซึ่งอาจส่งผลให้มีการผลิตก๊าซเมธเทนมากกว่าอาหารหยาบที่มีคุณภาพสูง

ดังนั้นการศึกษานี้จึงกรอบแนวคิดคือ การนำใช้น้ำมันมะพร้าวในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อลดประชากรโปรโตซัวในกระเพาะรูเมน ทั้งนี้เพื่อลดการผลิตก๊าซเมธเทนจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับโปรโตซัว ส่วนการนำใช้น้ำมันเมล็ดทานตะวันมีวัตถุประสงค์เพื่อลดการผลิตก๊าซเมธเทนเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังเพื่อเพิ่มการผลิตกรดไขมันคอนจูเกต-ลิโนเลอิค (CLA) ในสัตว์เคี้ยวเอื้องอีกด้วย โดยหวังว่าการนำใช้น้ำมันเหล่านี้จะไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะและประชากรของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ โดยทำการศึกษาในสัตว์ที่ได้รับฟางข้าวหมักยูเรีย 5% เป็นอาหารหยาบ