วิทยานิพนธ์

การใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

UTILIZATION OF MIXED ENZYME SUPPLEMENT IN RUMINANT FEED

นางสาวนิภาพร กาญจนา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ | สัตวบาล

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Utilization of Mixed Enzyme Supplement in Ruminant Feed

นามผู้วิจัย นางสาวนิภาพร กาญจนา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอชาติ บุญเอก, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์สมเกียรติ ประสานพานิช, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์สมิต ยิ้มมงคล, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 2 **เดือน** มิถุนายน **พ.ศ.** 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Utilization of Mixed Enzyme Supplement in Ruminant Feed

โดย

นางสาวนิภาพร กาญจนา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)
พ.ศ. 2551

นิภาพร กาญจนา 2551: การใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอชาติ บุญเอก, Ph.D. 93 หน้า

การศึกษาเพื่อประเมินผลของเอนไซม์รวมเสริมในอาหารผสมเสร็จ (TMR) ต่อการย่อยได้ในแกะและการให้ผลผลิตของโคขุน การทดลองที่ 1 การทดสอบการย่อยได้โดยใช้แกะเพศผู้จำนวน 12 ตัว สุ่มแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 4 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยทรีทเมนต์ CTL เป็นทรีทเมนต์ไม่เสริมเอนไซม์ ทรีทเมนต์ 50NZ มีการเสริมเอนไซม์รวมที่มี cellulase เป็นหลักที่ระดับ 50 กรัม/100 กก.อาหาร และทรีทเมนต์ 50CF มีการเสริมเอนไซม์รวมที่มีเอนไซม์รวมหลายชนิดในระดับ 50 กรัม/100 กก.อาหาร พบว่ากลุ่มทดลอง 50CF มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูงสุด ($P < 0.05$) ตามด้วยกลุ่ม 50NZ และ CTL โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 74.52, 70.20 และ 59.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเสริมเอนไซม์ทำให้การย่อยได้ของวัตถุแห้ง, โปรตีน, อินทรียวัตถุ และลิกโนเซลลูโลส ภายในทรีทเมนต์ที่ได้รับการเสริมเอนไซม์มีค่าการย่อยได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) และการย่อยได้ของ NDF ในกลุ่มที่เสริมเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P = 0.07$) ปริมาณการกินได้ N ของแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.07 กรัม/ตัว/วัน ปริมาณการสะสม N ในร่างกาย ทรีทเมนต์ 50CF มีตัวเลขสูงกว่า ($P = 0.23$) ทรีทเมนต์อื่นๆ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.47, 8.87, และ 11.42 กรัม/ตัว/วัน ในทรีทเมนต์ CTL, 50NZ, และ 50CF ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มต่อวันและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้นในแกะกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์และดีที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสูตรอาหาร 50CF อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดลองที่ 2 ทำการทดลองในโคเนื้อขุน โดยใช้โคขุนเพศผู้จำนวน 25 ตัว สุ่มแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยทรีทเมนต์ CTL เป็นทรีทเมนต์ที่ไม่เสริมเอนไซม์ ทรีทเมนต์ที่ 25NZ และ 50NZ เสริมเอนไซม์รวมที่มี cellulase เป็นหลักที่ระดับ 25 และ 50 กรัม/100 กก. อาหาร ตามลำดับ ทรีทเมนต์ที่ 25CF และ 50CF มีการเสริมเอนไซม์รวมที่มีเอนไซม์หลายชนิดในระดับ 25 และ 50 กรัม/100 กก. อาหาร ตามลำดับ พบว่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะรูเมน และค่ากลูโคสในเลือด มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนที่ 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหารในกลุ่ม 50CF, 25CF และ 50NZ มีปริมาณสูงกว่าและใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับกลุ่ม 25NZ และ CTL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหาร ของกลุ่ม 50CF มีค่าสูงสุด รองลงมามีค่าใกล้เคียงกันคือ 25CF, 50NZ, และ 25NZ และต่ำสุดในกลุ่ม CTL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โคขุนในกลุ่ม 50CF มีแนวโน้มของการให้ผลผลิตและเปอร์เซ็นต์กำไรดีกว่าโคขุนกลุ่มอื่นๆ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

23 / พ.ค. / 51

Nipaporn Kanjana 2008: Utilization of Mixed Enzyme Supplement in Ruminant Feed. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technogy), Major Fied: Animal Nutrition and Feed Technogy, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Assistant Professor: Lerchat Boonek, Ph.D.
93 pages.

Two experiments were carried out to evaluate the efficacy of mixed enzyme in total mixed ration on lamb digestibility and performance of fattening beef. Eperiment 1. Assess to digestibility. Sixteen lambs were randomly allocated to 3 experiment groups in completely randomized design trial. Experimental treatments were: CTL (No enzyme), 50NZ (Mixed enzyme with high cellulase at 50 g/100 kg. feed) and 50CF (Mixed enzyme at 50 g/100 kg.). The results showed that exogenous enzyme increased ($P<0.001$) dry matter, organic matter, crude protein and ADF digestibility of treated lamb compared to that of control. A similar trend ($P=0.07$) was observed for the NDF digestibility. The digestibility of organic matter and ADF in creased ($P<0.05$) in enzyme treated lamb compared to control. The highest ($P<0.05$) dry matter digestibility was obtained in lambs fed high level of mixed enzyme (50CF) followed by those of 50NZ and CTL, respectively (mean values were 74.52, 70.20 and 59.11%, respectively). The N intake was similar among treatments averaging 21.07 g/head/day. The 50CF treated lambs tended ($P=0.23$) to retain more nitrogen (g/head/day) in their body (mean value are 8.47, 8.87 and 11.42 for CTL, 50NZ and 50CF, respectively) Average daily gain was numerically highest for the group of 50CF with high dose. Feed efficiency or feed conversion ratio was numerically improve ($P>0.05$) for enzyme treated groups.

Eperiment 2. 25 fattening beefs were divided into 5 groups in completely randomized design trial. Experimental treatments were: CTL (No enzyme), 25NZ and 50NZ (Mixed enzyme with high cellulase at 25 and 50 g/100 kg. feed respectively), 25CF and 50CF (Mixed enzyme at 25 and 50 g/100 kg. feed respectively). No differences were observed in rumen pH, votatile fatty acid and blood glucose. At 2 and 4 hour after feeding the ammonia nitrogen in rumen was higher ($P<0.05$) for 50CF, 25CF and 50NZ group than values of 25NZ and CTL. At 4 hour after feeding the blood urea was highest ($P<0.05$) for 50CF followed by 25CF, 50NZ, and 25NZ while the lowest was of CTL group. Experimental beefs in 50CF group showed tendency of higher production performance and benefits than other group but without significant differences ($P>0.05$)

N. Kanjana — Student's signature

L. Boonek — Thesis Advisor's signature

23 / 5 / 2008

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	32
อุปกรณ์	32
วิธีการ	37
ผลและวิจารณ์	45
สรุปและข้อเสนอแนะ	72
สรุป	72
ข้อเสนอแนะ	73
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	74
ภาคผนวก	89

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เอนไซม์ที่นิยมใช้เป็นสารเสริมสำหรับสัตว์	8
2	เอนไซม์หลักของการย่อยผนังเซลล์พืชส่วนต่างๆในรูเมน	10
3	ผลของ *Aspergillus foetidus* และ Cellulase AC ต่อจำนวนแบคทีเรียจากการจำลองสภาวะภายในกระเพาะรูเมน	20
4	แสดงผลของการใช้เอ็นไซม์ xylanase ใส่ในอาหารข้นสำหรับโคเนื้อขุนที่ใช้ข้าวบาร์เลย์เป็นอาหารพื้นฐาน และเสริมอาหารหยาบที่เป็นบาร์เลย์หมัก	27
5	ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งและองค์ประกอบของน้ำนมที่มาจากการให้กินอาหารทดลองที่มีการเสริมและไม่เสริมเอ็นไซม์ในอาหาร	29
6	แสดงปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมจากการเสริมเอนไซม์ 3 วิธี	30
7	องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารTMR และองประกอบทางเคมีของสูตรอาหาร	35
8	สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง) และไนโตรเจน เมทาบอลิซึมในแกะที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 ทรีทเมนต์	46
9	ประสิทธิภาพการผลิตในแกะที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 ทรีทเมนต์	51
10	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด– ด่างในกระเพาะรูเมนหลังกินอาหาร 5 สูตร ที่เวลาต่างกัน	53
11	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนีย–ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนของโคเนื้อขุนหลังกินอาหาร 5 สูตรที่เวลาต่างกัน (มิลลิกรัม/ลิตร)	56
12	ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดอะซิติคภายในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)	57
13	ค่าเฉลี่ยปริมาณโพรพิโอนิคภายในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)	58
14	ค่าเฉลี่ยปริมาณบิวทิริคภายในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)	59
15	ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด(มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)ของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลอง 5 สูตรที่เวลาต่างกัน	62
16	ค่ากลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลอง 5 สูตรที่เวลาต่างกัน	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	น้ำหนัก การกินได้ และประสิทธิภาพการผลิตของโคเนื้อขุน	68
18	ผลของการเสริมเอนไซม์ในสูตรอาหาร TMR ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ	71

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเกิดเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตออกมา	5
2	การทำงานของเอนไซม์เสริมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	16

การใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Utilization of Mixed Enzyme Supplement in Ruminant Feed

คำนำ

เอนไซม์เสริมจัดเป็นสารเสริม (feed additive) ที่ปัจจุบันนิยมใช้กันในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว วัตถุประสงค์ของการใช้เอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการย่อยอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และแป้ง ซึ่งเอนไซม์ทำหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยอาหารเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่ทำต่อเนื่องกันอย่างเป็นลำดับและเป็นระเบียบ เพื่อสลายโมเลกุลของสารอาหารให้ได้สารอาหารโมเลกุลขนาดเล็ก และมีการปล่อยพลังงานจากสารอาหารเหล่านั้นควบคู่ไปกับการนำพลังงานที่ได้ไปสร้างสารพลังงาน พร้อมกับสังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์เพื่อการเจริญในขั้นตอนต่อไปของเซลล์มีชีวิต (อุทัย, 2529) เอนไซม์ที่ผลิตเพื่อใช้เสริมลงในอาหารสัตว์เพื่อต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้สูงขึ้น สามารถผลิตได้โดยการสกัดจากแบคทีเรียหรือเชื้อรา เอนไซม์เสริมที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์ที่เป็นกลุ่มของเอนไซม์สำหรับย่อยสารอาหารหลัก ได้แก่ อะไมเลส (amylase) โปรติเอส (protease) และไลเปส (lipase) นอกจากนี้มีกลุ่มเอนไซม์เสริมที่ทำหน้าที่ย่อยสาร NSP (non – starch polysaccharide) เช่น เซลลูเลส (cellulase) เบต้า-กลูคาเนส (β-glucanase) เพคติเนส (pectinase) ไซแลนเนส (xylanase) และ เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase)

จากการรายงานของกรมปศุสัตว์ (2548) สถิติปศุสัตว์ของประเทศไทยปี 2539 – 2548 พบว่าการทำปศุสัตว์ที่เกี่ยวกับการผลิตโคเนื้อมีแนวโน้มที่จะขยายตัวมากขึ้นโดยที่ในปี 2547 มีปริมาณโคเนื้อทั้งหมด 6,668,332 ตัว และในปี 2548 มีปริมาณโคเนื้อทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 8,275,108 ตัว แนวโน้มการผลิตโคที่มากขึ้นนี้แสดงถึงความต้องการอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์จะต้องมากขึ้นตามไปด้วย ในขณะที่พื้นที่ในการปลูกพืชอาหารสัตว์มีอยู่อย่างจำกัด และวัตถุดิบที่นำมาประกอบสูตรอาหารข้น หรืออาหารผสมเสร็จ (TMR, total mixed ration) ก็มีราคาแพงขึ้นเนื่องจากกระบวนการผลิตและการขนส่งต่างๆ

ดังนั้นเพื่อให้สัตว์สามารถนำสารโภชนะที่มีอยู่ในวัตถุดิบอาหารไปใช้ประโยชน์ในการเจริญ เติบโตและการขุนให้ได้มากที่สุด วัตถุดิบอาหารจะต้องได้รับการย่อยได้อย่างสมบูรณ์จนอาหารมีขนาดโมเลกุลที่ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ ในช่วงที่อาหารอยู่ในระบบทางเดิน

อาหารก่อนถึงลำไส้ใหญ่ เอนไซม์ที่เสริมสามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอาหารหรืออาจจะทำปฏิกิริยาร่วมกับจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน (White *et al.,* 1993) และจากการทำหน้าที่ร่วมกันของเอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารกับเอนไซม์ที่ร่างกายผลิตออกมาเอง การใช้เอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารสัตว์จะช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ที่ร่างกายผลิตขึ้นมามีความสมบูรณ์มากขึ้น (Chesson, 1993) การใช้เอนไซม์เสริมในอาหารจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของอาหาร ร่างกายสัตว์สามารถนำสาร อาหารที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น เป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารและเพิ่มผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาค่าการย่อยได้จากการใช้เอนไซม์รวมต่างชนิดเสริมในอาหารผสมสำเร็จรูป (TMR)

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการผลิตของโคเนื้อขุนจากการใช้เอนไซม์รวมต่างชนิดเสริมในอาหาร TMR

3. เพื่อศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจเมื่อใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารผสมสำเร็จรูปสำหรับการขุนโคเนื้อ

การตรวจเอกสาร

เอนไซม์ (enzyme)

ประดิษย์ (2547) กล่าวว่าในปี ค.ศ. 1888 นักเคมีชาวสวีเดนชื่อ อาร์เรเนียส (S. Arrhenius) ได้อธิบายเกี่ยวกับกลไกการทำงานของตัวเร่งสารอนินทรีย์ว่า ตัวเร่งจะเข้ารวมตัวกับสารตั้งต้น ทำให้เข้าสู่การเปลี่ยนสภาพเร็วขึ้น แต่ตัวเร่งปฏิกิริยาจะไม่เปลี่ยนไปโดยถาวรและจะกลับสู่สภาพเดิมหลังการทำปฏิกิริยาสิ้นสุดลงหลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1902 บราว์นได้ตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับการทำงานของเอนไซม์ว่า เอนไซม์จะเข้ารวมตัวกับสับสเตรต (Substrate) ได้เป็น เอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ (ES – complex) แล้วเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ จึงเปลี่ยนแปลงต่อไปโดยอาจจะแยกกลับไปเป็นเอนไซม์และสับสเตรต หรือเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนไปเป็นผลิตผลและเอนไซม์ตัวเดิม ซึ่งสามารถเขียนสมการได้ดังนี้

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons P + E$$

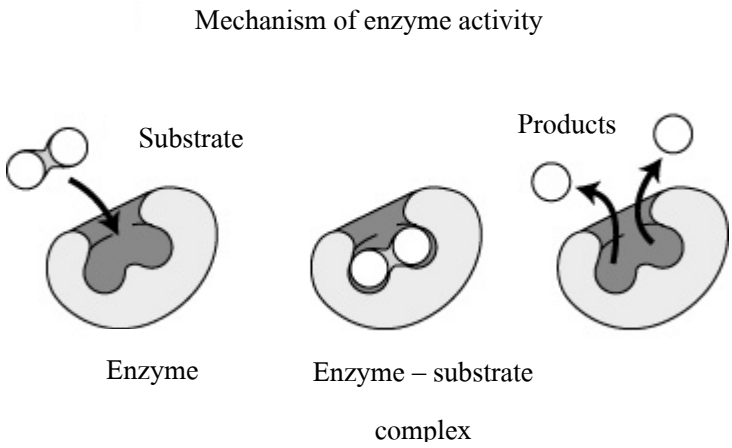
E = เอนไซม์
S = สับสเตรต
P = ผลิตผล

บริเวณเกิดการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์จะมีขนาดใหญ่กว่าสับสเตรตอยู่มากเพราะฉะนั้นเอนไซม์จึงใช้บางส่วนเท่านั้นเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรต ซึ่งพบว่าเอนไซม์จะมีบริเวณเฉพาะสำหรับจับหรือรวมตัวกับสับสเตรตเพื่อเป็นเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์แล้วทำปฏิกิริยากับสับสเตรตเปลี่ยนไปเป็นผลผลิตเรียกบริเวณนี้ว่า บริเวณเร่ง (active site) การที่เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้นได้นั้น เอนไซม์จะเข้ารวมตัวกับสับสเตรตเป็นเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ก่อน มีสมมติฐาน 2 แบบที่อธิบายกลไกการเกิดเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ ดังนี้ แบบแรกคือ บริเวณเร่งของเอนไซม์ถูกกำหนดมาแล้วให้มีรูปร่างลักษณะที่แน่นอน ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงได้สับสเตรตที่มีรูปร่างและขนาดพอเหมาะกับบริเวณเร่งของเอนไซม์เท่านั้น จึงจะสามารถรวมตัวกับเอนไซม์ได้และเกิดปฏิกิริยาได้เป็นผลผลิตออกมา ซึ่งเปรียบ เสมือนแม่กุญแจกับลูกกุญแจ และแบบที่สองคือสับสเตรตเข้า

ใกล้บริเวณเร่งของเอนไซม์ สับสเตรตจะเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เปลี่ยนลักษณะรูปร่างบริเวณเร่งให้มีขนาดและรูปร่างที่พอเหมาะเพื่อให้สามารถรวมกับสับสเตรตได้พอดี (ประสงค์ และคณะ, 2526)

ภาพที่ 1 การเกิดเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตออกมา



ที่มา: Anonymous (n.d.)

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ประสงค์ และคณะ (2526) ได้สรุปปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังนี้

1. ปริมาณสับสเตรต อัตราเร็วของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับปริมาณของสับสเตรต แต่เมื่อเพิ่มสับสเตรตจนถึงระดับหนึ่งแล้วหลังจากนั้นถึงแม้จะเพิ่มสับสเตรตอีกเท่าไรอัตราเร็วการเกิดปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้นอีก หมายความว่าอัตราเร็วจะคงที่ตลอดและไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณของสับสเตรต ซึ่งในช่วงแรกเอนไซม์จะทำงานอย่างเต็มที่ ทั้งนี้เพราะยังมีบริเวณเร่งเหลืออยู่ เมื่อเพิ่มปริมาณสับสเตรตถึงจุดหนึ่งจะทำให้อัตราความเร็วไม่เพิ่มขึ้นอีก ในทางตรงข้ามกันถ้ายังเพิ่มสับสเตรตมากขึ้นอาจทำให้อัตราเร็วลดลงก็ได้ ถ้าผล ผลิตมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

2. ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ ถ้าจำกัดสับสเตรตให้คงที่แต่ให้มีปริมาณที่มากพอที่ จะทำให้เกิดปฏิกิริยาสูงสุดได้ พบว่าอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยาจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณเอนไซม์

3. อุณหภูมิ การเพิ่มอุณหภูมิจากต่ำให้สูงขึ้น พบว่าในระยะแรกๆอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่ม ขึ้นเนื่องจากสับสเตรตกับเอนไซม์รวมกันเป็นเอนไซม์ – สับสเตรตคอมเพลกซ์ได้ดี อุณหภูมิที่

เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีที่สุด เรียกว่า อุณหภูมิเหมาะสุด (optimum temperature) แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นอีกอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้เกิดจากการเสียสภาพตามธรรมชาติ

4. สภาพกรด – เบส เอนไซม์แต่ละชนิดมีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาแตกต่างกันออกไป การเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายทำให้อัตราเร็วของของการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงได้

หน่วยเอนไซม์ (enzyme unit)

หน่วยเอนไซม์หมายถึง จำนวนไมโครโมลของซับสเตรตที่หายไป หรือจำนวนไมโครโมลของผลผลิตที่เกิดขึ้นต่อนาทีในสภาวะที่เหมาะสม หน่วยเอนไซม์นี้ใช้กันแพร่หลายและถือว่าเป็นหน่วยสากล (internation unit, IU) และใช้สำหรับบอกปริมาณทางอ้อม เนื่องจากเอนไซม์มีปริมาณน้อยแยกให้บริสุทธิ์ได้ยาก (ประสงค์ และคณะ, 2526)

จำนวน 1 IU ของเอนไซม์ หมายถึง จำนวนเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนซับสเตรต 1 ไมโครโมลในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะมาตรฐานของเอนไซม์ (ประดิษย์, 2547)

เอนไซม์ตรึงรูป

เอนไซม์ตรึงรูปเป็นการทำให้เอนไซม์อยู่ในขอบเขตที่จัดไว้ อาจมีโมเลกุลใหญ่ขึ้นด้วยการเชื่อมพันธะเคมี หรือไม่มีพันธะเคมี ทำให้ละลายน้ำได้ยากขึ้น หรือไม่ได้เลย มีผลให้เอนไซม์เปลี่ยนจากสถานะตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลวกลายเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งขณะทำปฏิกิริยา (ปราณี, 2547)

ประโยชน์เอนไซม์ตรึงรูป ปราณี (2547) รายงานว่า

1. มีโอกาสเพิ่มแอกติวิตีและเสถียรภาพของเอนไซม์ได้ ถ้าวิธีเหมาะสม
2. ใช้กับระบบเอนไซม์หลายชนิดในลักษณะ *in vitro* ได้
3. ใช้เป็นเครื่องมือวิเคราะห์
4. เอนไซม์ที่นำมาตรึงรูปไม่ต้องทำให้บริสุทธิ์ก็สามารถทำงานได้ดี เหมือนเอนไซม์บริสุทธิ์

วิธีการตรึงรูปเอนไซม์ ปราณี (2547) กล่าวว่าการตรึงรูปเอนไซม์มี 3 วิธี ได้แก่

วิธีการเชื่อมกับตัวพยุง เป็นการเชื่อมพันธะระหว่างเอนไซม์ที่ไม่ละลายน้ำ และอาจจะไม่ละลายในตัวทำละลายบางชนิดด้วย ชนิดตัวพยุง ต้องมีพื้นที่ผิวขนาดอนุภาคที่มีความเสถียรต่อสภาวะที่เกี่ยวข้อง ชนิดเอนไซม์ ได้แก่ บริเวณเร่งของเอนไซม์เป็นกรดอะมิโนชนิดใดตัวยับยั้งแอกทิวิตีเอนไซม์ต้องไม่ใช่สารที่มาจากกรรมวิธีตรึงรูป และถ้าเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะต้องเป็นเอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์ในลักษณะเซลล์ตาย แต่เอนไซม์ยังคงอยู่หรือเซลล์มีชีวิตและเอนไซม์คงอยู่ก็ได้โดยไม่ต้องสกัดเอนไซม์ออกมา

วิธีการเชื่อมขวาง เอนไซม์จะถูกตรึงรูปอยู่ได้โดยการสร้างพันธะเชื่อมขวางระหว่างภายในโมเลกุลของเอนไซม์โดยอาศัยการเชื่อมขวางซึ่งทำหน้าที่เชื่อมขวางระหว่างโมเลกุล 2 โมเลกุลหรือมากกว่า มีผลให้เอนไซม์หลายโมเลกุลเกาะกลุ่มกลายเป็นโมเลกุลกลุ่มใหญ่ละลายน้ำได้น้อยลง

วิธีการห่อหุ้ม เป็นการตรึงรูปแบบรวมเอนไซม์อิสระไว้ในช่องว่างของตาข่ายพอลิเมอร์ หรือห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ด้วยเยื่อบางที่ยอมให้สารซึมผ่านได้บ้าง การห่อหุ้มแบ่งออกเป็นสองประเภทคือ ห่อหุ้มเอนไซม์ในช่องตาข่าย (lattice type) และห่อหุ้มเอนไซม์ในแคปซูลเล็ก (microcapsule type) การตรึงรูปวิธีนี้เอนไซม์ไม่เชื่อมต่อพันธะเคมีใดๆกับสารห่อหุ้ม วิธีนี้จึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายแม้ว่าปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้เกิดสารพอลิเมอร์สำหรับสารห่อหุ้มนั้นต้องการภาวะที่รุนแรงมาก อาจมีผลกระทบต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์จึงต้องหาภาวะที่มีผลกระทบน้อยที่สุด

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์เสริมในอาหาร

เอนไซม์ที่ใช้เสริมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้สูง ขึ้นสามารถผลิตได้โดยการสกัดจากแบคทีเรียหรือเชื้อรา ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่มีขายในปัจจุบันผลิตได้จากแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis, Lactobacillus acidophilus, L. plantarum* และ *Steptococus faecium* ผลิตจากเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ *Aspergillus oryzae, Trichoderma reesei* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Muirhead, 1996) เชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีพ ซึ่งเป็นเชื้อราหลักในการผลิตเอนไซม์ (Morgavi *et al*., 2000) โดยทั่วไปในธรรมชาติเชื้อราทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารประกอบที่เป็น cellulose (Madiraveitia *et al.,* 1985) เชื้อรามีอยู่ทุกหนทุกแห่งในธรรมชาติมีคุณสมบัติที่พิเศษคือ สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และมี

ประสิทธิภาพการทำงานสูงสามารถใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบอาหารได้หลายชนิดและมีความคงทนต่อความเป็นพิษที่เกิดจากสารเคมี (Kubicek *et al.,* 2003)

สารเสริมเอนไซม์ที่ใช้สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องสกัดจากเชื้อราหรือแบคทีเรียที่นำมาผ่านกระบวนการหมักทางเคมีเป็นการทำให้ไม่มีเซลล์ของจุลินทรีย์เหลืออยู่ เนื่องจากได้ถูกแยกออกจากกระบวนการหมักและในขั้นสุดท้ายของกระบวนการผลิตเอนไซม์ เป็นการทำให้มีปริมาณเอนไซม์ที่เข้มข้นต่อหน่วยและมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น (Beauchemin, 2002; Beauchemin *et al.,* 2002) ชนิดของแบคทีเรียและเชื้อราที่นิยมใช้เพื่อผลิตเอนไซม์ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เอนไซม์ที่นิยมใช้เป็นสารเสริมสำหรับสัตว์

ชนิดเอนไซม์	จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์	จุดประสงค์การใช้
Proteases	• Aspergillus spp. • Bacillus spp.	• ใช้กับสัตว์ที่อายุน้อยเพื่อช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนของวัตถุดิบอาหาร
ย่อยเยื่อใย เช่น cellulase, hemicellulase, pectinase	• Aspergillus spp. • Trichoderma longibrachiatum	• ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของเยื่อใย
Amylases	• Aspergillus spp. • Bacillus spp.	• ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของแป้งในวัตถุดิบอาหาร

ที่มา: Treacher and Hunt (1996)

กลุ่มของเอนไซม์ที่นิยมใช้เสริมในอาหารสัตว์

เอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Fibrolytic enzyme)

องค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ได้แก่ cellulose, hemicellulose, lignin และ pectin ซึ่งถือเป็นส่วนของเยื่อใยช่วยสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช ทนต่อการย่อยด้วยกรดด่าง ไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์จากสัตว์กระเพาะเดี่ยว (บุญล้อม, 2546) ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่ใช้สำหรับสัตว์กระเพาะรวมส่วนใหญ่แล้วเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยผนังเซลล์พืช (Fibrolytic enzyme) ได้แก่ cellulase, xylanase และ pectinase (McAllister, 2001)

โดยทั่วไปแล้ว fibrolytic enzyme มีขนาดที่ใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุล 20 – 70 kDa เอนไซม์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่จะต้องตรงกับชนิดของเอนไซม์และระดับ pH ที่เอนไซม์สามารถทำงานได้สูงที่สุด อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะลดลงเมื่อมีปริมาณสารตั้งต้นไม่เพียงพอทำให้เอนไซม์เกิดการอิ่มตัว เอนไซม์จะถูกขัดขวางการทำงานหรือการทำงานของเอนไซม์จะหยุดลงอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 70 – 80 C° หรือถูกยับยั้งโดยสารเคมี หรือถูกขัดขวางการทำงานโดยสารยับยั้งที่อยู่ในธรรมชาติ (Uhlig, 1998)

Xylanase และ cellulase ที่ผลิตจาก *T. longibrachiatum* สามารถทำให้เกิดการแตกตัวของ xylan ได้เร็วที่ pH 5 และอุณหภูมิเท่ากับ 50 C° (Li *et al.,* 2000) xylanase ที่ร่างกายผลิตขึ้นมาเพื่อทำให้ xylan เกิดการแตกตัวมีการทำปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อยกับ carboxymethylcellulose และ dextrin และไม่ทำปฏิกิริยากับ pectin และ starch xylanase ที่ร่างกายผลิตขึ้นมามีความคงตัวที่อุณหภูมิสูงสุดเท่ากับ 45 C° และ pH 5 เสถียรภาพจะลดลงเมื่อ pH 6 (Chen *et al.,* 1995) xylanase ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้ที่ระดับปานกลางและสูงโปรตีนจะมีความคงทนต่อการถูกย่อย (Fontes *et al.,* 1995)

โครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย โดยมีปัจจัยจากสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น ความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการอัดเม็ดที่อุณหภูมิระหว่าง 70 – 90 C° หรือระยะเวลาในการเก็บรักษาเอนไซม์นานเกินไป อาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทำให้ค่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง และไม่เพียงพอเมื่อมีการนำไปใช้ในอาหารสัตว์ แต่สำหรับเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสามารถคงทนต่อความร้อนได้มากกว่าเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา (Mascarell and Ryan, 1997; Bowman *et al*., 2002)

ตารางที่ 2 เอนไซม์หลักของการย่อยผนังเซลล์พืชส่วนต่างๆในรูเมน

Substrate	Linkage for digestion	enzyme for hydrolysis
Cellulose	β -1,4 – glucose linkage	Endo -β-1,4 –glucanase
Cellulose (Reducing end)	β-1,4 – glucose linkage	Exo -β-1,4 – glucanase
Cellobiose	β-1,4 – glucose linkage	β -1,4 – glucosidase
Xylocellulose	β-1,4 – glucose linkage	Xylocellulase
Xylan	β-1,4 – xylose linkage	Endo - β -1,4 – xylanase
Xylobiose	β-1,4 – xylose linkage	β -1,4 – xylosidase
Arabinoxylan	β-1,3 – linkage	β -L Arabinofuranosidase
Acetyl xylan	Acetylester bond	∝ - acetyl xylan esterase
Pectin	∝-1,4 – galacturonide linkages	Pectin lyase
Pectin	Methylester bond	Pectin methyl esterase
Polygalacturan	∝-1,4 – galacturonide linkages	Pectate lyase

ที่มา: Wang and McAllister (2002)

เอนไซม์กลุ่มไกลโคไซด์ไฮโดรเลส

ไกลโคไซด์ไฮโดรเลส หมายถึง กลุ่มไฮโดรเลสที่ย่อยสลายซับสเตรตมีพันธะไกลโคซิล ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส และเพกติน เป็นต้น เอนไซม์ที่ย่อยสลายซับสเตรตเหล่านี้ได้ก็คือ อะไมเลส เซลลูเลส และเพกติเนส ตามลำดับ ซับสเตรตทั่วไปที่มีพันธะไกลโคซิล 1 พันธะ คือ น้ำตาลไดแซกคาร์ไรด์ ซึ่งประกอบด้วยอนุมูลโมโนแซกคาร์ไรด์ 2 ตัว เช่น น้ำตาลมอลโทส น้ำตาลแลกโทส (ปราณี, 2547)

อะไมเลส (Amylases) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายซับสแตรตจำพวกแป้ง ไกลโคเจน ชนิดของอะไมเลส ได้แก่

แอลฟา-อะไมเลส (∝ – amylase) มีชื่อสามัญว่า ไดแอสเทส (diastase) และมีชื่อตามระบบว่า ∝ – 1,4 – glucan 4 – glucanohydrolase พบทั่วไปทั้งอาณาจักรพืชและสัตว์ในคนจะพบในส่วนของน้ำลาย ตับอ่อน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายแป้งเป็นโอลิโกและไดแซ็กคาไรด์

ซึ่งจะถูกย่อยต่อในลำไส้เล็กก่อนที่จะซึมผ่านผนังลำไส้เล็กเป็นเอนไซม์ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 50,000 มี Ca^{+2} 1 ตัว ต่อเอนไซม์ 1 โมเลกุล ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์คือมีความเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของแป้งที่เป็น ∝ – 1,4 ในลักษณะตัดภายในสายพอลิเมอร์ได้ผลผลิตเป็นกลูแคน (glucan) และลิมิตเดกซ์ทริน (limitdextrin) ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2 – 6 หน่วย และยังมีโครงสร้างเป็น ∝ เช่นเดิม (ปราณี, 2547)

บีตา – อะไมเลส (β – amylase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า ∝ – 1,4 – glucanmalto hydrolase ซึ่งพบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรซ์ ถั่วเหลือง และมันเทศ มักจะพบร่วมกับ ∝ – amylase ปฏิกิริยาการย่อยสลายของ β – amylase มีความเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิลของแป้งที่เป็น ∝ – 1,4 ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายเข้าสู่ภายในสายทีละ 1 หน่วย ของมอลโทส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคส และปฏิกิริยาจะหยุดที่พันธะไกลโคซิล ∝ – 1,6 ดังนั้นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้งและไกลโคเจนจะเป็น กลูแคน ลิมิตเดกซ์ทริน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นมอลโทสที่มีรูปร่างต่างไปจากเดิม คือเป็น β – configuration หรือ β – maltose (ปราณี, 2547)

แกมม่า – อะไมเลส หรือ กลูโคอะไมเลส หรือ อะมิโลกลูโคซิแดส (γ – amylase, glucoamylase, amyloglucosidase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า γ – 1, 4 – glucohydrolase เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น รา แบคทีเรีย ลักษณะการย่อยแป้ง สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะ ไม่ว่าจะเป็นพันธะไกลโคซิลที่เป็น ∝ – 1, 4, ∝ – 1, 6 และ ∝ – 1, 3 แต่จะช้ากว่า ∝ – 1, 4 การตัดสายพอลิเมอร์จะเหมือนกับ β – amylase แต่จะตัดปลายเข้าไปที่ละ 1 หน่วย ของกลูโคส ดังนั้นผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มีรูปร่างต่างไปจากเดิม คือเป็น β – configuration หรือ β – D – glucose และส่วนของกลูแคน และลิมิตแดกซ์ทริน (ปราณี, 2547)

เซลลูเลส (cellulase) ปราณี (2547) กล่าวว่า ซับสเตรตของเซลลูเลส คือ เซลลูโลส ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในธรรมชาติเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสที่มีโครงสร้างเป็น β – 1, 4 เป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้น้อยมาก เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและอนุพันธ์ของเซลลูโลสคือ เซลลูเลส ซึ่งโดย ทั่วไปเป็นเอนไซม์ผสมประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกันคือ

เอนไซม์ C_1 ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแตกสายเซลลูโลส เป็นการทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง และซับสเตรตของเซลลูเลสลำดับต่อไป คือ เอนไซม์ C_x

เอนไซม์ C_x หรือ β – 1, 4 glucanases เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะเซลลูโลสหรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายซับสเตรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ สามารถย่อยพันธะ β – 1, 4 ของซับสเตรตสังเคราะห์ได้ เช่น คาร์บอกซิลเมทธิลเซลลูโลส (CMC) แบ่งเอนไซม์กลุ่มนี้ออกเป็น 2 ชนิด คือ

Endo – β – 1, 4 glucanases หรือเรียกว่า เอนโดเซลลูเลสย่อยสลายสายพอลิเมอร์ภายในอย่างอิสระผลผลิตได้เป็นโอลิโกเมอร์และเซลลูโลส

Exo – β – 1, 4 glucanases หรือเรียกว่า เอกโซเซลลูเลส หรือ exocello biohydrolases ย่อยสลายพอลิเมอร์จากปลายสาย ได้ผลผลิตที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก β – เป็น ∝ – ได้ผลผลิตเป็นเซลโลไบโอสและกลูโคส

บีตา – กลูโคซิเดส (β – glucosidases) หรือ เซลโลไบเอส (cellobiase) มีซับสเตรตเป็นเซลโลไบโอสจนถึงเซลโลเฮกซาโอส (กลูโคส 2 – 6 unit) แต่อัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่อความยาวสายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายคือ กลูโคสที่มีรูปร่างเปลี่ยนจากเดิม

เพกติเนส (pectinase) ปราณี (2547) กล่าวว่า ซับสเตรตของเพกติเนส คือ สารประกอบประเภทเพกตินและอนุพันธ์ของ ∝ – 1,4 – D galacturonopyranose เพกติเนสพบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่นเดียวกับที่พบสารประเภทเพกตินแต่อยู่คนละส่วนของเซลล์ เมื่อเซลล์ฉีกขาดหรือได้รับการกระทบกระเทือนเอนไซม์ และเพกตินจะเคลื่อนเข้าใกล้กันเกิดการย่อยสลายความคงตัวของซับสเตรตจึงเสียไป ทำให้มีลักษณะนิ่มลง ปัจจุบันได้มีการผลิตเพกติเนสเพื่อการค้าจากการสกัดจากจุลินทรีย์ไม่พบเพกติเนสในสัตว์และคนยกเว้นในทาก เพกติเนสแบ่งออกเป็น 3 ชนิด

เพกตินเอสเทอเรส (pectinesterase) จะเร่งปฏิกิริยาการแยกหมู่แมททีลออกจากสารประเภทเพกตินที่มีการเติมหมู่เมทีลที่หมู่คาร์บอกซิล แต่ไม่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิล

พอลิกาแล็กทูโรเนส (polygalacturonase) ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันะไกลโคซิลในสารประเภทเพกติน

เพกเทตไลเอส (pectate lyases) เป็นเพกติเนสอยู่ในรูปไลเอสมีลักษณะปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะไกลโคซิลในเพกตินหรือกรดเพกติกได้สายพอลิเมอร์สายสั้นที่สายหนึ่งมีปลายรีดิวซ์และอีกสายพอลิเมอร์มีพันธะคู่

โปรติเอส (protease)

โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในระบบการย่อยอาหารสู่ร่างกายเช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโททริปซิน เปปติเดส นอกจากนี้ยังมีโปรติเอสที่ทำหน้าที่ควบคุมการแข็งตัวของเลือดและควบคุมการจับเชื้อโรค โดยการย่อยสลายโปรตีนจากภายนอก เช่น คาเทปซิน โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรติเนส เปปไทด์ไฮโรเลส และเอนไซม์โปรติโอไลติก การเกิดปฏิกิริยาจะสลายพันธะเปปไทด์ – CO – NH – ด้วยน้ำ (ปราณี, 2547)

เอนไซม์ที่ใช้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โดยปกติแล้วเอนไซม์ในตัวสัตว์เคี้ยวเอื้องได้มาจากตัวของสัตว์เองและจากแบคทีเรียที่อยู่ในกระเพาะรูเมน การย่อยองค์ประกอบที่ซับซ้อนของอาหารได้อย่างสมบูรณ์ไม่ว่าจะเป็น อาหารหยาบหรือธัญพืชต่างๆที่ประกอบอยู่ในสูตรอาหารข้นจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยให้เหมาะสมกับชนิดวัตถุดิบอาหารที่ต้องการให้เกิดการย่อย เอนไซม์ที่ใช้สำหรับสัตว์กระเพาะรวมที่มีอยู่ในท้องตลาดส่วนใหญ่แล้วเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายผนังเซลล์พืชเป็นหลัก เช่น cellulase xylanase ซึ่งผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมานั้นมีทั้ง ชนิดที่มีเอนไซม์เพียงชนิดเดียวที่ใช้สำหรับย่อยผนังเซลล์พืช และผลิตภัณฑ์เอนไซม์รวมที่มีเอนไซม์หลายชนิดรวมกัน ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยผนังเซลล์พืชและเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสารอาหารอื่นๆนอกจากผนังเซลล์พืช ซึ่งเอนไซม์ที่รวมอยู่กันได้แก่ amylase protease pactinase เป็นต้น เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมามีผลต่อการย่อยได้ที่แตกต่างกันไป เพื่อให้เกิดการย่อยได้ที่สมบูรณ์ของ cellulose และ hemicellulose จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่สอดคล้องกันและในสัดส่วนที่เหมาะสม แบคทีเรียเพียงชนิดเดียวสามารถใช้ผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดในปริมาณที่เท่ากัน การเพาะเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้ได้เอนไซม์ชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นและสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ (Gashe, 1992)

เป้าหมายการเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์

เอนไซม์เป็นสารเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการเมตาบอลิซึมรวมถึงในกระบวนการสร้างและระบบการย่อยสลาย (Wenk, 1992) ปัจจุบันการใช้เอนไซม์รวมส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว เพื่อลดปริมาณสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะและสารพิษบางอย่างที่อยู่ในอาหาร (Brenes *et al*., 1993) เพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้และการย่อยได้ของโภชนะในไก่ (Bedford *et al.,* 1993) และในสุกร (Baidoo *et al.,* 1998) และช่วยลดปริมาณโภชนะที่สัตว์ขับถ่ายเป็นของเสียออกมา (Matsui *et al.,* 2000; Spencer *et al*., 2000) Sheppy (2001) กล่าวว่าเหตุผลหลักสำคัญ 4 ข้อในการตัดสินใจใช้การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์คือ

1. เพื่อยับยั้งการทำงานของสารขัดขวางโภชนะ
2. เพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแป้ง โปรตีน และแร่ธาตุ ที่อยู่ภายในผนังเซลล์พืช
3. ลดการใช้แร่ธาตุที่ผลิตจากพันธะทางเคมีเนื่องจากสัตว์สามารถใช้โภชนะที่อยู่ในอาหารได้มากขึ้น

4. เลือกใช้การเสริมผลิตภัณฑ์เอนไซม์ในสัตว์ที่อายุยังน้อยอยู่ เนื่องจากสัตว์ที่อายุน้อยมีระบบเอนไซม์ในร่างกายไม่สมบูรณ์เท่ากับสัตว์โตแล้ว

โดยทั่วไปมีการเสริมเอนไซม์ในอาหารไก่เนื้อเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตไก่เนื้อให้มากขึ้น และประมาณ 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารไก่ไข่ที่มีส่วนประกอบของรำสาลี และข้าวบาเลย์มีการเสริมเอนไซม์ลงในอาหาร (Wyatt and Queenborough, 1995) การเสริมเอนไซม์สามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยวโดยเฉพาะไก่ไข่แต่ไม่เสมอไปเมื่อใช้ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Yang *et al.,* 1999)

การทำงานของเอนไซม์และผลการเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Beauchemin *et al.* (1999) กล่าวว่า การย่อยได้ของโภชนะที่เป็นผลจากการเสริมเอนไซม์ทำให้ผลผลิตนมเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเสริมเอนไซม์มีผลต่อการย่อยอาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้อง คือ

1. มีผลโดยตรงต่อการแตกตัวของอาหาร เพื่อช่วยให้เอนไซม์ต่างๆที่จุลินทรีย์และร่างกายอาหารผลิตขึ้นมาเข้าทำปฏิกิริยากับสารอาหารได้มากขึ้นทำให้เกิดการย่อยได้สูงขึ้น

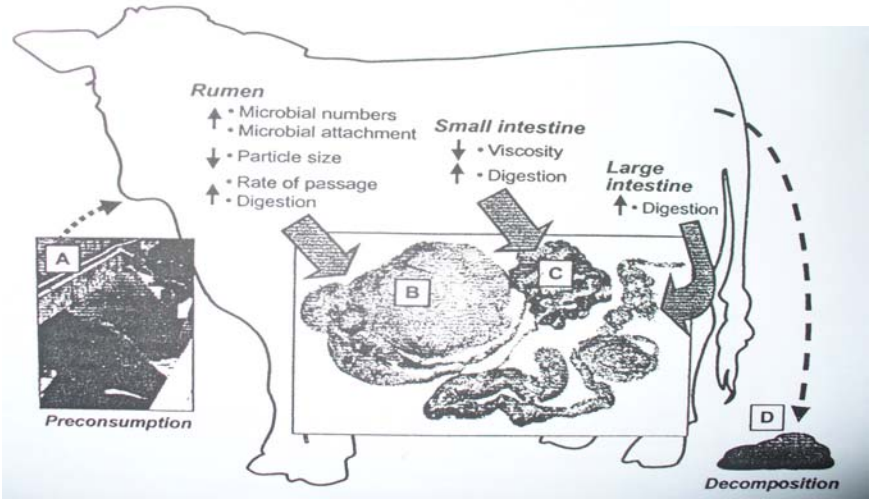
2. เพิ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยอาหาร การย่อยได้สูงขึ้นทำให้จุลินทรีย์ได้รับอาหารที่เพียงพอต่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ ช่วยให้จุลินทรีย์ย่อยอาหารได้มากขึ้น

3. ลดความหนืดในระบบทางเดินอาหาร เอนไซม์จะไปลด viscosity ของระบบทางเดินอาหารทำให้การทำงานของเอนไซม์ในลำเล็กเพิ่มขึ้น ช่วยปรับปรุงการดูดซึมโภชนะในส่วนของลำไส้เล็ก

4. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะรูเมนให้สมบูรณ์ขึ้น จากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารกับเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะในอาหาร

ในการเสริมเอนไซม์มีความคาดหวังให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารที่สัตว์กินเข้าไป ซึ่งมีผลมาจากการเพิ่มการย่อยได้ของอาหาร ทั้งในส่วนของกระเพาะรูเมนและก่อนถึงกระเพาะรูเมน ดังแสดงในภาพที่ 2 มีความเป็นไปได้ว่าผลจากการทำงานของเอนไซม์ในช่วงก่อนที่อาหารจะถึงกระเพาะรูเมน ทำให้เกิดการปลดปล่อยในส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายง่ายหรือเชิงซ้อนออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบอาหารดังแสดงในภาพที่ 2 ส่วน A ปริมาณการย่อยได้ภายในกระเพาะรูเมนขึ้นอยู่กับการย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน เอนไซม์ที่เสริมเข้าไปสามารถทำปฏิกริยาโดยตรงกับอาหาร หรืออาจจะทำปฏิกิริยาร่วมกับจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมน ดังภาพที่ 2 ส่วน B นอกจากเอนไซม์ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยก่อนที่อาหารจะถึงกระเพาะรูเมน เอนไซม์ที่เสริมในอาหารยังคงเหลืออยู่ในส่วนของระบบทางเดินอาหารส่วนอื่นๆ หลังจากส่วนกระเพาะรูเมน ซึ่งมีผลช่วยเพิ่มการดูดซึมโภชนะโดยการลดความหนืดที่เกิดขึ้นในลำไส้เล็ก ดังภาพที่ 2 ส่วน C การเสริมเอนไซม์ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร จึงทำให้มูลที่ขับถ่ายออกมามีปริมาณน้อยลง ดังภาพที่ 2 ส่วน D ดังนั้น เป้าหมายของการเสริมเอนไซม์จึงเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารในสัตว์กระเพาะรวมและลดปริมาณมูลจากสัตว์ (McAllister *et al*., 2000)

ภาพที่ 2 การทำงานของเอนไซม์เสริมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง



ที่มา: McAllister *et al*. (2001)

เมล็ดธัญพืชจำพวกที่มีคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง (non – starch polysaccharides: NSPs) บางชนิดเป็นสารที่ละลายในน้ำก่อให้เกิดความหนืดข้นของอาหารในลำไส้เล็ก การเพิ่มความหนืดข้นส่งผลให้การย่อยได้และการดูดซึมโภชนะลดลงแต่เพิ่มปริมาณดื่มน้ำสูงขึ้นทำให้สิ่งขับถ่ายเหลว การเสริมเอนไซม์ลงในอาหารผสม เอนไซม์ช่วยให้โมเลกุลที่ซับซ้อนของคาร์โบไฮเดรตแตกตัวให้มีโมเลกุลที่เล็กลงช่วยลดค่าความหนืดข้น ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะ ลดลักษณะเหนียวข้นของสิ่งขับถ่าย (Kenny and Carolyne, 2003)

การทำงานของเอนไซม์เสริมก่อนที่อาหารถึงกระเพาะรูเมน

Beauchemin and Rode (1996) กล่าวว่า การเสริมเอนไซม์สามารถทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำตาลจากวัตถุดิบอาหารในช่วงก่อนที่อาหารถึงกระเพาะรูเมน Hristov *et al*. (1996) ได้ทดลองความเป็นไปได้ของเอนไซม์ที่สามารถปลดปล่อยน้ำตาลจากอาหาร พบว่ามีเอนไซม์จำนวน 2 ชนิด จาก 11 ชนิด สามารถปลดปล่อยน้ำตาลจากบาร์เลย์หมักได้ Feng *et al*. (1996) และ Beauchemin *et al*. (1998) กล่าวว่า การเสริมเอนไซม์ในถั่วลูเซินแห้งไม่ทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำตาล แต่จะมีการปลดปล่อยน้ำตาลได้มากเมื่อมีการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารที่เป็นบาร์เลย์หมัก ดังนั้น ชนิดและสภาพของอาหารที่เป็นหญ้าแห้งจึงมีอิทธิพลต่อการปลดปล่อยน้ำตาลออกจากวัตถุดิบ McAllister *et al*. (2001) กล่าวว่าน้ำมีบทบาทสำคัญในกระบวนการ hydrolysis ในการปลดปล่อยน้ำตาลจาก

สารประกอบเชิงซ้อนทางชีวเคมี โดยทั่วไปอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีสภาพแห้งจะมีความชื้นประมาณ 6 – 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเพื่อให้เกิดการปลดปล่อยน้ำตาลจากอาหารที่มีสภาพแห้งจึงควรเพิ่มน้ำเพื่อให้เกิดกระบวนการ hydrolysis ได้ง่ายขึ้น

การทำงานของเอนไซม์เสริมภายในกระเพาะรูเมน

โดยทั่วไปเอนไซม์เสริมจะถูกทำให้เสียสภาพเนื่องจากในของเหลวจากกระเพาะรูเมนมี protease ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Kung, 1996) cellulase ที่ผลิตจากเชื้อราสามารถที่จะคงสภาพได้ภายในกระเพาะรูเมน แต่หลังจาก 6 ชั่วโมง ภายในกระเพาะรูเมน พบว่าเอนไซม์มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลงน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ จากเอนไซม์ที่ยังคงอยู่ในกระเพาะรูเมน (Kopency *et al*., 1987) แต่จากการทดลองพบว่าเอนไซม์ CMCase (carboxymethyl cellulase) และ xylanase ยังคงสภาพและสามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างปกติหลังจาก 6 ชั่วโมง ที่อยู่ในของเหลวจากกระเพาะรูเมน (Hristov *et al*., 1998b) เป็นไปได้ว่าเอนไซม์เสริมที่ยังคงอยู่ในกระเพาะรูเมนจะช่วยเพิ่มการย่อยได้ของอาหารโดยกระบวบการ hydrolysis ในกระเพาะรูเมน จากการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยจำลองสภาพภายในกระเพาะรูเมนเอนไซม์เสริมสามารถช่วยเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใย (Dong *et al.,* 1999) และให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อมีการทดลองกับตัวสัตว์ (Lewis *et al.,* 1996; Beauchemin *et al*., 1999)

การเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยเป็นไปได้ที่มีผลมาจากการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์เสริมกับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ รวมถึงปริมาณและชนิดของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนผลิตออกมา ความสามารถของเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยากับอาหารหรือสภาพภายในกระเพาะรูเมนมีผลต่อการคงอยู่ของเอนไซม์ซึ่งอาจเป็นตัวจำกัดการย่อยผนังเซลล์พืชในกระเพาะรูเมน (White *et al.,* 1993)

การทำงานของเอนไซม์เสริมหลังจากกระเพาะรูเมน

การเสริมเอนไซม์ ไม่ได้มีผลทำให้ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยภายในกระเพาะรูเมนเพียงอย่างเดียวแต่ยังช่วยเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยในส่วนลำไส้เล็กด้วย (Hristov *et al*., 2000) การเสริมเอนไซม์ xylanase ทำให้เอนไซม์มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาในส่วนลำไส้เพิ่มขึ้น 30 เปอร์เซ็นต์ (Hristov *et al*., 1998a) การเสริมเอนไซม์โดยผสมกับอาหารเมื่อสัตว์กินเข้าไปแล้วจะต้องผ่านกระเพาะรูเมนเข้าสู่ส่วน abomasums ซึ่งมีสภาพ pH ที่ต่ำและเอนไซม์ protease ที่เป็นปัจจัยยับยั้งการทำงาน

ของเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีเอนไซม์เหลืออยู่ที่สามารถหลีกเลี่ยงการถูกย่อยสลายในส่วน abomasums เมื่อผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็กแล้ว xylanase ที่รอดพ้นจากการถูกย่อยมีอัตราการทำงานเพิ่มขึ้นมีผลช่วยลดความหนืดที่เกิดขึ้นในส่วนของลำไส้เล็ก (Hristov *et al.,* 2000) โคที่ได้รับอาหารที่เป็นธัญพืชเอนไซม์จะเป็นตัวกลางในการลดความหนืดและเพิ่มการดูดซึมโภชนะในส่วนลำไส้เล็กการเสริมเอนไซม์ในอาหารและในส่วน abomasum ทำให้ค่าความหนืดลดลง 1.2 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และช่วยเพิ่มการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (Hristov *et al.,* 1998a) จากการทดลองให้โคได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนประกอบ พบว่าช่วยเพิ่มการย่อยได้รวมเนื่องมาจากการย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นของแป้งและเยื่อใยในส่วนของลำไส้เล็ก (Beauchemin *et al.*, 1999) อาหารที่ไม่ถูกย่อยเนื่องจากเป็นวัตถุดิบอาหารที่ย่อยได้ยากจะผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ในส่วนนี้เอนไซม์ยังคงทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ (Hristov *et al*., 2000) แต่การทำงานของเอนไซม์ในส่วนนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดวัตถุดิบที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารในส่วนที่ผ่านมา (McAllister *et al*., 2000)

เอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์ให้ผลที่แน่นอนอยู่ 2 อย่างคือ ช่วยให้อาหารย่อยได้มากขึ้นและช่วยเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสัตว์ให้ดีขึ้น (McDonald *et al.*, 1988) โดยทำการย่อยสารกลุ่มเยื่อใยที่ห่อหุ้มส่วนของสารอาหารหลักไว้ ซึ่งนอกจากทำให้สัตว์ได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นแล้วยังทำให้ตัวอย่างของเหลวจากตัวสัตว์ที่ร่างกายสัตว์ผลิตขึ้นมาอยู่ในส่วนของลำไส้สามารถย่อยสารอาหารหลักได้ง่ายขึ้น ส่งผลให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนและแป้งดีขึ้น โดยการช่วยให้ผนังเซลล์ของพืชแตกตัวทำให้ส่วนประกอบของเซลล์ง่ายต่อการถูกย่อยจากเอนไซม์ในตัวสัตว์ได้ เอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารจะเข้าไปจับกับอาหารที่ผนังเซลล์ในตำแหน่งที่เหมาะสมกันระหว่างเอนไซม์และอาหารเพื่อให้เอนไซม์เข้าไปย่อยสารประกอบที่มีขนาดใหญ่ให้มีอนุภาคที่เล็กลงจนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางผนังลำไส้เล็ก จากการทำหน้าที่ร่วมกันของเอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารกับเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นภายในกระเพาะรูเมนและเอนไซม์ที่ร่างกายผลิตออกมาเองที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารส่วนต่างๆ การใช้เอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารสัตว์จะช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์และร่างกายผลิตขึ้นมามีความสมบูรณ์มากขึ้น เอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารทำให้อาหารส่วนที่ย่อยยากหรือส่วนที่นำโภชนะออกไปใช้ได้น้อยเกิดการย่อยได้ก่อนล่วงหน้าเพิ่มมากขึ้น สารประกอบบางพวกเป็นส่วนที่ย่อยยาก เช่น ผนังเซลล์พืช เมื่อถูกย่อยให้มีอนุภาคที่เล็กลงจะอยู่ในลักษณะของเจลซึ่งเอนไซม์ที่เสริมในอาหารจะช่วยให้ส่วนที่ย่อยยากสามารถย่อยได้เพิ่มขึ้น (Chesson, 1993)

จากการทดลองกับตัวสัตว์แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของเอนไซม์ที่จะมีผลต่อระบบทางเดินอาหารส่วนอื่นๆ นอกเหนือจากกระเพาะรูเมนเพียงอย่างเดียว (Yang *et al*., 1999; Sutton *et al*., 2003) และการเสริมเอนไซม์มีผลต่อค่าความหนืดและการดูดซึมโภชนะในลำไส้เล็ก (Poutance, 1997) NSP ที่ละลายน้ำจะไปเกาะกับน้ำเพิ่มขึ้นและฟอร์มตัวเป็นร่างแหหรือพองตัวออกทำให้ของ เหลวในระบบทางเดินอาหารมีความหนืดเพิ่มขึ้นทำให้ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่หลั่งมาจากตับอ่อน จึงทำให้ไม่เกิดการย่อยในระบบทางเดินอาหาร Simon (1998) รายงานว่า เอนไซม์ที่ทำการย่อย NSP อาจมีกลไกการทำงานหลายอย่าง โดยจะย่อยส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำของ NSP จึงลดความหนืดในทางเดินอาหารและการแตกของ NSP ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ ซึ่งจะส่งผลดีต่อค่าการย่อยได้ (Wiliczkiewicz, 2005)

ผลของเอนไซม์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

Bedford and Partridge (2001) ได้ทำการศึกษาการเสริม xylanase ในอาหารไก่เนื้อที่ใช้ข้าวสาลีเป็นหลักในสูตรอาหาร พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น จุลินทรีย์พวก *E.coli* และ *Salmonella spp*. มีจำนวนลดลงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ Cowieson *et al.* (2000) รายงานว่า อาหารสัตว์ปีกที่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ แบคทีเรียจะมีเปอร์เซ็นต์ guanine และ cytosine เพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 40 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เป็น 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Francis *et al.* (1999) พบว่า อาหารที่มีการเสริมด้วยเอนไซม์หลายชนิดจะช่วยลดการเพิ่มจำนวนของ *Salmonella* และ *Clostridium* ในไส้ติ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เอนไซม์ที่ผลิตนอกร่างกายสัตว์ ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของ acetic acid และ VFA ทั้งหมด และยังผลิตน้ำตาลสายสั้นที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ด้วยการเสริมเอนไซม์ผสม (multi-enzyme mixture) ที่ประกอบด้วย protease xylanase และ amylase ในอาหารไก่ไข่ที่ใช้ข้าวโพดหรือกากถั่วเหลืองเป็นหลักในสูตรอาหาร จะมีผลเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบภายในของจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง พิจารณาได้จากเปอร์เซ็นต์ guanine และ cytosine ที่เป็นองค์ประกอบใน DNA ของจุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์

ตารางที่ 3 ผลของ *Aspergillus foetidus* และ Cellulase AC ต่อจำนวนแบคทีเรียจากการจำลองสภาวะภายในกระเพาะรูเมน

	ควบคุม	*A.foetidus*	Cellulase AC
จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด x 10^8 / มล.	4.03	4.63	5.87
แบคทีเรีย Cellulolytic x 10^6 / มล.	1.92	4.33	4.20

ที่มา: Arambel *et al.* (1987)

เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Aspergillus oryzae* สามารถเพิ่มจำนวนประชากรแบคทีเรียในกระเพาะรูเมน (Newbold, 1995) จำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่เกาะอยู่กับอาหารมีจำนวนเพิ่มขึ้น (Beguin *et al*., 1998) การเกาะติดของจุลินทรีย์กับอาหารมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของหญ้าและวัตถุดิบอาหารที่เป็นธัญพืช (Cheng, 1998) การมีชีวิตอยู่ของจุลินทรีย์ที่อยู่ในส่วนต่างๆของระบบทางเดินอาหารนั่นหมายถึงระบบทางเดินอาหารส่วนนั้นจะต้องมีสารโภชนะและสภาวะอากาศที่เหมาะสมต่อความต้องการของจุลินทรีย์ ดังนั้น ความสามารถการทำงานของระบบการย่อยอาหารต่อการย่อยสารอาหารและการดูดซึมสารอาหารจะเป็นสิ่งกำหนดชนิดและจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารส่วนนั้นๆ ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีการแพร่กระจายอยู่นั้นจะแสดงถึงผลผลิตที่ได้จากกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์และการเพิ่มขึ้นจำนวนประชากรจุลินทรีย์นั้นด้วย จำนวนประชากรจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นมากเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ได้รับอาหารและชนิดของสารอาหารที่จำเป็นต่อกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ (Savory, 1992) การเปลี่ยนแปลงชนิดอาหารและปริมาณอาหารที่สัตว์ได้รับจะส่งผลต่อประชากรจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Hillman, 1999) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของตัวสัตว์ในการย่อยและดูดซึมสารโภชนะ การใช้เอนไซม์เสริมในอาหารให้สัตว์ได้รับเป็นประจำมีผลทำให้การย่อยได้ของโภชนะเพิ่มขึ้น และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์ (Vahjen *et al.,* 1998) จากการทดลองในห้องปฏิบัติการที่มีการจำลองสภาวะให้เหมือนกับภายในกระเพาะรูเมน พบว่า การเสริมเอนไซม์ *A.foetidus* และ Cellulase AC มีผลทำให้การเกิดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรีย Cellulolytic มีจำนวนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Arambel *et al.,* 1987) ดังแสดงในตารางที่ 3

แนวทางการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารให้เกิดประโยชน์สูงที่สุด

ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่เป็นเอนไซม์รวมมีความเป็นไปได้ในการย่อยสารอาหารได้มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอนไซม์ชนิดเดียว (Chesson, 1993) Beauchemin *et al.* (1999) ทำการทดลอง พบว่า การเสริมเอนไซม์ลงในลำไส้เล็กสามารถช่วยเพิ่มการย่อยได้ของแป้ง 5 เปอร์เซ็นต์, NDF 8 เปอร์เซ็นต์ และ ADF 11 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าการเสริมเอนไซม์ในรูเมน Kung *et al*. (2000) รายงานว่า มีความเป็นไปได้ว่าเอนไซม์จับกับอาหารก่อนที่อาหารจะเริ่มเข้าสู่กระเพาะรูเมน ซึ่งอาจเป็นการป้องกันตัวเองของเอนไซม์จากการถูกย่อยโดยเอนไซม์ proteases จากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน Morgavi *et al*. (2001) รายงานว่า เมื่ออาหารไหลผ่านสู่ลำไส้เล็กเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma* มีความสามารถในการคงตัวและคงทนต่อการถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ได้นานในกระเพาะรูเมน และมีความเป็นไปได้ว่าผลกระทบจากตัวอย่างของเหลว protease และ pH ในกระเพาะอาหารมีมากกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างของเหลว protease ในกระเพาะรูเมน แต่อย่างไรก็ตาม เอนไซม์ที่เสริมลงไปในอาหารยังคงมีอยู่เมื่อถึงส่วนของลำไส้เล็กซึ่งเป็นระยะเวลาการคงตัวที่เพียงพอต่อการทำหน้าที่ในการย่อยสารอาหาร Yang *et al*. (1999) รายงานว่า ถ้าหากเอนไซม์ไม่มีผลต่อค่าความหนืดที่เกิดขึ้น อาจมีผลต่อการย่อยได้ของโภชนะในส่วนของลำไส้เล็กส่วนต้นซึ่งการย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจไม่ได้มาจากการย่อยได้ล่วงหน้าที่เกิดขึ้นก่อนที่อาหารจะเข้าสู่กระเพาะรูเมน

Beauchemin *et al.* (1999) กล่าวว่า การเสริมเอนไซม์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการย่อยและการดูดซึมโภชนะในลำไส้เล็ก และได้แนะนำว่ามี 2 แนวทางที่ช่วยทำให้เอนไซม์ที่เสริมในอาหารเกิดการทำงานในลำไส้เล็ก ได้แก่

1. การเสริมเอนไซม์ในอาหารที่มีสภาพแห้ง ซึ่งอาจเป็นการเพิ่มการจับตัวของเอนไซม์กับอาหาร ซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถมีความคงทนต่อการสลายตัวจาก protease มากขึ้นและสามารถอยู่รอดในกระเพาะรูเมนได้นานขึ้น

2. การเสริมเอนไซม์กับหญ้าหมักหรืออาหาร TMR ทำให้มีการไหลผ่านของอาหารออกจากกระเพาะรูเมนได้เร็ว ก่อนที่เอนไซม์ทั้งหมดที่เสริมลงไปจะได้รับผลกระทบจากกระเพาะรูเมน ทำให้มีเอนไซม์ที่ผ่านเข้าไปทำงานในส่วนลำไส้เล็กได้มากขึ้น

วิธีการใช้เอ็นไซม์ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

การให้ในรูปของสารละลายเสริมผสมในอาหารก่อนให้สัตว์กินให้ผลด้านบวกต่อสมรรถภาพการผลิต (Kung *et al*., 2000; Yang *et al*., 2000) ในทางตรงกันข้ามการให้โดยตรงสู่กระเพาะรูเมนกลับไม่มีผลที่ชัดเจน (Sutton *et al*., 2001) การจับตัวของเอนไซม์กับเยื่อใยพืชก่อนสัตว์กินเข้าไปและหรือการเพิ่มการจับของเอนไซม์กับอาหารให้มากขึ้นทำให้เป็นการเพิ่มการป้องกันไม่ให้เอ็นไซม์เสริมถูกย่อยสลายโดยเอ็นไซม์ที่ย่อยโปรตีนในกระเพาะรูเมน

ไม่มีความจำเป็นหรือจำเป็นน้อยมากในการผสมเอนไซม์กับอาหารไว้ระยะหนึ่งก่อนนำไปให้สัตว์กิน Lewis *et al*. (1999) สังเกตการณ์เพิ่มการย่อยได้ของผนังเซลล์พืช เมื่อสารละลายเอนไซม์ถูกผสมกับหญ้าแห้งก่อนการให้อาหาร แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างการผสมเอนไซม์กับอาหารแล้วให้กินทันทีและผสมเอนไซม์กับอาหารไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้สัตว์กินเช่น เดียวกับการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่ให้ผลออกมาในทิศทางเดียวกัน (Colombatto, 2000)

การใช้เอนไซม์มีหลายรูปแบบทั้งผสมในอาหารผสมสำเร็จรูป TMR พืชอาหารหมัก อาหารข้น อาหารเสริม หรือในพรีมิกซ์ (premix) โดยทั่วไปเมื่อใช้เอนไซม์ผสมในอาหารที่มีความชื้นสูง เช่น หญ้าหมักจะมีประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อผสมกับหญ้าแห้งเพราะความชื้นที่สูงจะช่วยให้เอนไซม์ละลายเข้าจับกับชิ้นของอาหารได้ดีขึ้น ความต้องการความชื้นเพื่อการไฮโดรไลซิส น้ำตาลที่ละลายได้จากโครงสร้างที่ซับซ้อนของคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักการทั่วไปในการเปลี่ยนทางชีวเคมีเบื้องต้น นอกจากนี้ค่า pH ที่ต่ำของหญ้าหมักจะเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติมีเอนไซม์เสริมบางกลุ่มที่เมื่อผสมในรูปสารละลายเข้ากับหญ้าแห้งจะทำการย่อยได้ดีกว่าเมื่อผสมกับหญ้าเปียก Feng *et al*. (1996) ได้ใช้เอนไซม์เสริมในรูปสารละลายผสมโดยตรงกับหญ้า พบว่าไม่มีผลชัดเจนเมื่อผสมกับหญ้าสด แต่เมื่อผสมกับหญ้าแห้งเอนไซม์เสริมช่วยเพิ่มการย่อยได้ของวัตถุแห้งและเยื่อใย เช่นเดียวกับ Yang *et al*. (2000) ที่รายงานการเพิ่มของผลผลิตน้ำนมและการย่อยได้ของอาหาร เมื่อให้เอนไซม์เสริมผสมในส่วนของอาหารข้นในอาหารโคนม แต่ไม่ให้ผลที่ดีขึ้นเมื่อผสมโดยตรงในอาหาร TMR ในทางตรงกันข้าม Phipps *et al*. (2000) รายงานว่า ไม่พบความแตกต่างระหว่างการให้เอนไซม์เสริมลงในอาหารข้น หรือในอาหาร TMR แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์เสริมที่ใช้ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ ประสิทธิภาพที่ลดลงของเอนไซม์เสริมเมื่อผสมในอาหารหมักอาจเป็นผลมาจากสารบางอย่างในอาหารหมักที่ทำให้การทำงานของเอนไซม์เสริมลดลง Nsereko *et al*. (2000) พบว่า สารที่พบในต้นข้าวบาร์เลย์หมักทำให้เอนไซม์ endo – 1,4 – β – xylanase ที่เป็นผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่สังเคราะห์มาจาก *T. longibrachiatum* ทำงานลดลง 23 –

50 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสก็ตาม ในขณะที่การใช้เอนไซม์เสริมในหญ้าหมักอาจทำให้เกิดการเร่งการทำงานของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนที่ได้รับน้ำตาลจากการปลดปล่อยออกมาจากการทำงานของเอนไซม์เสริม ซึ่งหากเก็บหญ้าหมักที่เสริมเอนไซม์นี้ไว้นานอาจมีผลทำให้หญ้าหมักเกิดความเสียหายขึ้นได้ (Wang et al., 2002)

Yang *et al*. (1991) รายงานว่าไม่พบความแตกต่างเมื่อให้เอนไซม์เสริมผสมกับหญ้าแห้ง หรือผสมกับหญ้าแห้งและอาหารข้น ในขณะที่ Rode *et al*. (1999) พบว่าการผสมเอนไซม์ในอาหารข้นให้ผลที่ดีขึ้น Bowman (2001) ศึกษาการใช้เอนไซม์เสริมในอาหาร TMR โดยผสมในส่วนของอาหารข้นหรือส่วนของอาหารเสริม หรือในส่วนของพรีมิกซ์ ในอัตราที่โคนมได้รับต่อวันในปริมาณเท่ากันไม่ว่าจะให้เอนไซม์เสริมในรูปแบบไหน พบว่าการย่อยได้ทั้งหมดของผนังเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 44.3 เป็น 55.6 เปอร์เซ็นต์ (เพิ่มขึ้น 25 เปอร์เซ็นต์) เมื่อผสมเอนไซม์เสริมในอาหารข้น และเมื่อนำอาหารไปประเมินในห้องปฏิบัติการ พบว่าการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งของอาหาร TMR ที่ 12 ชั่วโมง เพิ่มขึ้น 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผสมเอนไซม์เสริมในส่วนของอาหารข้น, 17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผสมในส่วนของพรีมิกซ์ และที่เวลา 48 ชั่วโมง เฉพาะกลุ่มที่มีการเสริมเอนไซม์ในพรีมิกซ์เท่านั้นที่มีผลทำให้การย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ และในตัวสัตว์ที่ต่างกันนี้ผู้วิจัยไม่สามารถสรุปผลที่ใช้อธิบายความแตกต่างนี้ได้ Beauchemin *et al*. (1999b) ได้ให้คำแนะนำการใช้เอนไซม์เสริมว่าควรใช้เอนไซม์เสริมผสมกับส่วนใหญ่ของอาหารเพื่อเพิ่มโอกาสของเอนไซม์ให้คงทนต่อการถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนในขณะเดียวกันการผสมเอนไซม์ในอาหารส่วนน้อยจะเกี่ยวข้องกับอัตราการไหลผ่านของอาหารออกจากกระเพาะหมัก โดยทำให้เอนไซม์เสริมไหลออกจากกระเพาะหมักได้เร็วขึ้น ช่วยลดการถูกย่อยสลายของเอนไซม์เสริมในกระเพาะรูเมนได้ ในการประเมินประสิทธิภาพของเอนไซม์ในห้องปฏิบัติการอาจให้ผลที่ไม่แม่นยำในกรณีที่มีอัตราการไหลผ่านอย่างเร็วของอาหารออกจากกระเพาะรูเมนมาเกี่ยวข้อง ดังนั้นวิธีการให้เอนไซม์เสริมที่ต่างกันจึงต้องใช้วิธีการประเมินประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่แตกต่างกันด้วย

ระดับเอ็นไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ความแปรปรวนที่เกิดจากการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่เป็นผลมาจากการเสริมในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไป ในการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่า การเสริมเอ็นไซม์ลงในอาหารในระดับที่สูงขึ้นตามลำดับการตอบสนองของเอ็นไซม์ไม่เป็นเส้นตรง (Beauchemin *et al*., 1995; Kung *et al*., 2000) และเป็นไปได้ว่าเป็นผลมาจากการเสริมเอ็นไซม์ในระดับที่สูงเกินไป จาก

การทดลองโดยใช้อาหารที่ประกอบด้วย ข้าวโพดหมัก 60 เปอร์เซ็นต์ และถั่วลูเซอร์นแห้ง 40 เปอร์เซ็นต์ ใช้เอ็นไซม์เสริมที่ระดับ 0, 1 และ 2.5 มล./กก. ของอาหาร TMR โดยทดลองในแม่โค พบว่าแม่โคที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอ็นไซม์ในระดับต่ำให้ผลผลิตปริมาณน้ำนมสูงสุด เท่ากับ 39.5 กก./วัน ในขณะที่แม่โคที่ได้รับอาหารควบคุมมีผลผลิตน้ำนมเท่ากับ 37.0 กก./วัน ส่วนแม่โคที่ได้รับอาหารที่เสริมเอ็นไซม์ในระดับสูงจะให้ผลผลิตน้ำนมปริมาณที่น้อยที่สุดเท่ากับ 36.2 กก./วัน (Kung *et al*., 2000)

การตอบสนองของโคเนื้อที่ได้รับเอนไซม์ในอาหารที่ระดับต่างกัน ก็ให้ผลให้ที่ไม่เป็นเส้นตรงเช่นกัน (Beauchemin *et al*., 1995) จากผลการทดลองการใช้อาหารที่มีอัลฟาฟ่าแห้งที่ระดับ 24 – 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารร่วมกับการใช้เอนไซม์เสริมที่ระดับ 0.25 – 1 มล./กก. ของวัตถุแห้ง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของโคเพิ่มขึ้น 24 – 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเสริมเอนไซม์ในระดับต่ำ (0.25 – 1 มล./กก.) โดยเป็นผลมาจากการกินได้วัตถุแห้งที่ย่อยได้ที่มากขึ้น แต่การแสริมเอนไซม์ในระดับสูง (2 – 4 มล./ กก.วัตถุแห้ง) แสดงผลไม่ชัดเจนเมื่อสัตว์ทดลองได้รับหญ้าแห้งธิโมที การเสริมเอนไซม์ในระดับสูง (4 มล./กก. วัตถุแห้ง) เพิ่มอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคเนื้อสูงขึ้น 36 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นผลมาจากการย่อยได้ของ ADF เพิ่มขึ้น 17 เปอร์เซ็นต์ และการกินได้วัตถุแห้งที่ย่อยได้เพิ่มขึ้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมเอนไซม์ในระดับที่สูงทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ลดลงเมื่อเปรียบกับการเสริมเอนไซม์ในระดับต่ำ ในขณะเดียวกันระดับเอนไซม์ที่เหมาะสมนั้นยังขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารด้วย การไม่ตอบสนองต่อระดับที่ต่ำของเอนไซม์ที่เสริมแสดงถึงปริมาณที่ไม่เพียงพอของเอนไซม์ในการทำหน้าที่ย่อยสลายอาหาร แต่อย่างไรก็ตามสาเหตุที่ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เสริมลดลงเมื่อเสริมในระดับสูงยังไม่ชัดเจน Nsereko *et al*. (2002) รายงานว่า ปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดในของเหลวจากกระเพาะรูเมนตอบสนองต่อการเพิ่มระดับการเสริมเอนไซม์ที่สูงขึ้นเป็นแบบ Quadratic เมื่อเสริมเอนไซม์ที่ได้จาก *Trichoderma longibrachiatum* ในอาหารโคนมนักวิจัยสันนิฐานว่าการเสริมเอนไซม์ในระดับที่เหมาะสมทำให้เกิดผลดีจากการที่โครงสร้างผิวของอาหารถูกสลายก่อนหรือหลังจากการกินอาหารของสัตว์ แต่การเสริมที่ระดับสูงเกินไปผลดีที่ได้อาจไม่เกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณเอนไซม์เสริมที่มากจนเกินไปจะเกาะติดกับชิ้นของอาหารเป็นผลให้ลดพื้นที่สำหรับจุลินทรีย์ให้จุลินทรีย์เข้าจับเกาะชิ้นอาหารเพื่อการย่อยสลาย

ผลการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารโคเนื้อ

การเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยเสริมในอาหารโคเนื้อได้รับการศึกษามาอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มการย่อยได้ในอาหารที่มีสัดส่วนของอาหารหยาบสูง แต่การย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นนี้เองเยื่อใยทำให้โคเนื้อมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับสภาวะทางสรีระวิทยาของตัวสัตว์เอง และสภาพของการทดลองนั้นๆ (Beauchemin *et al*., 1995; ZoBell *et al*., 2000) ในขณะที่ผลการเสริมเอนไซม์ในอาหารที่มีสัดส่วนของอาหารข้นสูงให้ผลค่อนข้างไปในทิศทางเดียวกัน จากการศึกษาการเสริมเอนไซม์ (Xylanase B, Biovance Technologies Inc., Omaha, NE) ในอาหารที่มีข้าวบาร์เลย์ 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed efficiency) ดีขึ้น 6 – 12 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับระดับของเอนไซม์ที่ใช้เสริม ดังแสดงในตารางที่ 4 (Beauchemjn *et al*., 1997; Iwaasa *et al*., 1997)

การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารเกิดจากการย่อยได้ของอาหารที่เพิ่มขึ้น (Iwaasa *et al*., 1997) สอดคล้องกับผลการศึกษาโดย Krause *et al*. (1998) ที่รายงานว่าการย่อยได้ของ ADF เพิ่มขึ้น 28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเสริมเอนไซม์ชนิดเดียวกันนี้ในอาหารโคเนื้อที่มีสัดส่วนของอาหารข้นสูง ในทางตรงข้าม ZoBell *et al*. (2000) พบว่า การเสริมเอนไซม์ในอาหารโคขุนที่ประกอบด้วย 17 เปอร์เซ็นต์อาหารหยาบและ 83 เปอร์เซ็นต์ อาหารข้นที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นหลัก ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างใดๆ กับกลุ่มควบคุม

การใช้เอนไซม์รวม 2 ชนิดได้แก่ amylase และ protease (zymo - Pabst®) เสริมในอาหารที่ประกอบด้วยอาหารข้น 80 เปอร์เซ็นต์ และอาหารหยาบ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นถั่วลูเซอร์นแห้งคุณภาพดี ผลการทดลองพบว่าไม่สามารถทำให้การเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันสูงขึ้น และพบว่าการเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันลดลงเมื่อมีการเสริมเอนไซม์นี้ในอาหารที่ใช้ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์อบไอน้ำ ถั่วลูเซอร์นแห้ง และข้าวโพดหมักเป็นอาหารหยาบพบว่าการเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันของโคเนื้อเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามภายใต้ข้อมูลบางส่วนที่ได้กล่าวถึงการใช้ประโยชน์ได้ของเอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารโคเนื้อ เอนไซม์ที่เสริมลงไปจะมีผลต่อตัวสัตว์หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆหลายปัจจัย เช่น องค์ประกอบของอาหาร ชนิดและระดับของเอนไซม์ที่เสริมลงไปในอาหาร และรวมถึงวิธีการใช้เอนไซม์ที่ถูกต้อง (McAllister., 2001)

มีการใช้เอนไซม์รวมที่มี xylanase กับ cellulase ร่วมกับเอนไซม์ cellulase เพียงอย่างเดียวผสมในอาหารโคเนื้อ พบว่าสามารถทำให้การเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันเพิ่มสูงขึ้น 30 และ 36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาหารที่ใช้ทดสอบประกอบด้วยถั่วลูเซอร์นแห้ง และทิโมธิแห้ง ตามลำดับ แต่พบว่าไม่มีผลทำ

ให้การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวต่อวันสูงขึ้นเมื่อมีการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารที่มีข้าวบาร์เลย์หมัก (Beauchemin *et al*., 1995) ได้มีการทดลองใช้เอ็นไซม์รวม xylanase กับ cellulose ร่วมกับเอ็นไซม์ cellulase เพียงอย่างเดียวผสมในอาหารโคเนื้อเช่นกันเสริมในอาหารที่มี 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นธัญพืชซึ่งได้แก่ ข้าวบาร์เลย์และข้าวโพด พบว่าการเสริมเอ็นไซม์นี้ในอาหารโคที่มีข้าวบาร์เลย์จะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของดีขึ้น 11 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวนี้เสริมในอาหารที่มีข้าวโพดเป็นส่วนประกอบ พบว่าไม่สามารถทำให้ประสิทธิภาพการผลิตให้ดีขึ้น (Beauchemin and Rode, 1996) มีการใช้เอ็นไซม์ amylase เสริมในอาหารโคเนื้อที่มีข้าวฟ่างเป็นอาหารพื้นฐานส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของโคเนื้อดีขึ้น (Boyles *et al*., 1992)

ถึงแม้ผลการเสริมเอนไซม์ต่อการตอบสนองของโคเนื้อจะเป็นไปในทิศทางบวก การยอมรับเทคโนโลยีเอนไซม์เสริมในอุตสาหกรรมการผลิตโคเนื้อยังมีอยู่ในระดับต่ำ เนื่องมาจากราคาที่สูงของเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการใช้ Ionophores ยาปฏิชีวนะ และการฝังฮอร์โมน อีกทั้งผลิตภัณฑ์เอนไซม์ทางการค้าทั่วไปสำหรับการผลิตโคเนื้อยังมีน้อย และที่มีขายทั่วไปก็ไม่ได้รับการประเมินคุณภาพภายใต้สภาวะการให้อาหารที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4 แสดงผลของการใช้เอ็นไซม์ xylanase ใส่ในอาหารข้นสำหรับโคเนื้อขุนที่ใช้ข้าวบาร์เลย์ อาหารเสริม และต้นข้าวบาร์เลย์หมัก

	Enzyme level			
	Control	1X	2X	Change
Beauchemjn *et al.* (1997) [a]				
No. of animal	10	9		
Initail weight , kg	407	414	_	_
DMI , kg / d	9.99	9.53	_	-5%
ADG ,kg / d	1.43	1.52	_	+6%
Kilograms of feed DM : Kilograms of gain	7.11 [e]	6.33 [d]	_	-11%
Iwaasa *et al.* (1997) [b]				
No. of animal	10	10	10	
Initail weight , kg	476	479	481	_
DMI , kg / d	10.6	9.8	9.8	-8%
ADG ,kg / d	2.0	2.1	2.2	+1%
Kilograms of feed DM : Kilograms of gain	5.2 [g]	4.9 [g]	4.6 [f]	-6 to 12 %
DM digestibility , %	65.7 [f]	69.3 [g]	68.9 [g]	+5%
Beauchemjn *et al.* (1997) [c]				
No. of animal	86	101		
Initail weight , kg	385 [e]	360 [d]	_	-6.5%
DMI , kg / d	10.73	10.62	_	-1%
Weight gain , kg	172 [e]	188 [d]	_	+9%
ADG ,kg / d	1.40 [e]	1.53 [d]	_	+9%
Kilograms of feed DM : Kilograms of gain	7.72	6.95	_	-11%

[a] = ไม่มีการใช้ Ionophore และฝังฮอร์โมน; [b] = มีการใช้ Ionophore และฝังฮอร์โมน

[c] = โคได้รับการให้วัคซีน, ฝังฮอร์โมน และใช้ melangesterol acetate ในอาหารเสริม

[d, e] = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

[f, g] = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.10$)

ผลการใช้เอ็นไซม์เสริมในอาหารโคนม

การเสริมเอนไซม์ในโคนมก็ให้ผลที่ไม่แน่นอนเหมือนกับผลการเสริมในโคเนื้อ ดังที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น ในขณะที่ Chen *et al.* (1995) พบว่า การเสริมเอนไซม์รวมในข้าวฟ่างไม่ได้ทำให้โคนมโฮลส์ไตน์ให้นมเพิ่มแต่อย่างใด Beauchemin *et al.* (1995) รายงานว่า การตอบสนองของแม่โคนมต่อเอนไซม์ที่เสริมขึ้นอยู่กับวิธีการให้เอนไซม์ การใช้เอนไซม์ในอาหารที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นหลักและการเสริมเอนไซม์ผสม (cellulase / xylanase) ในอาหารที่มีอาหารข้น 45 – 50 เปอร์เซ็นต์ และมีหญ้าลูเซิร์นหมักและหญ้าแห้งลูเซิร์น ไม่ได้ทำให้แม่โคให้นมเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Luchini *et al*., 1997) ในทางตรงข้าม การพ่นสารละลายเอนไซม์บนข้าวโพดหมักในอาหารที่มีอาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้แม่โคให้นมเพิ่มขึ้น 2.5 กก./วัน โดยองค์ประกอบในน้ำนมไม่เปลี่ยนแปลง (Kung, 1996) Lewis *et al.* (1999) ทรีตอาหารหยาบด้วยเอนไซม์ผสม (cellulase / xylanase) (FinnFeeds Int.) ในอัตรา 1 มล./กก. TMR พบว่าแม่โคในระยะให้นมช่วงต้น (early lactation) ให้น้ำนมเพิ่มขึ้น 6.3 กก./วัน (16 เปอร์เซ็นต์) แต่อย่างไรก็ตามการเสริมเอนไซม์ในระดับต่ำและสูงเกินไปมีประสิทธิภาพต่ำกว่า ดังแสดงในตารางที่ 5

Rode *et al.* (1999) ผสมเอนไซม์เสริม (Promote, Biovance Technologies Inc., Omaha, NE) ในส่วนของอาหารข้นของอาหารในระดับ 1.3 กรัม/วัน (10 เปอร์เซ็นต์; P = 0.11) ในโคที่ให้นมระยะต้นดังแสดงในตารางที่ 5 ทำนองเดียวกันกับการศึกษาของ Yang *et al*. (2000) ที่พบว่าแม่โคในระยะให้นมช่วงต้นให้น้ำนมมากขึ้น 2 กก./วัน (5.9 เปอร์เซ็นต์) เมื่อได้รับอาหารข้นที่ทรีตด้วยเอนไซม์ผสม (Biovance Technol, Omaha, NE) แต่เมื่อทรีตอาหาร TMR ด้วยเอนไซม์ชนิดเดิมนี้กลับไม่มีผลต่อผลผลิตน้ำนมแต่อย่างใด

ตารางที่ 5 ผลการใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารโคนมช่วงระยะแรกของการให้นม

	Lewis *et al*. (1999)				Rode *et al*. (1999)		Yang et al. (2000)		
	Control	Low / E	Medium / E	Hight / E	Control	E/conc.	Control	E/conc.	E/TMR
DMI, kg / d	24.4[b]	26.2[a]	26.2[a]	26.6[a]	18.7	19.0	19.4	19.8	20.4
Milk production, kg/d	39.6[b]	40.8[b]	45.9[a]	41.2[b]	35.9[f]	39.5[g]	35.3[b]	37.4[a]	35.2[b]
Milk composition,%									
Fat	3.99[a]	3.83[ab]	4.00[a]	3.75[b]	3.87[a]	3.37[b]	3..34	3.19	3.14
Protein	2.95[a]	2.87[b]	2.88[b]	2.85[b]	3.24	3.03	3.18	3.13	3.13
Lactose	4.89[ab]	4.91[ab]	4.92[a]	4.81[b]	4.73[c]	4.62[d]	4.65	4.65	4.56
BW change, kg/d	NA	NA	NA	NA	-0.63	-0.60	0.15	0.04	0.14
DM digestibility, %	NA	NA	NA	NA	61.7[a]	69.1[b]	63.9[a]	66.6[b]	65.7[ab]
NDF digestibility, %	NA	NA	NA	NA	42.5[a]	51.0b	42.6	44.3	45.9

[a, b] = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

[c, d] = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.10$)

[f, g] = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P = 0.11$)

E = enzyme, Conc = concentrate, TMR = total mix ratiiion, NA = not available

ตารางที่ 6 ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง และองค์ประกอบของน้ำนมที่มาจากการให้กินอาหารทดลองที่มีการเสริมและไม่เสริมเอ็นไซม์ในอาหาร

Item	Diet[1]				
	Control	LH	HH	HT	SE[2]
Dry matter intake (DMI)					
kg day $^{-1}$	20.4	20.7	20.7	20.8	0.7
% of BW	3.29	3.39	3.32	3.42	0.14
Body weight (kg)	621	623	626	619	3
Milk yield[3] (kg day $^{-1}$)					
Actual	23.7 ^{b}	24.6 ^{ab}	25.6 ^{a}	25.3 ^{ab}	0.6
4 % FCM	22.4 ^{b}	22.9 ^{ab}	24.6 ^{a}	24.6 ^{a}	0.7
SCM	22.2 ^{b}	23.2 ^{ab}	24.4 ^{a}	24.4 ^{a}	0.7
Milk composition (%)					
Fat	3.79	3.70	3.78	3.78	0.11
Protein	3.36	3.41	3.48	3.48	0
Lactose	4.56 ^{b}	4.61 ^{ab}	4.60 ^{ab}	4.60 ^{ab}	0
Milk DMI $^{-1}$(kg kg^{-1})	1.2	1.22	1.29	1.25	0.1

[2]SE = standard error.

$^{a, b}$ = ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

[1]LH = ถั่วลูเซอร์นแห้งผสมกับเอ็นไซม์ระดับต่ำ; HH = ถั่วลูเซอร์นแห้งผสมกับเอ็นไซม์ระดับสูง; HT = ถั่วลูเซอร์นแห้งและอาหารข้นผสมกับเอ็นไซม์ระดับสูง

[3] FMC = ปริมาณนมเมื่อปรับไขมันนมที่ 4 เปอร์เซ็นต์

SCM = ปริมาณนมเมื่อไม่รวมไขมันนม

ที่มา: Yang *et al*., (1999)

การใช้เอ็นไซม์ cellulase เสริมลงในอาหารแม่โคนมที่ประกอบด้วย ลูเซอร์นหมัก และถั่วลูเซอร์นแห้ง ซึ่งใช้เป็นอาหารพื้นฐานพบว่าการใช้เอนไซม์ร่วมกับถั่วลูเซอร์นแห้ง สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำนมให้สูงขึ้น การตอบสนองต่อการเพิ่มปริมาณน้ำนมที่ผลิตได้ให้สูงขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ผสมในอาหาร (Sanchez *et al*., 1996) การใช้เอนไซม์ cellulase ผสมในอาหารให้เข้ากันกับอาหารข้นก่อนการนำไปให้แม่โคระยะให้นมกิน โดยใช้อาหารที่ประกอบด้วยข้าวโพดหมัก 24 เปอร์เซ็นต์ ถั่วลูเซอร์นแห้ง 15 เปอร์เซ็นต์ และอาหารข้น 61 เปอร์เซ็นต์ ที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นอาหารพื้นฐานสามารถทำให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น 4 กก./วัน (Beacuchemin *et al*., 1998) มีการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ xylanase ที่ใช้เสริมในอาหารโคนมที่ระดับต่ำ 1 กรัม/กก. และที่ระดับสูง 2 กรัม/กก. จะสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ผลิตได้ 23.7 กรัม/กก. เป็น 24.6 และ 25.6 กรัม/ กก. ตามลำดับ ดังแสดงตามตารางที่ 6 (Yang *et al*., 1999)

การลดการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตและยาปฏิชีวนะเพื่อการผลิตสัตว์เป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญต่ออาหารปลอดภัยมากขึ้น จึงไม่เป็นที่น่าสงสัยว่าเทคโนโลยีเอนไซม์ในอาหารสัตว์จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีบทบาทสูงในการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้องในอนาคต แต่การเลือกใช้เอนไซม์เสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องต้องได้รับการพิจารณาอย่างรอบคอบ เนื่องจากผลการศึกษาที่ผ่านมายังให้ผลที่ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ วิธีการและที่เสริม ชนิดของอาหารที่สัตว์ได้รับ และสภาวะทางสรีระวิทยาของสัตว์ อีกทั้งผลตอบแทนที่อาจจะไม่คุ้มเมื่อการเสริมเอนไซม์ยังคงมีต้นทุนที่สูงเมื่อเทียบกับการใช้สารเสริมอื่นๆ เทคโนโลยีเอนไซม์จึงยังคงมีการพัฒนาต่อไปอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้การผลิตและการนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการตรวจเอกสารในข้างต้นจะเห็นได้ว่ามีความเป็นไปได้ที่สูงในการใช้เอนไซม์เสริมเพื่อการเพิ่มผลผลิตในสัตว์กระเพาะรวม นอกเหนือจากการใช้อย่างแพร่หลายในสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนารูปแบบใหม่ในวิธีการสังเคราะห์ การเตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์ ส่วนผสมของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน และยังต้องการการศึกษาวิจัยรูปแบบที่เหมาะสมในการนำเอาผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่แตกต่างกันนี้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของเอนไซม์รวมเสริมต่อการย่อยได้ของอาหาร TMR ในแกะ

1. สัตว์ทดลอง

ใช้แกะเพศผู้ตอน จำนวน 12 ตัว อายุ 10 – 12 เดือน น้ำหนักประมาณ 22 กิโลกรัม แกะทุกตัวได้รับการทำวัคซีน ถ่ายพยาธิ และฉีดวิตามินก่อนเริ่มการทดลอง

2. คอกทดลอง

กรงขังเดี่ยวขนาด 0.5 x 1.1 x 0.6 เมตร สูงจากพื้น 0.5 เมตร มีภาชนะสำหรับใส่อาหารและน้ำวางอยู่ข้างหน้าใต้กรงมีรางอลูมิเนียมสำหรับรวบรวมมูลและมีถังรองใต้รางอลูมิเนียมสำหรับรองรับปัสสาวะของแกะแต่ละตัว โดยแต่ละรางจะมีตะเกรงรองเพื่อแยกไม่ให้ปัสสาวะปนกับมูลจำนวน 12 กรง

3. อาหารทดลอง

ใช้อาหาร TMRในการทดลองซึ่งมีองค์ประกอบของสูตรอาหาร ตามที่แสดงในตารางที่ 7 เอนไซม์ที่ผสมในอาหารทดลองเป็น SELFEED – CF® ซึ่งมีลักษณะเป็นผงแป้ง (Sinsui, Inc. Tokyo, Japan.) แต่ละทรีทเมนต์มีการใช้อาหาร TMR ผสมกับเอนไซม์ดังนี้

อาหารทดลองสูตรที่ 1. กลุ่มควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ (CTL)
อาหารทดลองสูตรที่ 2. เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 3. เสริมเอนไซม์ SELFEED – CF 50 กรัม / อาหาร100 กิโลกรัม (50CF)

4. อุปกรณ์และสารเคมี

4.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ proximate analysis (A.O.A.C., 1990)

4.2 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ Van Soest (Van Soest, 1987)

4.3 รางอะลูมิเนียมสำหรับรองเก็บปัสสาวะ

4.4 ถังพลาสติกเก็บรวบรวมปัสสาวะ

4.5 อุปกรณ์วัดปริมาตรปัสสาวะ

4.6 กรดซัลฟิวริกส์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเก็บปัสสาวะ

4.7 ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างมูล

4.8 ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

4.9 เครื่องชั่งน้ำหนักอาหารและมูลขนาด 15 กิโลกรัม

4.10 เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์ขนาด 60 กิโลกรัม

4.11 ตู้เย็น – 20 C° สำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง

5. เอนไซม์ที่ใช้ทดลอง

SELFEED – NZ®(NUZYME) ประกอบด้วยเอนไซม์ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- cellulase (C1 – ase) 3,500,000 unit/kg
- cellulase (CMC – ase) 550,000 unit/kg
- Alfa – amylase 7,030,000 unit/kg
- B – glucanase 4,800 unit/kg
- xylanase 1,880,000 unit/kg

SELFEED – CF®ประกอบด้วยเอนไซม์ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- cellulase 800,000 unit/kg
- protease 15,000,000 unit/kg
- amylase 2,000,000 unit/kg
- lipase 600,000 unit/kg
- pectinase 400,000 unit/kg

การทดลองที่ 2 ผลของเอนไซม์รวมเสริมในอาหาร TMR ต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุนและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

1. สัตว์ทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้โคเนื้อพันธุ์ลูกผสมพื้นเมืองบรามันห์เพศผู้ อายุ 2 ปี น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 350 กิโลกรัม จำนวน 25 ตัว โคทุกตัวได้รับการ ทำวัคซีน ถ่ายพยาธิ และฉีดไวตามินก่อนเริ่มการทดลอง เลี้ยงทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน

2. คอกสัตว์ทดลอง

ทำการทดลองที่ คอกทดลองของสุมิตรฟาร์ม อ. เลาขวัญ จ. กาญจนบุรี คอกทดลองอยู่ภายในโรงเรือนที่เป็นแบบหน้าจั่ว 2 ชั้น เป็นโรงเรือนโปร่งหลังคากระเบื้อง และพื้นคอนกรีตเลี้ยงเดี่ยว ขนาด 5 x 2.5 เมตร มีรางสำหรับใส่อาหารวางอยู่ข้างหน้า และมีอ่างสำหรับใส่น้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาวางอยู่ด้านหลังของคอก

3. อาหารทดลอง

ใช้อาหาร TMR (total mixed tation) ในการทดลองซึ่งมีส่วนประกอบของวัตถุดิบในสูตรอาหารตามที่แสดงในตารางที่ 7 เอนไซม์ที่ผสมในอาหารทดลองเป็นของ SELFEED – NZ® (NUZYME) และ SELFEED – CF® ซึ่งมีลักษณะเป็นผงแป้ง (Sinsui, Inc. Tokyo, Japan.) แต่ละทรีทเมนต์มีการใช้อาหาร TMR ผสมกับเอนไซม์ดังนี้

อาหารทดลองสูตรที่ 1. กลุ่มควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ (CTL)
อาหารทดลองสูตรที่ 2. เสริม NUZYME 25 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (25NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 3. เสริม NUZYME 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 4. เสริม SELFEED – CF 25 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (25CF)
อาหารทดลองสูตรที่ 5. เสริม SELFEED – CF 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50CF)

ตารางที่ 7 องค์ประกอบวัตถุดิบอาหาร TMR และองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหาร

	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF
องค์ประกอบวัตถุดิบ, %					
หญ้าแพงโกล่าแห้ง	5	5	5	5	5
มันเส้น	35	35	35	35	35
ผิวถั่วเหลือง	15	15	15	15	15
ใบกระถินแห้ง	12	12	12	12	12
กากปาล์ม	17	17	17	17	17
กากมะพร้าว	3	3	3	3	3
กากน้ำตาล	7	7	7	7	7
พรีมิกซ์	6	6	6	6	6
เอนไซม์, กรัม	-	25	50	25	50
ยูนิตเอนไซม์ ต่อ 100 กก. อาหาร	-	222,324	444,648	94,000	188,000
องค์ประกอบทางเคมี					
วัตถุแห้ง, %	89.85	89.62	89.82	89.85	89.83
โปรตีน, % ของวัตถุแห้ง	16.31	16.31	16.32	16.31	16.33
พลังงาน, cal/g	4025	4089	4091	4072	4053
NDF, % ของวัตถุแห้ง	38.35	38.07	38.36	38.34	38.35
ADF, % ของวัตถุแห้ง	26.87	26.65	26.75	26.45	26.73
ไขมัน, % ของวัตถุแห้ง	1.60	1.64	1.61	1.61	1.62

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

4. อุปกรณ์ทดลอง

4.1 เครื่องชั่งน้ำหนักโค

4.2 เครื่องชั่งน้ำหนักอาหาร

4.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ตามวิธีของ Bolsen *et al.*(1990)

4.4 ตู้เย็น – 20 C° สำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง

4.5 เครื่องมือการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน ประกอบด้วยมอเตอร์สำหรับดูดชุดเครื่องมือสุญญากาศ ผ้าขาวบางสำหรับกรอง

4.6 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ proximate analysis (A.O.A.C., 1990)

4.7 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ Van Soest (Van Soest, 1987)

4.8 อุปกรณ์ และสารเคมีในการวิเคราะห์หาแอมโมเนียจากของเหลวภายในกระเพาะรูเมนโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (ทัสนีย์ และจงรักษ์, 2542)

4.9 อุปกรณ์ และสารเคมีในการวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยง่าย (กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวทีริก) ตามวิธีการของ (Ewin *et al*., 1961)

4.10 อุปกรณ์เก็บเลือด ได้แก่ เข็มเจาะเลือด (เบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว) กระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร หลอดเก็บเลือดตัวอย่างพร้อมฝาปิด

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของเอนไซม์รวมเสริมต่อการย่อยได้ของอาหาร TMR ในแกะ

1. แผนการทดลอง

เพื่อศึกษาผลการเสริมเอนไซม์ต่อการย่อยได้และประสิทธิภาพการผลิต ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design,CRD) โดยคัดเลือกแกะเพศผู้ตอนใช้ในการทดลองทั้งหมด 12 ตัว แล้วสุ่มแกะออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว (4 ซ้ำ) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 3 ทรีทเมนต์ ได้แก่

อาหารทดลองสูตรที่ 1. กลุ่มควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ (CTL)
อาหารทดลองสูตรที่ 2. เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 3. เสริมเอนไซม์ SELFEED – CF 50 กรัม / อาหาร100 กิโลกรัม (50CF)

2. การเลี้ยงและการให้อาหารสัตว์ทดลอง

การให้อาหาร แกะได้รับอาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้า 7.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. แกะทุกตัวได้รับน้ำสะอาดตามต้องการตลอดเวลา การเลี้ยงแบ่งออกเป็น 3 ระยะ

1. ระยะปรับอาหาร เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารทดลองโดยให้แกะกินอาหาร TMR ร่วมกับการให้หญ้าสด ในวันแรกให้อาหารทดลองเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วค่อยๆ ลดปริมาณการให้หญ้าและเพิ่มปริมาณอาหารทดลองขึ้นวันละ 10 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการเปลี่ยนอาหาร

2. ระยะเตรียมการทดลอง (preliminary period) ระยะที่ให้อาหารทดลองล้วน ๆ ให้สัตว์กินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) เพื่อให้แกะปรับตัวตามชนิดอาหาร ใช้เวลา 7 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่กินได้ในแต่ละวัน เพื่อหาความสามารถในการกินได้ ปริมาณอาหารต่ำสุดและสูงสุดที่สัตว์กินได้เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว

3. ระยะการทดลองการย่อยได้ (experimental period) เมื่อผ่านระยะเตรียมการทดลองแล้วเป็นระยะที่เก็บตัวอย่างจริง ให้สัตว์กินอาหารอย่างเต็มที่ใช้เวลาในการทดลอง 9 วัน โดยเก็บข้อมูล

หลังจากการให้อาหารมื้อแรกแล้ว 48 ชั่วโมง ทำการเก็บข้อมูล 7 วันสุดท้ายและเก็บข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณการกินได้ต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 8 วัน หลังจากการเก็บข้อมูลการย่อยได้เสร็จเพื่อเก็บข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพการผลิต

3. การชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง

ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นในวันสุดท้ายของระยะเตรียมการทดลองและชั่งน้ำหนักสุดท้ายในวันสิ้นสุดการทดลอง โดยทำการชั่งในตอนเช้าก่อนการให้อาหาร

4. การเก็บข้อมูลและตัวอย่างอาหาร

การเก็บมูลและปัสสาวะ กระทำในตอนเช้าของทุกวันก่อนการให้อาหารครั้งต่อไปชั่งน้ำหนักมูลและวัดปริมาตรปัสสาวะ (สำหรับการการเก็บปัสสาวะต้องใช้กรดซัลฟูริก 25 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรจำนวน 100 มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะที่รองรับปัสสาวะของแกะแต่ละตัวเพื่อป้องกันการระเหยของไนโตรเจน) สุ่มเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะของแกะแต่ละตัวเก็บไว้ในตู้เย็นที่ – 20 $^{\circ}$C ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ทุกวันตลอดระยะการทดลอง ปฏิบัติตามวิธีการของ (อังคณา และดวงสมร, 2532)

การเก็บตัวอย่างอาหาร ชั่งและบันทึกอาหารที่เหลือจากการกินของแกะแต่ละตัวทุกครั้งก่อนให้อาหารครั้งถัดไป นำอาหารที่เหลือออกจากรางสุ่มตัวอย่างอาหารก่อนให้สัตว์แต่ละตัวทุกวัน

5. การเตรียมตัวอย่างอาหาร มูล และปัสสาวะเพื่อวิเคราะห์

1. อาหารทดลอง ที่สุ่มเก็บตลอดระยะเวลาทดลอง 7 วัน นำมาบดผ่านตะเกรงขนาด 1 มิลลิเมตร แล้วนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีด้วยวิธี proximate analytsis ปฏิบัติตามวิธีการของ AOAC (1990) และการวิเคราะห์องค์ประกอบเซลล์พืชแบบ VanSoest (Van Soest, 1982)

2. มูล นำมูลของแกะแต่ละตัวที่แช่ตู้เย็นเก็บไว้ตลอด 7 วัน ออกมาไว้ในอุณภูมิห้องเพื่อให้ส่วนที่แข็งละลายแล้วนำมาผสมกัน แบ่งตัวอย่างมูลเก็บไว้ในตู้เย็นส่วนหนึ่ง อีกส่วนนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีด้วยวิธี proximate analysis ปฏิบัติตามวิธีการของ AOAC (1990) และการวิเคราะห์องค์ประกอบเซลล์พืชแบบ VanSoest (Van Soest, 1982)

3. ปัสสาวะ นำปัสสาวะของแกะแต่ละตัวที่เก็บไว้ทั้งหมดมาละลาย แล้วผสมกันให้ทั่ว แบ่งเก็บไว้ในตู้เย็นส่วนหนึ่งประมาณ 20 มิลลิลิตร ส่วนที่เหลือนำมาวิเคราะห์หาไนโตรเจนเพื่อหาค่าสมดุลของไนโตรเจน ปฏิบัติตามวิธีการของ (อังคณา และดวงสมร, 2532)

6. คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ ค่าสมดุลไนโตรเจน

คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ ค่าสมดุลไนโตรเจนตามวิธีของ อังคณา และดวงสมร (2532) โดยคำนวณได้จาก

$$\% \text{ การย่อยได้ของโภชนะ} = \frac{(\text{วัตถุแห้งของโภชนะที่กิน} - \text{วัตถุแห้งของโภชนะในมูล}) \times 100}{\text{วัตถุแห้งของโภชนะที่กิน}}$$

สมดุลไนโตรเจน = ปริมาณไนโตรเจนที่กิน – ปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกในมูลและในปัสสาวะ

7. การบันทึกข้อมูล

1. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองทั้ง 4 ทรีทเมนต์

2. ปริมาณการกินได้ และการใช้ประโยชน์ของโภชนะของอาหารทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือเพื่อคำนวณหาปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้ ปริมาณมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายในแต่ละวันของระยะทดลอง

3. ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง มูล และปัสสาวะ แล้วคำนวณหาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โภชนะ และสมดุลไนโตรเจน

4. น้ำหนักสัตว์ทดลองก่อนเริ่มการทดลอง และสิ้นสุดการทดลอง คำนวณหาน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่บันทึกได้มาวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลอง (analysis of variance; ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized Design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SAS, 2003) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติคือ

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

โดยที่ i = 1, 2, 3,

j = 1, 2, 3,

เมื่อ Y_{ij} คือค่าสังเกตที่ได้จากสิ่งทดลองที่ i หน่วยที่ j

μ คือค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

τ_i คืออิทธิพลของสิ่งทดลองที่ i (i = 1,2,3)

ε_{ij} คือความคลาดเคลื่อนสุ่ม

การทดลองที่ 2 ผลของเอนไซม์รวมเสริมในอาหาร TMR ต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุน และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

1. แผนการทดลอง

เพื่อศึกษาผลการใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตของโคเนื้อ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด(Completely Randomized Design,CRD) โดยคัดเลือกโคทั้งหมดจำนวน 25 ตัว แล้วสุ่มโคออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว (ซ้ำ) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 5 ทรีทเมนต์ ได้แก่

อาหารทดลองสูตรที่ 1. กลุ่มควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ (CTL)
อาหารทดลองสูตรที่ 2. เสริม NUZYME 25 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (25NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 3. เสริม NUZYME 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50NZ)
อาหารทดลองสูตรที่ 4. เสริม SELFEED – CF 25 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (25CF)
อาหารทดลองสูตรที่ 5. เสริม SELFEED – CF 50 กรัม / อาหาร 100 กิโลกรัม (50CF)

2. การเลี้ยงและการให้อาหารสัตว์ทดลอง

การให้อาหาร โคจะได้รับอาหารทดลองวันละ 3 ครั้ง ในช่วงเช้า 7.00 น., 11.00 น. และ 16.00 น. โคทดลองทุกตัวได้รับน้ำสะอาดและแร่ธาตุก้อนตามต้องการตลอดเวลา การให้อาหารสัตว์ทดลองแบ่งเป็น 3 ระยะ คือ

1. ระยะปรับอาหาร เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารทดลอง โดยให้โคกินอาหารทดลองร่วมกับอาหารที่โคกินอยู่เดิม วันแรกให้อาหารทดลองเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วค่อยๆเพิ่มอาหารทดลองขึ้นวันละ 20 เปอร์เซ็นต์จนครบ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ของการเปลี่ยนอาหาร

2. ระยะเตรียมการทดลอง (preliminary period) เป็นระยะที่ให้อาหารทดลองกับอาหารที่ควบคุมโดยให้สัตว์กินได้อย่างเต็มที่ (*ad libitum*) เพื่อให้สัตว์ปรับตัวกับอาหารทดลอง ใช้เวลา 7 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่กินในแต่ละวันเพื่อวัดความสามารถในการกินได้ ปริมาณอาหารต่ำสุดและสูงสุดที่สัตว์กินได้

3. ระยะทดลอง (experimental period) เมื่อผ่านระยะเตรียมการทดลองแล้ว เป็นระยะที่เก็บข้อมูลเป็นระยะเวลา 17 วัน โดยให้สัตว์กินได้อย่างเต็มที่ มีการให้อาหารแบ่งเป็น 3 ช่วง คือ 7.00 น. 11.00 น. และ 16.00 น. บันทึกปริมาณอาหารที่กินและอาหารที่เหลือ

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองทั้ง 5 ทรีทเมนต์ เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะโดยวิธีด้วยวิธี proximate analytsis ปฏิบัติตามวิธีการของ (A.O.A.C.,1990) และการวิเคราะห์องค์ประกอบเซลล์พืชแบบ VanSoest (Van Soest, 1982)

3. การชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง

ชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลองแต่ละตัวเพื่อคัดเลือกเข้าเป็นสัตว์ทดลอง ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นการทดลองในวันสุดท้ายของระยะเตรียมการทดลอง และชั่งน้ำหนักสุดท้ายในวันสิ้นสุดการทดลองโดยทำการชั่งน้ำหนักในตอนเช้าก่อนการให้อาหาร ใช้เวลาในการทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน

4. การเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน

การเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนกระทำในวันสุดท้ายของการทดลองในสัตว์ โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาก่อนการให้อาหาร (0 ชั่วโมง) ที่ 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการให้อาหารทดลอง เก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมนด้วย stomach tube โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ต่อกับท่อยาง (stomach tube) สอดผ่านทางปากลงไปในหลอดอาหารจนถึงกระเพาะหมัก แล้วทำการดูดของเหลวในกระเพาะหมัก นำไปวัดค่า pH ทันทีด้วยเครื่อง pH มิเตอร์แบบเคลื่อนที่ได้ของ Suntex pH/mV/Temp Meter รุ่น TS – 2 จดบันค่าที่วัดได้ หลังจากนั้นกรองของเหลวผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น

นำของเหลวไปใส่ขวดปลอดเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร และเติม 6 N HCl 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดขบวนการหมักจุลินทรีย์และตกตะกอนโปรตีน (pH ประมาณ 1 – 2) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ – 20 C° (ศักดิ์สิทธิ์, 2540) เพื่อรอนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3 – N) ตามวิธีการของ (ทัสนีย์ และจงรักษ์. 2542) และ กรดไขมันระเหยง่าย (กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวทีริก) โดยวิธีโครมาโทกราฟีด้วยเครื่องวิเคราะห์ Gas Chromatography (GC 2010) ของบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น ตามวิธีการของ Ewin *et al*. (1961)

5. การเจาะเลือด

ทำการสุ่มโค 3 ตัว จาก 5 ตัว ในแต่ละทรีทเมนต์ เก็บตัวอย่างเลือดที่เวลาก่อนการให้อาหาร (0 ชั่วโมง) ที่ 2 และ 4 ชั่วโมง ในวันสุดท้ายของการทดลอง โดยการเจาะบริเวณ Jugular vein หลังการให้อาหารในตอนเช้า เก็บประมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์หายูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood urea nitrogen, BUN) ตามวิธีการของ (Tiffany *et al*., 1961) และกลูโคสในเลือด (Blood glucose, BG) ตามวิธีการของ (Slein, 1963) ตามช่วงเวลาการเก็บตัวอย่าง

6. การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับการกินอาหาร โดยทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือในแต่ละวันเพื่อนำไปหาปริมาณการกินอาหาร (feed intake; FI) ของแต่ละวันตลอดระยะการทดลอง

2. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองทั้ง 5 ทรีทเมนต์

3. บันทึกน้ำหนักสัตว์ทดลอง เพื่อใช้ในการคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily growth; ADG) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (feed conversion ratio; FCR)

4. ข้อมูลค่าความเป็นกรด – ด่าง ของตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยง่าย 3 ชนิด ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก บันทึกผลตามผลการศึกษาที่ได้จากตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน 3 ช่วงเวลา ได้แก่ ที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง หลังกินอาหาร

5. ผลการวิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN) และกลูโคสในเลือด (BG) บันทึกผลตามผลการศึกษาที่ได้จากตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน 3 ช่วงเวลา ได้แก่ ที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมงหลังกินอาหาร

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลอง (analysis of variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS (1998) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติคือ

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

โดยที่ i = 1, 2, 3, 4, 5

j = 1, 2, 3, 4, 5

เมื่อ Y_{ij} คือค่าสังเกตที่ได้จากสิ่งทดลองที่ i หน่วยที่ j

μ คือค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

τ_i คืออิทธิพลของสิ่งทดลองที่ i (i = 1,2,3,4,5)

ε_{ij} คือความคลาดเคลื่อนสุ่ม

สถานที่ทำการทดลอง

1. คอกทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนมและโค มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

2. คอกทดลองโคเนื้อขุน สุมิตรฟาร์ม อ. เลาขวัญ จ. กาญจนบุรี

3. วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ การย่อยได้ ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน และกรดไขมันระเหยง่ายที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

4. วิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด และกลูโคสในเลือด โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง	มกราคม	2550
สิ้นสุดการทดลอง	มิถุนายน	2550

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาผลของเอนไซม์รวมเสริมต่อการย่อยได้ของอาหาร TMR ในแกะ

1.1 ค่าการย่อยได้ของอาหารผสมสำเร็จรูป TMR

จากการทดลองศึกษาค่าการย่อยได้โดยการเสริมเอนไซม์รวมที่มีชนิดของเอนไซม์ที่ต่างกันในอาหาร TMR ดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่า แกะทดลองทั้ง 3 ทรีทเมนต์ คือ CTL, 50NZ และ 50CF มีการกินได้ของโภชนะแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าการกินได้ของ วัตถุแห้ง เท่ากับ 802.51, 777.85 และ 896.76 กรัม/วัน ตามลำดับ การกินได้ของอินทรียวัตถุเฉลี่ยเท่ากับ 747.11 กรัม/วัน การกินได้ของโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 124.12 กรัม/วัน การกินได้ของผนังเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 313.70 กรัม/วัน และการกินได้ของลิกโนเซลลูโลสเฉลี่ยเท่ากับ 218.73 กรัม/วัน เนื่องจากอาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหาร TMR มีลักษณะทางกายภาพของอาหารทดลอง เหมือนกันทั้ง 3 ทรีทเมนต์ จึงไม่มีผลต่อความแตกต่างของปริมาณการกินได้ Rode *et al*. (1999) รายงานว่า จากการใช้เอนไซม์รวมประกอบด้วย xylanase และ cellulase เสริมในสูตรอาหาร TMR ที่ระดับ 1.3 กรัม/กิโลกรัมของ TMR ทำการทดลองในโคนมที่อยู่ในช่วงระยะแรกของการให้นม ซึ่งอาหารTMR ประกอบด้วย ข้าวโพดหมัก 24 เปอร์เซ็นต์ อัลฟาฟ่าแห้ง 15 เปอร์เซ็นต์ และ ข้าวบาร์เลย์ 61 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเสริมเอนไซม์ไม่มีผลทำให้การกินได้ของโภชนะเพิ่มขึ้น แต่การเสริมเอนไซม์ทำให้มีการย่อยได้ของโภชนะเพิ่มขึ้นโดยมีการย่อยได้ของวัตถุแห้งเท่ากับ 61.7 และ 69.1 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ตามลำดับ การย่อยได้ของผนังเซลล์เท่ากับ 42.5 และ 51.0 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ตามลำดับ การย่อยได้ของลิกโนเซลลูโลสเท่ากับ 31.7 และ 41.9 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ตามลำดับ การย่อยได้ของโปรตีนเท่ากับ 61.7 และ 69.8 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ตามลำดับ การเสริมเอนไซม์มีผลตอบสนองได้ดีในกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตสูง (ระยะแรกคลอด) ที่มีการกินได้ต่ำ มีความสมดุลของพลังงานเป็นลบ โดยเฉพาะปริมาณของ NDF ซึ่งเป็นตัวจำกัดในการกินได้และสัมพันธ์กับการย่อยได้ของอาหาร การเสริมเอนไซม์ ทำให้การย่อยเยื่อใยได้มากขึ้นจึงส่งผลต่อความสมดุลของพลังงานเพิ่มมากขึ้น (Beauchemin et al.,2003)

ตารางที่ 8 สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง) และไนโตรเจนเมทาบอลิซึม ในแกะที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 ทรีทเมนต์

						P – values
	CTL	50NZ	50CF	SEM	*P* –values	CTL vs ENZ
การกินได้ของโภชนะ (กรัม/วัน)						
วัตถุแห้ง	802.51	777.85	869.76	12.54	0.13	0.83
อินทรีย์วัตถุ	734.03	711.45	795.84	16.66	0.14	0.72
โปรตีน	130.81	126.79	141.77	3.87	0.15	0.85
ผนังเซลล์	307.74	299.82	333.53	5.28	0.12	0.64
ลิกโนเซลลูโลส	215.63	208.08	232.49	4.83	0.16	0.88
การย่อยได้ของโภชนะ (%)						
วัตถุแห้ง	59.11^{c}	70.20^{b}	74.52^{a}	1.18	0.03	<0.001
อินทรีย์วัตถุ	65.47^{b}	74.79^{a}	78.30^{a}	1.79	0.04	<0.001
โปรตีน	65.56^{c}	73.76^{b}	77.38^{a}	1.67	0.03	<0.001
ผนังเซลล์	30.85	35.02	41.41	2.16	0.15	0.07
ลิกโนเซลลูโลส	20.50^{b}	34.22^{a}	41.00^{a}	3.04	0.02	0.006
ไนโตรเจน เมทาบอลิซึม						
N ที่กินได้ (g/day)	20.93	20.28	22.68	0.35	0.41	0.38
N ในมูล (g/day)	7.17^{a}	5.30^{b}	5.13^{b}	0.31	0.03	<0.001
N ในปัสสาวะ (g/day)	5.28	6.11	6.12	0.79	0.80	0.92
N สะสมในร่างกา(g/day)	8.47	8.87	11.42	0.75	0.23	0.14
N สะสมในร่างกาย (%)	40.56	44.89	50.41	3.32	0.37	0.09

SEM: Standard error mean

$^{a, b, c}$ อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

CTL = กลุ่มควบคุม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

จากการทดลองการย่อยได้ของโภชนะ พบว่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยทรีทเมนต์ 50CF มีการย่อยได้สูงสุดรองลงมาคือ ทรีทเมนต์ 50NZ และทรีทเมนต์ CTL มีการย่อยได้ของวัตถุแห้งต่ำสุด เท่ากับ 74.52, 70.20 และ 59.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์พบว่าการเสริมเอนไซม์มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูงกว่าไม่เสริมเอนไซม์ (P<0.001) การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุพบว่าการเสริมเอนไซม์ทั้ง 2 ทรีทเมนต์ มีค่าการย่อยได้ใกล้เคียงกันส่วนทรีทเมนต์ CTL มีการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 65.47, 74.79 และ 78.30 เปอร์เซ็นต์ จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมเอนไซม์และไม่เสริมเอนไซม์พบว่าการเสริมเอนไซม์มีการย่อยได้ของอินทรียวัตถุสูงกว่าทรีทเมนต์ที่ไม่เสริมเอนไซม์ (P<0.001) การย่อยได้ของโปรตีนในทรีทเมนต์ 50CF มีค่าการย่อยได้สูงที่สุด รองลงมาคือ 50NZ และทรีทเมนต์ CTL มีการย่อยได้ของโปรตีนต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เท่ากับ 77.38, 74.79 และ 65.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมเอนไซม์และไม่เสริมเอนไซม์ พบว่าการเสริมเอนไซม์มีการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่าทรีทเมนต์ที่ไม่เสริมเอนไซม์ (P<0.001) การย่อยได้ของผนังเซลล์เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมกับไม่เสริมเอนไซม์พบว่าการเสริมเอนไซม์ทำให้การย่อยได้ของผนังเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (P=0.07) การย่อยได้ของลิกโนเซลลูโลสในทรีทเมนต์ที่มีการเสริมเอนไซม์มีค่าการย่อยได้สูงใกล้เคียงกัน ส่วนทรีทเมนต์ CTL มีการย่อยได้ของเซลลูโลสต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 20.50, 34.22 และ 41.00 เปอร์เซ็นต์ จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการย่อยได้ของลิกโนเซลลูโลสระหว่างการเสริมกับไม่เสริมเอนไซม์ พบว่าการเสริมเอนไซม์ทำให้การย่อยได้ของลิกโนเซลลูโลสสูงขึ้น (P=0.006) สอดคล้องกับการรายงานของ Titi and Tabaa (2004) ที่กล่าวว่า แกะที่ได้รับอาหารเสริม cellulase มีการย่อยได้ของ DM, OM, CF, NDF และADF เพิ่มขึ้น (P<0.05) McAllister *et al.* (2001) ได้ให้ข้อสังเกตว่า การเสริมเอนไซม์ในอาหารอาจทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของอาหารโดยทำให้เกิดการปลดปล่อย reducing sugar จากวัตถุดิบอาหารก่อนที่สัตว์จะได้รับอาหารนั้น อาจทำให้การย่อยในกระเพาะรูเมนเพิ่มสูงขึ้น หรืออาจเกิดการย่อยของอาหารก่อนถึงกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้น

จากตารางที่ 8 ผลการทดลองในแกะพบว่าค่าการย่อยได้ของ CP เท่ากับ 65.56, 73.76 และ 77.38 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มทดลอง CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ การเสริมเอนไซม์รวม CF ทำให้การย่อยได้ของ CP สูงสุด ค่าการย่อยได้ของ DM เท่ากับ 59.11, 70.20 และ 74.52 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มทดลอง CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ การย่อยได้ของ DM สูงที่สุด (P<0.05) เกิดขึ้นในแกะที่ได้รับการเสริมเอนไซม์รวมในทรีทเมนต์ 50CF การตอบสนองต่อการย่อยได้ที่สูงกว่าของการ

เสริมเอนไซม์รวม CF อาจเนื่องมาจากเอนไซม์รวม CF ประกอบด้วย protease ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสารโปรตีนรวมอยู่ด้วยในขณะที่เอนไซม์รวม NZ ไม่มี protease นอกจากนี้แล้วเอนไซม์รวม CF ยังประกอบด้วย cellulase, amylase, lipase และ pectinase ส่วนเอนไซม์รวม NZ มี ∝-amylase, β-glucanase, xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ซึ่งมีความเจาะจงต่อบางตำแหน่งในโครงสร้างของ cellulose เท่านั้น CMC – ase เป็น cellulase ที่ย่อยสลาย cellulose ได้เฉพาะที่ตำแหน่ง Carboxymethyl Cellulose ในขณะที่ cellulase ที่อยู่ในเอนไซม์รวม CF เป็นชนิดรวมสามารถย่อย cellulose ได้หลายตำแหน่ง

Nsereko *et al.* (2002) กล่าวว่า การเสริมเอนไซม์ที่ผลิตจาก *Trichoderma longibrachi* ในอาหารโคนม ทำให้จำนวนแบคทีเรียในของเหลวในกระเพาะรูเมนมีจำนวนเพิ่มขึ้น และการเสริมเอนไซม์ที่ระดับปานกลางในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องส่งผลดีต่อการทำให้โครงสร้างที่ผิวนอกของอาหารแตกออกและเกิดการย่อยหลังจากนี้ ประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารขึ้นอยู่กับความซับซ้อนของวัตถุดิบอาหาร เช่น ข้าวโพดจะมี protein matrix ล้อมรอบบริเวณผิวหน้าของเม็ดแป้งในเมล็ดข้าวโพด (McAllister *et al*., 1993) ดังนั้น การเสริมเอนไซม์เพื่อเพิ่มการย่อยได้ของข้าวโพดควรใช้เอนไซม์ที่มีส่วนประกอบของ protease ที่สามารถย่อย protein matrix เพื่อให้น้ำย่อยที่อยู่ในกระเพาะรูเมนหรือน้ำย่อยที่ร่างกายผลิตขึ้นมาสามารถเข้าไปย่อยแป้งได้ การเสริม amylase โดยที่ไม่มี protease ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีข้าวโพดเป็นวัตถุดิบอยู่ อาจไม่สามารถทำให้การย่อยได้เพิ่มขึ้น ในข้าวฟ่างสิ่งที่ขัดขวางการย่อยของจุลินทรีย์ ได้แก่ silica, wax และ cutin อย่างไรก็ตามวัตถุดิบที่เป็นธัญพืชที่ยังไม่ผ่านกระบวนการที่ทำให้โครงสร้างภายนอกแตกออกจะเป็นตัวจำกัดการย่อยได้ของธัญพืช (Wang *et al*., 1998) ดังนั้นเอนไซม์รวมที่ประกอบขึ้นควรให้มีเอนไซม์ชนิดที่มีคุณสมบัติในการย่อยสิ่งที่เป็นตัวจำกัดการย่อยได้ของวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดด้วย

การเสริมเอนไซม์ในอาหาร สามารถทำให้การปลดปล่อยน้ำตาลที่อยู่ในวัตถุดิบอาหารเกิด ขึ้นก่อนที่สัตว์ได้รับอาหาร (Beauchemin and Rode, 1996) ปริมาณการปลดปล่อยน้ำตาลออกมาขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารหรือวัตถุดิบและชนิดของเอนไซม์ เช่น การเสริมเอนไซม์ในหญ้าแห้งอาจ ให้ผลที่ดีมากกว่าการเสริมเอนไซม์ในหญ้าหมักที่เปียก เอนไซม์ที่เสริมในอาหารเมื่ออยู่ในกระเพาะรูเมนสามารถเพิ่มการย่อยได้โดยการเพิ่ม hydrolysis ของวัตถุดิบอาหาร (Feng *et al*., 1996) จากการทดลองใช้เอนไซม์ปริมาณที่ระดับ 400 กรัม/วัน ใส่ในกระเพาะรูเมนโดยตรง พบว่าทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ cellulase ในส่วนของลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น(Hristovet *et al*., 2000) เอนไซม์บางส่วนที่เสริมในอาหารจะไหลผ่านไปพร้อมส่วนที่เป็นของเหลวในกระเพาะรูเมนรอดพ้นการถูกยับยั้งโดยระดับ pH ที่ต่ำและ pepsin ในส่วนของ abomasum

1.2 ไนโตรเจน เมทาบอลิซึม จากการใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารผสมสำเร็จรูป TMR

จากผลการทดลองในตารางที่ 8 พบว่าปริมาณ N ที่ได้รับของแต่ละกลุ่มมีปริมาณใกล้เคียงกันโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.07 ± 1.10 กรัม/วัน ปริมาณการขับถ่าย N ในมูลต่อวัน ในแกะกลุ่มควบคุมมีปริมาณการขับถ่าย N ในมูลสูงกว่าแกะกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ ($P<0.001$) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.17, 5.30 และ 5.13 กรัม/วัน จากกลุ่มทดลอง CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ การสะสม N ในร่างกายเท่ากับ 8.47, 8.84 และ 11.42 กรัม/ตัว/วัน ในกลุ่มทดลอง CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การสะสมไนโตรเจนในร่างกายแกะเท่ากับ 40.59, 44.89 และ 50.41 เปอร์เซ็นต์ จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ แกะกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์การสะสมไนโตรเจนในร่างกายสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมเอนไซม์ ($P=0.09$) Hristov *et al.* (1998) กล่าวว่า การสะสมไนโตรเจนในร่างกายเพิ่มขึ้นเนื่องจากการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะรูเมนเนื่องจากการเสริมเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยเยื่อใยที่ให้ผลผลิตเป็นแหล่งของพลังงานที่มากขึ้นเพื่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน เอนไซม์รวมที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ชนิด NZ ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยเยื่อใยได้แก่ cellulase ชนิด (C1 – ase) กับ (CMC – ase) และ xylanase ส่วน CF มีเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยเยื่อใยได้แก่ cellulase และ pectinase นอกจากนี้ยังมี protease รวมอยู่ด้วย ซึ่งเอนไซม์ที่เสริมในการทดลองครั้งนี้ทำให้มีการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้น ดังนั้นการสะสมไนโตรเจนในร่างกายที่เพิ่มขึ้นอาจมาจากการย่อยได้เพิ่มขึ้นของสารโปรตีนที่มาจากการทำงานร่วม กันระหว่างจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนกับเอนไซม์ที่เสริมลงไปและเอนไซม์ protease ที่ร่างกายสัตว์ผลิตขึ้นมาเอง

Pinos-Rodriguez (2002) ศึกษาหาค่าการย่อยได้ในแกะโดยการใช้ท่อ cannula พบว่าการใช้ fibrolytic enzyme เสริมในอัลฟาฟ่าแห้ง และเสริมในไรกราสแห้งทำให้ ปริมาณไนโตรเจนที่รับ, ไนโตรเจนที่ขับออกในมูล และไนโตรเจนที่สะสมในร่างกาย เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการย่อยได้เพิ่มขึ้นของโปรตีน McAllister *et al.* (2001) กล่าวว่า fibrolytic enzyme ที่เสริมลงในอาหารจะช่วยย่อยพันธะของผนังเซลล์ที่ยึดติดอยู่กับโปรตีนในวัตถุดิบอาหารซึ่งจะส่งผลให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนสามารถเข้าไปย่อยสารโปรตีนได้ง่ายขึ้นทำให้การย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับ Kohn and Allen (1992) กล่าวว่า จากการทดลองในห้องปฏิบัติการการเสริม cellulase ลงในหญ้าแห้งทำให้เอนไซม์ protease สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้มากขึ้นทำให้มีการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้น

1.3 ประสิทธิภาพการผลิต จากการใช้เอนไซม์รวมเสริมในอาหารผสมสำเร็จรูป TMR

จากตารางที่ 9 แสดงประสิทธิภาพการผลิตของแกะทดลองโดยมีน้ำหนักเริ่มต้นการทดลองใกล้เคียงกันเฉลี่ยทั้ง 3 ทรีทเมนต์ เท่ากับ 23 ± 3.54 ก.ก. น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองของแกะภายในทรีทเมนต์ที่ได้รับการเสริมเอนไซม์มีแนวโน้มสูงกว่าแกะทดลองในทรีทเมนต์ที่ไม่ได้รับการเสริมเอนไซม์ (P=0.08) โดยมีน้ำหนักสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ยเท่ากับ 23.00, 26.16 และ 27.33 ก.ก. จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักต่อวันของแกะในทรีทเมนต์ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์มีแนวโน้มการเพิ่มน้ำหนักต่อวันสูงกว่าแกะทดลองที่ไม่ได้รับการเสริมเอนไซม์ (P=0.07) โดยมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 137.25, 147.06 และ 254.90 กรัม/วัน จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ ประสิทธิภาพการใช้อาหารพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยเฉลี่ยเท่ากับ 5.27, 4.93 และ 3.42 จากทรีทเมนต์ CTL, 50NZ และ 50CF ตามลำดับ การเสริมเอนไซม์ทำให้น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันของแกะมีแนวโน้มสูงกว่าการไม่เสริมเอนไซม์ แต่สังเกตได้ว่าแกะกลุ่มที่ได้รับเอนไซม์ CF มีประสิทธิภาพการผลิตที่ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับเอนไซม์ NZ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของเอนไซม์รวม CF ที่ประกอบด้วย cellulase, protease, amylase, lipase และ pectinase ที่มีความหลากหลายต่อการย่อยโภชนะได้มากกว่าเอนไซม์ NZ ซึ่งประกอบด้วย ∝-amylase, β-glucanase, xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ซึ่งมีความเจาะจงต่อบางตำแหน่งในโครงสร้างของ cellulose เท่านั้น

Beauchemin *et al*., (1995) กล่าวว่า ม้าที่ได้รับหญ้าแห้งเสริมเอนไซม์ cellulase มีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการย่อยได้เพิ่มขึ้น Beauchemin *et al*., (1997) รายงานว่าการเสริม fibrolytic enzyme ลงในอาหารข้นทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของโคขุนดีขึ้น 11 เปอร์เซ็นต์ โดยการทดลองนี้ใช้อาหารข้นในอัตราส่วนที่สูง Dong *et al.*, (1995) กล่าวว่าการใช้ cellulase เสริมในอาหารสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของลูกโคนมได้ เนื่องจากโภชนะสามารถถูกนำไปใช้ได้มากขึ้น Titi and Tabba (2004) ทำการทดลองเสริมเอนไซม์ในแกะและแพะในช่วงให้นมสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต 7 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเสริมเอนไซม์ทำให้การเจริญเติบโตของลูกโคเพศผู้เพิ่มขึ้น เนื่องจากสัตว์สามารถนำโภชนะไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น (Lewis *et al*., 1995) มีรายงานว่า ม้าที่ได้รับอาหารเป็นหญ้าแห้งเสริมเอนไซม์ทำให้การเจริญเติบโตและและน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 9 – 30 เปอร์เซ็นต์ (Beauchemin *et al*.,1995) และการใช้เอนไซม์ในอาหารที่มีอัตราส่วนของอาหารข้นสูงก็ให้ผลเช่นกัน (Beauchemin *et al*., 1999a)

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการผลิตในแกะที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 ทรีทเมนต์

	CTL	50NZ	50CF	SEM	*P* – values	*P* – values
						CTL vs ENZ
น้ำหนักเริ่มต้น (ก.ก.)	20.66	23.66	23.00	0.62	0.42	0.41
น้ำหนักสิ้นสุด(ก.ก.)	23.00	26.16	27.33	0.98	0.82	0.08
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น(กรัม/วัน)	137.25	147.06	254.90	31.02	22.06	0.07
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร	5.27	4.93	3.42	0.54	0.56	0.35

SEM: Standard error mean

CTL = กลุ่มควบคุม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

ผลการทดลองที่ 2 ผลของเอนไซม์รวมเสริมในอาหาร TMR ต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุนและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

2.1 ระดับความเป็นกรด – ด่าง (pH) ภายในกระเพาะรูเมน

การเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะรูเมนของสัตว์ทดลองที่ได้รับการเสริมเอนไซม์รวมต่างชนิดในระดับที่ต่างกันในอาหาร TMR พบว่า ระดับความเป็นกรด – ด่างภายในกระเพาะรูเมนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เฉลี่ยเท่ากับ 6.59, 6.66, 6.52, 6.51 และ 6.51 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 เวลาหลังการกินอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด – ด่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อนำของเหลวจากกระเพาะรูเมนมาทำการวัดค่าความเป็นกรด – ด่างในชั่วโมงที่ 0 2 และ 4 หลังการกินอาหาร พบว่าที่ 0 ชั่วโมง (ยังไม่ได้รับอาหารทดลอง) มีค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด – ด่างเท่ากับ 6.72 และที่ 2 ชั่วโมงหลังกินอาหาร ความเป็นกรด – ด่างภายในกระเพาะรูเมนลดลงต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) เฉลี่ยเท่ากับ 6.45 การให้อาหารผสมสำเร็จสามารถช่วยรักษาความเป็นกรด – ด่างภายในกระเพาะรูเมนให้คงที่หรือทำให้ความผันแปรของความเป็นกรด – ด่างภายในกระเพาะรูเมนน้อยกว่าการให้อาหารแบบแยกให้ส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนดีกว่า โดยระดับความเป็นกรด – ด่างภายในกระเพาะรูเมนที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ควรอยู่ที่ระดับ 6.65 (ฉลอง, 2541) Vicini *et al.* (2003) ระดับ pH ในกระเพาะรูเมนจากการใช้ fibrolytic enzyme เสริมในอาหารมี pH อยู่ระหว่าง 5.8 – 6.5 Sutton *et al*. (2003) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภายในรูเมนหลังจากการได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์รวม xylanase และ endoglucanase ที่ระดับการเสริม 1.64 ลิตร/ตัน ของวัตถุแห้ง โดยวิธีการเสริมเอนไซม์ทั้งหมด 3 วิธี ได้แก่ การเสริมเอนไซม์โดยการ spray ลงในอาหารข้น อาหารTMR และการเสริมเอนไซม์ลงในกระเพาะรูเมน ผลการทดลองแสดงพบว่าระดับ pH แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย pH เท่ากับ 5.74

ความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนลดลงต่ำสุดในช่วง 2 – 6 ชั่วโมงหลังกินอาหาร เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเกิดขึ้นจากการหมักย่อยอาหารในปริมาณสูงสุด ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด – ด่างลดลง (เมธา, 2529) หลังจากนั้นระดับกรด – ด่างจะค่อยๆเพิ่มขึ้น (พนัส และคณะ, 2538)

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนหลังกินอาหาร 5 สูตร ที่เวลาต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	6.70	6.80	6.67	6.63	6.80	6.72[a]	0.05
2	6.47	6.50	6.37	6.33	6.57	6.45[b]	0.04
4	6.60	6.67	6.53	6.57	6.66	6.61[a]	0.04
ค่าเฉลี่ย	6.59	6.66	6.52	6.51	6.68		0.03

SEM: Standard error mean

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

พันทิพา (2539) รายงานว่า ค่าความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหารที่เวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงมีระดับปกติอยู่ในช่วง 5.5 – 7.2 บุญล้อม (2541) รายงานว่า ระดับความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนที่ต่ำกว่า 6 ส่งผลเสียต่อจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใยโดยเฉพาะเมื่อมีค่าต่ำกว่า 5.5 และควรรักษาค่าความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนไว้ที่ระดับ 5.8 – 6.5 Preston (1987) รายงานว่า ค่าความเป็นกรด – ด่างในกระเพาะรูเมนมีความสัมพันธ์ต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์กลุ่มที่ทำหน้าที่ย่อยเยื่อใยเจริญและทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 6.2 – 6.8 และมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด – ด่างต่ำกว่า 6 ส่งผลให้การผลิตกรดไขมันระเหยง่าย กรดอะซิติกลดลง ส่วนจุลินทรีย์ที่ย่อยแป้งเจริญได้ดีที่ค่าความกรด – ด่างประมาณ 5.2 – 6 ทำให้มีสัดส่วนของกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้น

2.2 ปริมาณแอมโมเนีย–ไนโตรเจน (NH_3-N) ภายในกระเพาะรูเมน

ปริมาณแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนในโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหาร TMR ทั้ง 5 ทรีทเมนต์ พบว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนที่เวลา 0 ชั่วโมง (ก่อนได้รับอาหาร) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่เวลาที่ 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหารปริมาณ

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11 โดยเฉลี่ยแล้วที่เวลา 2 ชั่วโมง กลุ่มโคที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนสูงสุดใกล้เคียงกันคือกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ 50CF 25CF และ 50NZ รองลงมาคือกลุ่ม 25NZ และ CTL โดยมีค่าเท่ากับ 89.33, 87.33, 85.33, 73.67 และ 66.66 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหาร กลุ่มโคที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนสูงสุดใกล้เคียงกันคือกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ 50CF 25CF และ 50NZ รองลงมาคือกลุ่ม 25NZ และCTL โดยมีค่าเท่ากับ 78.67, 77.67, 74.67, 64.33 และ 53.33 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

เอนไซม์รวม CF ที่เสริมลงไปทั้ง 2 ระดับนั้น อาจเป็นระดับที่เหมาะสมทั้ง 2 ระดับพอที่จะทำให้ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะรูเมนมีปริมาณสูงสุดใกล้เคียงกันเนื่องมาจากเอนไซม์รวม CF มี cellulase และ protease ที่ช่วยทำให้การย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเอนไซม์ NZ ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ส่งเสริมการย่อยได้ของโปรตีนทางอ้อม ได้แก่ xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ซึ่งมีความเจาะจงต่อบางตำแหน่งในโครงสร้างของ cellulose เท่านั้นไม่มี protease ที่จะทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนโดยตรงอย่างในเอนไซม์รวม CF ดังนั้นการเสริม NZ ที่ระดับสูงคือ ระดับ 50 กรัม/100 กิโลกรัมอาหาร จึงจะสามารถทำให้ความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนมีปริมาณเท่ากับการเสริมเอนไซม์ CF ทั้ง 2 ระดับ ส่วนการเสริม NZ ที่ระดับต่ำคือระดับ 25 กรัม/100 กิโลกรัมอาหาร อาจเป็นระดับที่ต่ำเกินไปไม่เพียงพอต่อการทำให้ความเข้มข้นของของแอมโมเนีย–ไนโตรเจนที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะรูเมนมีปริมาณสูงสุดใกล้เคียงทรีทเมนต์ 50NZ, 25CF และ 50CF

การเสริมเอนไซม์ในอาหารในระดับสูงเกินไปอาจทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ต่ำลงและระดับสูงสุดของเอนไซม์ที่สามารถเสริมลงในอาหารนั้น ขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ส่วนการตอบสนองที่ต่ำในการเสริมเอนไซม์ที่ระดับต่ำอาจเนื่องมาจากปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารนั้นน้อยเกินไป (Beauchemin *et al*., 1995) มีการคาดการณ์ว่าการเสริมเอนไซม์ในปริมาณที่พอเหมาะในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นเอนไซม์ช่วยทำให้โครงสร้างที่ผิวหน้าของอาหารแต่ละชิ้นแตกออกทั้งก่อนและหลังจากที่สัตว์ได้กินอาหาร แต่เมื่อมีการเสริมเอนไซม์ในอาหารในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้โครงสร้างผิวหน้าของอาหารแตกออกได้ลดลง เนื่องจากเอนไซม์ที่เสริมในปริมาณที่มากเกินไปนั้นจะไปยึดติดผิวหน้าของอาหารมากเกินไปทำให้จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนถูกจำกัดการสัมผัสกับอาหารจึงทำให้การย่อยได้ของอาหารลดลง (Beauchemin *et al*., 2003)

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ระดับการให้อาหารความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนอาหาร แหล่งของคาร์โบไฮเดรต การย่อยได้ของอาหาร และความถี่ของการให้อาหาร เป็นต้น โดยปริมาณแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 50 – 80 มิลลิกรัมต่อลิตร (Satter and Slyter, 1974) ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนที่ต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จะทำให้สัตว์มีปริมาณการกินได้ลดลง (Leng *et al*., 1994)

Pinos-Rodrı´guez (2002) ได้ทดลองเสริม fibrolitic enzyme ในอาหารทดลองพบว่าการเสริมเอนไซม์มีผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร แสดงถึงการย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นของโปรตีน แต่อย่างไรก็ตามยังขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารคือต้องมีสารตั้งต้นที่ตรงกับชนิดของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารด้วย Beauchemin *et al*. (1999) รายงานว่า ความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มขึ้นในอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์เป็นสิ่งสำคัญที่ส่งผลให้มีการใช้ปริมาณแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนเพิ่มขึ้นทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตมากขึ้น โชคชัย (2536) รายงานว่า โคทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการย่อยได้ของโปรตีนสูงมีปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนสูงกว่าโคที่มีการย่อยได้ของโปรตีนในระดับปานกลางและต่ำ

เวลาหลังการกินอาหารมีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจน เมื่อนำของ เหลวจากกระเพาะรูเมนมาหาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนชั่วโมงที่ 0, 2 และ 4 หลังการกินอาหาร พบว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ 2 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนสูงสุดรองลงมาคือชั่วโมงที่ 4 และ 0 (ยังไม่ได้รับอาหารทดลอง) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 80.47, 69.73 และ 31.53 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ พนัส และคณะ (2538) ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนลดลงหลังจากที่เพิ่มขึ้นสูงสุดแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนมีการใช้แอมโมเนีย – ไนโตรเจนเพื่อนำไปสร้างเป็นจุลินทรีย์โปรตีน

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนีย–ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนของโคเนื้อขุนหลังกินอาหาร 5 สูตรที่เวลาต่างกัน (มิลลิกรัม/ลิตร)

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	30.33	30.33	31.67	33.33	32.00	31.53 ^{c}	0.25
2	66.66^{ก}	73.67^{ข}	85.33^{ก}	87.33^{ก}	89.33^{ก}	80.47 ^{a}	0.24
4	53.33^{ก}	64.33^{ข}	74.67^{ก}	77.67^{ก}	78.67^{ก}	69.73 ^{b}	0.27
ค่าเฉลี่ย	50.11	56.11	63.89	66.11	66.67		0.34

SEM: Standard error mean

$^{ก, ข, ก}$ อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

$^{a, b, c}$ อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.3 ปริมาณการเกิดกรดอะซีติก (Acetic acid)

ปริมาณกรดอะซิติคที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะรูเมนของโคขุนที่ได้รับอาหารทดลอง TMR ที่มีการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณของกรดอะซิติค เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 62.62 – 65.03 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 12 นอกจากนี้ ช่วงเวลาหลังการกินอาหารที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ 0 ชั่วโมงหลังการกินอาหารมีปริมาณกรดอะซิติคต่ำสุดและจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ 2, 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหาร เฉลี่ยเท่ากับ 61.22, 62.95 และ 67.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดอะซิติคภายในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	60.03	60.18	61.83	61.97	62.08	61.22[c]	0.45
2	62.03	62.18	63.17	63.97	63.42	62.95[b]	0.38
4	65.81	67.91	67.25	67.46	69.58	67.60[a]	0.57
ค่าเฉลี่ย	62.62	63.43	64.08	64.47	65.03		0.49

SEM: Standard error mean

[a, b, c] อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.4 ปริมาณการเกิดกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid)

ปริมาณกรดโพรพิโอนิคที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะรูเมนของโคขุนที่ได้รับอาหารทดลอง TMR ที่มีการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณของกรดโพรพิโอนิค เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 16.30 – 19.57 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 13 นอกจากนี้ ระยะเวลาหลังการกินอาหารที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ 0 ชั่วโมง หลังการกินอาหารจะมีปริมาณกรดโพรพิโอนิคต่ำสุด และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 2 ชั่วโมง หลังการกินอาหาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยปริมาณกรดโพรพิโอนิกที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหาร เท่ากับ 18.19, 20.98 และ 19.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยปริมาณโพรพิโอนิคภายในกระเพาะรูเมนภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	18.13	18.37	18.30	18.41	17.72	18.19[c]	0.14
2	20.84	20.99	21.01	20.75	21.29	20.98[a]	0.15
4	18.94	19.36	19.15	19.13	19.11	19.14[b]	0.13
ค่าเฉลี่ย	19.30	19.57	19.49	19.43	19.38		0.19

SEM: Standard error mean

[a, b, c] อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.5 ปริมาณการเกิดกรดบิวทีริก (Butyric acid)

โคขุนที่ได้รับอาหารทดลอง TMR ที่มีการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ ทั้ง 5 ทรีทเมนต์ และช่วงเวลาหลังการกินอาหาร พบว่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดบิวทิริกภายในกระเพาะรูเมนของโคเนื้อขุน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณการเกิดกรดบิวทีริกอยู่ระหว่าง 12.06 – 12.58 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยปริมาณบิวทิริคภายในกระเพาะรูเมน ภายหลังการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์)

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	12.04	11.83	12.03	12.31	12.09	12.06	0.16
2	12.42	12.58	12.55	12.71	12.54	12.56	0.19
4	12.53	12.61	12.69	12.84	12.25	12.58	0.20
ค่าเฉลี่ย	12.33	12.34	12.42	12.62	12.29		0.11

SEM: Standard error mean

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนย่อยสลายอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนให้ได้เป็นกรดไขมันระเหยได้ ที่สำคัญมี 3 ชนิด คือ กรดอะซีติก, กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก กรดเหล่านี้ถูกดูดซึมที่ผนังกระเพาะเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อสัตว์นำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งของพลังงานและเพื่อสร้างสารอื่นในร่างกาย (บุญล้อม, 2542) ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะรูเมนของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 ทรีทเมนต์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณกรดอะซิติคมีค่าเฉลี่ย 62.62 – 65.03, กรดโพรพิโอนิก 16.30 – 19.57 และกรดบิวทีริก 12.06 – 12.58 เปอร์เซ็นต์ การเสริม fibrolytic enzyme ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติค กรดโพรพิโอนิค และกรดบิวทิริค แต่การเปลี่ยนแปลงของการหมักภายในกระเพาะรูเมนขึ้นอยู่กับลักษณะของอาหารที่ให้ว่าจะเป็นหญ้าแห้งหรืออาหารข้น (Sutton, 1988) Sutton *et al*. (2003) ใช้เอนไซม์รวม (xylanase และ endoglucanase) เสริมที่ระดับ1.64 ลิตร/ ตัน ของวัตถุแห้ง โดยวิธีการสเปรย์ในอาหาร TMR อาหารข้น และเสริมลงในรูเมนโดยตรง พบว่ามีปริมาณการเกิดกรดอะซิติค, โพรพิโอนิค และบิวทีริกเฉลี่ยเท่ากับ 56.8, 25.8 และ 12.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปริมาณของกรดอะซิติคที่ต่ำและปริมาณของโพรพิโอนิคที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากระดับ pH เท่ากับ 5.74 ซึ่งระดับ pH ที่ต่ำกว่า 6 ส่งผลให้การผลิตกรดไขมัน

ระเหยง่ายกรดอะซิติก ลดลง ส่วนจุลินทรีย์ที่ย่อยแป้งเจริญได้ดีที่ค่า pH ประมาณ 5.2 – 6 ทำให้มีสัดส่วนของกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้น

ปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย ได้แก่ กรดอะซิติค, กรดโพรไพโอนิค และกรดบิวทิริค ในแต่ละสูตรอาหารทดลองที่ชั่วโมง 0, 2 และ 4 หลังจากกินอาหาร พบว่า กรดอะซิติคเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 4 หลังจากที่โคได้รับอาหารทดลอง ส่วนกรดโพรพิโอนิคมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ชั่วโมง 2 หลังจากโคกินอาหารกินอาหาร ซึ่งที่ชั่วโมงที่ 2 เป็นช่วงที่ระดับ pH ลดลงต่ำสุด เท่ากับ 6.45±0.04 ดังแสดงในตารางที่ 10 กระบวนการหมักของคาร์โบไฮเดรตจะทำให้มีกรดเพิ่มขึ้น ระดับ pH จึงต่ำลง (ศรีสกุล และรณชัย, 2539) เมธา (2533) รายงานว่า การหมักในระยะแรกเป็นการหมักอาหารที่ย่อยง่าย เช่น น้ำตาล ระยะต่อมาเป็นการย่อยพวกโปรตีนที่ละลายง่าย ส่วนการย่อยพวกเยื่อใยนั้นจะเกิดในระยะหลังและนานกว่า มีช่วงตั้งแต่ 2 – 24 ชั่วโมง ทิพย์วดี (2549) กรดโพรพิโอนิคเพิ่มสูงที่ชั่วโมงที่ 2 เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย เช่น แป้ง น้ำตาล เป็นต้น ถูกย่อยสลายได้ก่อน ส่วนอะซิติกที่มีค่าสูงที่ชั่วโมงที่ 4 เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ยาก เช่น พวกเยื่อใย เมธา (2533) รายงาน รูปแบบการหมักจะเกิดขึ้นเนื่องจากผลทางอาหารคือ กรดแลกติคมีความเข้มข้นสูงสุดเร็วกว่ากรดตัวอื่น โดยเฉพาะเกิดจากอาหารข้นพลังงาน หลังจากนั้นแลกเตทจะถูกเมทตาโบไลซ์ต่อได้โพรพิโอนิค ระดับของกรดโพรพิโอนิคสูงขึ้นในขณะที่แลกเตทลดลง

2.6 ระดับยูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN)

ปริมาณ BUN ที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงหลังการกินอาหารปริมาณ BUN ของโคทั้ง 5 กลุ่มทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่เวลา 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหาร พบว่าปริมาณ BUN มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 15 โดยเฉลี่ยแล้วที่เวลา 4 ชั่วโมง โคทดลองกลุ่ม 50CF มีปริมาณ BUN สูงสุด รองลงมาคือกลุ่ม 25CF 50NZ และ 25NZ ส่วนโคกลุ่ม CTL มีปริมาณ BUN ต่ำที่สุดเท่ากับ 23.53, 22.6, 21.71, 20.48 และ17.92 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณเฉลี่ยของ BUN แต่ละทรีทเมนต์แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยโคทดลองกลุ่ม 50CF มีปริมาณ BUN สูงสุด รองลงมาคือกลุ่ม 25CF 50NZ และ25NZ ส่วนโคกลุ่ม CTL มีปริมาณ BUN ต่ำที่สุดเท่ากับ 19.91, 19.06, 18.36, 16.91 และ 15.37 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์สอดคล้องกับปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมน เท่ากับ 66.67, 66.11, 63.89, 56.11 และ 50.11 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นและลดลงของปริมาณยูเรียในเลือด (Claypool *at al*., 1980) ปริมาณแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนและยูเรียในเลือดจะเพิ่มขึ้น

สอดคล้องกันในแต่ละระดับการย่อยได้ของโปรตีน โดยปริมาณยูเรียในเลือดและแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนมีค่าสูงในโคที่ได้รับอาหารที่มีการย่อยได้ของอาหารโปรตีนในระดับสูง (โชคชัย, 2536)

ที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการกินอาหารปริมาณไนโตรเจนในเลือดของทรีทเมนต์ 50CF มีความเข้มข้นสูงสุด อาจเป็นผลมาจากการย่อยได้สูงของสารประกอบโปรตีนจากการเสริมเอนไซม์รวม CF ที่ระดับที่เพียงพอที่ทำให้มีการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์รวม CF ประกอบ ด้วย cellulase, protease และ pectinase ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูงกว่าเอนไซม์รวม NZ ที่มีเพียง xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ซึ่งมีความเจาะจงต่อตำแหน่งในโครงสร้างของ cellulose เอนไซม์รวม NZ มีเพียงเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยได้ของโปรตีนโดยทางอ้อมเท่านั้น ในขณะที่เอนไซม์รวม CF มี cellulase และ pectinase ที่ทำหน้าที่ช่วยย่อยโดยทางอ้อม และยังมี protease ที่ทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนโดยตรงรวมอยู่ด้วย

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของยูเรียไนโตรเจนในเลือดในแต่ละช่วงเวลา ซึ่งได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดที่เวลา 0 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหาร พบว่า ค่าเฉลี่ยของยูเรียไนโตรเจนในแต่ละช่วงเวลาแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10 ที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการกินอาหารมีค่ายูเรียไนโตรเจนสูงสุด รองลงมาคือที่ชั่วโมง 2 หลังการกินอาหาร ส่วนที่ 0 ชั่วโมง (ยังไม่ได้รับอาหาร) มีค่ายูเรียไนโตรเจนต่ำสุด เท่ากับ 21.25, 19.17 และ 13.35 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณยูเรียในเลือดมีค่าสูงสุดในช่วงประมาณ 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหาร (โชคชัย, 2536; Van soest, 1982) หลังจากนั้นระดับยูเรียในเลือดจะค่อยๆลดลงจนถึงระดับคงที่ (Church, 1975) แอมโมเนียภายในกระเพาะรูเมนที่จุลินทรีย์นำไปใช้ไม่ทันจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนเข้าสู่กระแสเลือดและจะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียอย่างรวดเร็วที่ตับเพื่อลดความเป็นพิษของแอมโมเนีย (Khon, 2007) ยูเรียที่เกิดขึ้นจะเข้าสู่กระแสเลือดส่วนหนึ่งจะถูกนำกลับเข้าสู่กระเพาะรูเมนโดยผ่านทางน้ำลายส่วนหนึ่งจะไปยังไต และถูกขับออกทางปัสสาวะ (เมธา, 2529; บุญล้อม, 2541)

โดยปกติปริมาณยูเรียในเลือดจะอยู่ระหว่าง 10 – 20 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (Jack, 1997) ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณและความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารที่สัตว์ได้รับ(Higginbothum *et al*., 1989) ความเข้มข้นของยูเรียในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องปกติอยู่ระหว่าง 6.3-25.5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ หากมีค่าต่ำกว่านี้แสดงถึงปริมาณแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนที่ไม่เพียงพอแสดงถึงระดับโปรตีนในอาหารไม่เพียงพอ แต่ถ้าหากค่าแอมโมเนีย – ไนโตรเจนสูงกว่านี้จะบ่งบอกถึงปริมาณแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนที่มีเกินความจำเป็นที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ทำให้ปริมาณแอมโมเนีย – ไนโตรเจนมากขึ้น ส่งผลให้ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนใน

กระแสเลือดสูง ผลที่ตามมาคือตับจะมีการสังเคราะห์ยูเรียเพิ่มมากขึ้นทำให้ยูเรียไนโตรเจนในเลือดสูงกว่ามาตรฐาน (Lewis, 1957) การย่อยได้ของแป้งในกระเพาะรูเมนที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ปริมาณแหล่งพลังงานที่จุลินทรีย์ได้รับนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกันไปด้วย แป้งที่ถูกย่อยได้มากจะให้โปรตีนที่สังเคราะห์จากจุลินทรีย์กับตัวสัตว์เคี้ยวเอื้องได้มากตามไปด้วย (เกรียงศักดิ์, 2533)

ตารางที่ 15 ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลอง 5 สูตรที่เวลาต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	10.72	12.22	14.04	15.13	14.30	13.35[b]	0.68
2	17.48	18.03	19.34	19.46	21.55	19.17[a]	0.72
4	17.92[ข]	20.48[กข]	21.71[กข]	22.61[กข]	23.53[ก]	21.25[a]	0.74
ค่าเฉลี่ย	15.37	16.91	18.36	19.06	19.91		0.66

SEM: Standard error mean

[ก, ข] อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[a, b,] อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.7 ระดับกลูโคสในเลือด (BG)

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ที่ช่วงเวลา 0 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการกินอาหาร พบว่า ความเข้มข้นของ BG มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ BG รวมทุกช่วงเวลา พบว่าความเข้มข้นของ BG ในแต่ละทรีทเมนท์แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคับทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ BG ในเลือดอยู่ระหว่าง 62.76 ± 3.54 ถึง 72.42 ± 2.69 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน

ตารางที่ 16 โคเนื้อขุนที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ (50CF) มีค่าตัวเลขแสดงปริมาณ BG สูงกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ เนื่องจากมีการใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ ส่วนโคเนื้อขุนกลุ่มควบคุม (CTL) มีค่าแสดงปริมาณ BG ต่ำสุด ซึ่งปริมาณความเข้ม BG ในเลือดสามารถบอกถึงการใช้ประโยชน์ของพลังงานในสูตรอาหาร (Blowey *et al*., 1973) โดยทั่วไปแล้วสัตว์เคี้ยวเอื้องมีปริมาณกลูโคสในเลือดประมาณ 50 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (Schultz *et al.,* 1988) และมีความต้องการกลูโคสเพื่อดำรงชีพประมาณ 40 – 60 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เนื้อเยื่อทำงานตามปกติ ซึ่งสัตว์เคี้ยวเอื้องจะใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานโดยตรง (เมธา, 2529) สัตว์ที่ได้รับอาหารเพิ่มขึ้นก็จะมีปริมาณกลูโคสในเลือดสูงขึ้นด้วย สัตว์ที่กินอาหารที่มีสารตั้งต้นสำหรับการสร้างกลูโคสในระดับ สูงจะทำให้ปริมาณกลูโคสในเลือดสูงตามไปด้วย (พรศรี, 2531) ปริมาณกลูโคสในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องมาจากการดูดซึมจากลำไส้เล็กซึ่งได้จากการเปลี่ยนแป้งเป็นกลูโคส โดยเอนไซม์จากตัวสัตว์ที่บริเวณลำไส้เล็ก และการสังเคราะห์กลูโคสโดยขบวนการกลูโคนีโอจีนีซิสจากกรดโปรปีโอนิกที่ได้จากการหมักย่อยของคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะหมักซึ่งเกิดขึ้นที่ตับและที่ไตส่วนคอร์เทกส์ (Weekes, 1979)

ระดับกลูโคสในเลือดที่เพิ่มขึ้นหลังจากที่มีการให้อาหารโคขุนทดลองมาจากการย่อยได้ของสารโภชนะประเภทคาร์โบไฮเดรตทั้งที่เป็นโครงสร้างและไม่เป็นโครงสร้าง เอนไซม์รวม NZ ประกอบด้วย ∝ - amylase, β-glucanase, xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ส่วนเอนไซม์รวม CF ประกอบด้วย cellulase, amylase และ pectinase ที่ทำหน้าที่ในการย่อยคาร์โบไฮเดรต แต่จากการทดลองการใช้เอนไซม์รวม NZ และ CF ทั้งระดับต่ำและสูงเสริมลงในอาหารครั้งนี้ไม่มีผลทำให้ระดับของกลูโคสในเลือดของโคขุนทดลองแตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลองการย่อยได้ในการทดลองที่ 1 พบว่า การเสริมเอนไซม์รวมทั้ง NZ และ CF ช่วยให้มีการย่อยได้เพิ่มของวัตถุแห้ง, ผนังเซลล์ และลิกโนเซลลูโลส แต่ระดับการย่อยได้ที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่ส่งผลต่อความแตกต่างของระดับกลูโคสในเลือดระหว่างกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเอนไซม์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากค่าเข้มข้นของของ BG ในเลือดถูกควบคุมให้อยู่ในระดับปกติ โดยฮอร์โมนอินซูลินและกลูคากอนที่สร้างจากตับอ่อน (เมธา, 2529) จึงทำให้ระดับของกลูโคสในเลือดของโคขุนทดลองอยู่ในระดับปกติที่ไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรวมทุกทรีทเมนต์ในแต่ละชั่วโมงที่ได้ทำการทดลองตรวจวัดปริมาณเข้มข้นของ BG ในเลือด พบว่า ค่าเฉลี่ยของ BG ในแต่ละชั่วโมงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการกินอาหารมีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ BG ในเลือดสูงสุด รองลงมาคือ ที่ชั่วโมงที่ 2 หลังการกินอาหาร และที่ชั่วโมงที่ 0 ยังไม่ได้กินอาหารจะมีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ BG ต่ำสุด เท่ากับ 76.55, 69.08 และ 60.41 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการ

ทดลองตรวจวัดปริมาณความเข้มข้นของ BG ในเลือดพบว่า หลังจากที่โคกินอาหาร 4 ชั่วโมงเป็นช่วงที่มีปริมาณ BG สูงที่สุด (Mahardik *et al*., 2000)

ตารางที่ 16 ค่ากลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ของโคเนื้อขุนที่ได้รับอาหารทดลอง 5 สูตร ที่เวลาต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	ค่าเฉลี่ย	SEM
0	52.37	59.47	59.57	65.40	65.23	60.41[c]	2.17
2	64.63	65.50	70.17	71.30	73.80	69.08[b]	1.68
4	75.67	75.33	76.27	77.23	78.23	76.55[a]	1.78
ค่าเฉลี่ย	62.76	66.77	68.67	71.31	72.42		1.42

SEM: Standard error mean

[a, b, c] อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.8 การกินได้และประสิทธิภาพการผลิตของโคเนื้อขุน

ผลการทดลองพบว่า การกินได้ของวัตถุแห้ง และการเพิ่มน้ำหนักตัว มีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โคทดลองที่ได้รับอาหารสูตร CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีการเพิ่มน้ำหนักตัวเฉลี่ยตลอดระยะการทดลองเท่ากับ 1.34, 1.42, 1.35, 147 และ 1.44 กิโลกรัม ต่อ วัน และกินอาหารได้เท่ากับ 9.10, 9.98, 8.96, 9.99 และ 8.92 กิโลกรัม ต่อวันของวัตถุแห้ง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 17 โคขุนทรีทเมนต์ที่ได้รับ 25CF มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและการกินได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน ผนังเซลล์ และลิกโนเซลลูโลส สูงกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องจากอาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหาร TMR สูตรเดียวกัน มีแตกต่างกันที่ชนิดและ

ระดับการเสริมเอ็นไซม์ซึ่งไม่ได้ทำให้ลักษณะทางกายภาพของอาหารทดลองแต่ละทรีทเมนต์แตกต่างกัน จึงไม่มีผลต่อความแตกต่างของปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งและโภชนะอื่นๆ Allen (2000) สรุปปัจจัยที่มีผลต่อการกินได้ของวัตถุแห้งที่แตกต่างกันจากงานวิจัยจำนวน 15 งาน ว่าการที่ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งลดลงนั้นเกี่ยวข้องกับ ขนาดเม็ดอาหาร(particle size) ขนาดอาหารที่เล็กจะไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมนได้เร็วกว่าอาหารที่มีขนาดใหญ่ระดับการกินได้เพิ่ม ขึ้นและส่งผลต่อทำให้อาหารถูกย่อยได้น้อยลง จากการเปรียบเทียบการย่อยได้ของผนังเซลล์ที่อยู่ในพืชตระกูลถั่วกับผนังเซลล์ที่อยู่ในหญ้า พบว่า หญ้ามีการย่อยได้ของผนังเซลล์สูงกว่าพืชตระกูลถั่วเนื่องจากพืชตระกูลถั่วมีขนาดสั้นและหักง่ายกว่าหญ้าจึงทำให้ไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมนได้เร็วกว่าหญ้า อัตราการไหลผ่าน (rate of passage) เมื่อระดับการกินได้เพิ่มขึ้นทำให้อาหารถูกย่อยได้น้อยลงทั้งนี้เป็นผลมาจากระดับการกินได้ที่เพิ่มขึ้นไปเพิ่มอัตราการไหลผ่านให้เร็วขึ้นทำให้อาหารมีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะ rumen สั้นลงจุลินทรีย์เข้าย่อยสลายอาหารได้น้อยลง สัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้น (forage : concentrate ratio) โคนมที่ได้รับอาหารข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งและการย่อยได้ของเยื่อใยน้อยกว่าโคนมที่ได้รับอาหารข้น 40 หรือ 60 เปอร์เซ็นต์ ผลการเสริม fibrolytic enzyme ในอาหารข้นที่มีการใช้ข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนประกอบพื้นฐาน และโคเนื้อได้รับอาหารหยาบโดยใช้บาร์เลย์หมัก พบว่า การเสริมเอนไซม์ไม่มีผลต่อความแตกต่างของปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง แต่ประสิทธิภาพการใช้อาหารของโคเนื้อในกลุ่มที่มีการเสริมเอนไซม์ดีขึ้นและการเพิ่มน้ำหนักต่อวันเพิ่มสูงขึ้น 6 – 9 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับของเอ็นไซม์ที่เสริมลงไปใน อาหาร (Beauchemjn *et al*. 1997; Iwaasa *et al*. 1997)

การขุนในช่วงแรกคือในช่วงเดือนที่ 1 และ เดือนที่ 2 พบว่าประสิทธิภาพการผลิตของโคขุนกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ดีกว่าการขุนโดยไม่มีการเสริมเอนไซม์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวในช่วงเดือนที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 1.68, 2.09, 1.87, 1.90 และ 2.26 กรัม/วัน ในช่วงเดือนที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 1.44, 1.60, 1.62, 1.74 และ 1.61 กรัม/วัน และมีประสิทธิภาพการใช้อาหารในช่วงเดือนที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 5.02, 4.72, 4.82, 4.53 และ 4.37 ในช่วงการขุนเดือนที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 6.21, 6.21, 5.76, 5.88 และ 5.47 จากกลุ่มการทดลอง CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ 50CF ตามลำดับ เนื่องจากโคเนื้อขุนก่อนที่นำเข้ามาขุนได้รับซื้อมาจากเกษตรกรที่เลี้ยงแบบปล่อยซึ่งอาหารที่โคได้รับจึงมีคุณภาพต่ำและไม่เพียงพอต่อประสิทธิภาพการผลิตของร่างกาย ดังนั้นระยะแรกของการขุนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเดือนแรกที่ทำการขุนโคทดลองได้รับอาหารที่มีคุณภาพดีอย่างเต็มที่ทำให้แสดงประสิทธิภาพการผลิตที่ดีที่สุดออกมาในช่วงของการขุนในช่วงแรก และการตอบสนองที่ดีกว่าของสมรรถภาพการผลิตในช่วงแรกของการขุนในกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ในอาหาร เนื่องจากร่างกายโคทดลองก่อนที่จะทำการขุนนั้นมีสภาพผอมขาด

สมดุลของโภชนะที่ร่างกายต้องการ Beauchemin et al. (2003) แต่การย่อยได้รวมลดลงตามระดับการเสริมที่เพิ่มขึ้นจึงไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตน้ำนม ซึ่งการเสริมเอนไซม์ในระดับที่สูงในสัตว์ที่อยู่ในภาวะสมดุลพลังงานเป็นบวกไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต แต่เอนไซม์จะให้ผลตอบสนองได้ดีในกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตสูงเช่น ระยะแรกคลอด ที่มีการกินได้ต่ำ มีความสมดุลของพลังงานเป็นลบ โดยเฉพาะปริมาณของ NDF ซึ่งเป็นตัวจำกัดในการกินได้และสัมพันธ์กับการย่อยได้ของอาหาร การเสริมเอนไซม์ ทำให้การย่อยเยื่อใยได้มากขึ้นจึงส่งผลต่อความสมดุลของพลังงานเพิ่มมากขึ้น การตอบสนองต่อสมรรถภาพการผลิตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเอนไซม์ NZ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ของโคขุนกลุ่มที่ได้รับเอนไซม์รวม CF ทั้ง 2 ระดับ เนื่องจากเอนไซม์รวม CF ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสารอาหารได้หลายชนิดกว่าได้แก่ CF โดยประกอบด้วย cellulase, protease, amylase, lipase และ pectinase ในขณะที่เอนไซม์รวม NZ ประกอบด้วยกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเพียงอย่างเดียว ได้แก่ ∝-amylase, β-glucanase, xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase)

โคทดลองที่ได้รับอาหารสูตร CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีประสิทธิภาพการใช้อาหารของแต่ละทรีทเมนต์เฉลี่ยตลอดระยะการทดลองเท่ากับ 7.01, 7.02, 6.70, 6.81 และ 6.18 ตามลำดับ โคขุนทดลองทรีทเมนต์ 50CF มีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ 25CF, 50NZ, CTL และ 25NZ ตามลำดับ เนื่องจากเอนไซม์กลุ่ม CF มีเอนไซม์กลุ่ม fibrolytic enzyme, protease, amylase และ lipase เป็นองค์ประกอบ แต่เอนไซม์กลุ่ม NZ ประกอบด้วยเอนไซม์ Alfa – amylase, B – glucanase และfibrolytic enzyme ที่มี cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของเซลลูโลสที่เป็นเป้าหมายในการย่อยมากกว่าเอนไซม์ cellulase ที่ประกอบอยู่ในเอนไซม์รวม CF ซึ่งมีเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน และไขมันรวมอยู่ด้วย จึงทำให้ทรีทเมนต์ 50CF, 25CF มีการย่อยได้ของโภชนะต่างๆเพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของโคทดลองกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์รวม CF ดีกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) Iwaasa *et al.* (1997) พบว่า โคเนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์มีการย่อยได้ในของวัตถุแห้งเพิ่มสูงขึ้น 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของโคขุนดีขึ้น 6 – 12 เปอร์เซ็นต์ มีรายงานการใช้เอนไซม์รวมที่ประกอบด้วย xylanase กับ cellulase ร่วมกับเอนไซม์ cellulase เพียงอย่างเดียวผสมในอาหารโคเนื้อ ซึ่งอาหารที่ใช้ทดลองเป็นถั่วลูเซอร์นแห้งและธิโมทีแห้ง พบว่า การเสริมเอนไซม์สามารถทำให้การเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันของโคเนื้อเพิ่มสูงขึ้น 30 และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่พบว่าไม่มีผลทำให้การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวต่อวันสูงขึ้นเมื่อมีการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารที่มีข้าวบาร์เลย์หมัก เนื่องจากความแตกต่างของสารโภชนะที่อยู่ในวัตถุดิบอาหารซึ่งในข้าวบาร์เลย์มีองค์ประกอบของผนัง

เซลล์รวมอยู่มากกว่า และมีระดับโปรตีนที่ต่ำกว่าอาหารที่ใช้ทดลองเป็นถั่วลูเซอร์นแห้งและธิโมทีแห้ง (Beauchemin *et al*. 1995) การทำปฏิกิริยาของเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้น ดังนั้นจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยให้เหมาะสมกับชนิดวัตถุดิบอาหารที่ต้องการให้เกิดการย่อย (Gashe, 1992)

ตารางที่ 17 น้ำหนัก การกินได้ และประสิทธิภาพการผลิตของโคเนื้อขุน

	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	SEM
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม)	362.25	363.75	361.38	366.63	347.00	6.22
น้ำหนักสิ้นสุด(ก.ก.)						
เดือนที่ 1	412.75	431.00	421.75	423.00	414.25	15.6
เดือนที่ 2	453.12	464.25	462.63	470.88	452.50	7.26
เดือนที่ 3	482.75	491.75	482.50	498.25	476.38	7.45
น้ำหนักที่เพิ่ม(กรัม/วัน)						
เดือนที่ 1	1.68	2.09	1.87	1.90	2.26	0.17
เดือนที่ 2	1.44	1.60	1.62	1.74	1.61	0.49
เดือนที่ 3	1.34	1.42	1.35	1.47	1.44	0.04
การกินได้ (กรัม/วัน)						
วัตถุแห้ง	9.10	9.98	8.96	9.99	8.92	0.26
อินทรียวัตถุ	7.39	8.09	7.26	8.11	7.23	0.21
โปรตีน	1.48	1.63	1.46	1.63	1.46	0.05
ผนังเซลล์	3.46	3.80	3.39	3.81	3.38	0.10
ลิกโนเซลลูโลส	2.43	2.66	2.38	2.67	2.38	0.07
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร						
เดือนที่ 1	5.02	4.72	4.82	4.53	4.37	0.30
เดือนที่ 2	6.21	6.21	5.76	5.88	5.47	0.15
เดือนที่ 3	7.01	7.02	6.70	6.81	6.18	0.60

SEM: Standard error mean

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

2.9 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ผลการใช้เอนไซม์รวม SELFEED – NZ® (NUZYME) และ SELFEED – CF®เสริมในอาหารผสมสำเร็จเพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารต่อต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของโคขุนทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 18 โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.9.1 ต้นทุนการผลิต

2.9.1.1 ค่าพันธุ์โค โคพันธุ์ลูกผสมบรามันห์พื้นเมืองเพศผู้ราคากิโลกรัมละ 48 บาท โคในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีน้ำหนักเริ่มต้นทดลองเฉลี่ย 362.25 ± 26.82, 363.75 ± 29.51, 361.38 ± 26.90, 366.63 ± 24.87 และ 347.00 ± 40.77 กิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 17 คิดเป็นค่าพันธุ์โคเท่ากับ 15576.75, 15641.25, 15539.13, 15764.88 และ 14921.00 บาท ตามลำดับ โดยมีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 18

2.9.1.2 ค่าอาหารผสมเสร็จ อาหารผสมเสร็จเมื่อเริ่มต้นการทดลองเดือน มกราคม 2550 อาหารในทรีทเมนต์ที่มีการเสริมเอนไซม์มีราคาเพิ่มขึ้นจากทรีทเมนต์ควบคุมที่ไม่เสริมเอนไซม์ เนื่องจากราคาเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่ใช้ในการทดลองนี้มีราคากิโลกรัมละ 250 บาท หรือเท่ากับ 0.025 บาท/กรัม ทำให้อาหารผสมเสร็จในทรีทเมนต์ที่มีการเสริมเอนไซม์ที่ระดับ 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม มีต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้น 0.625 บาท ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม หรือเท่ากับ 0.00625 บาท ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม ในทรีทเมนต์ที่เสริมเอนไซม์ที่ระดับ 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม มีต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้น 1.25 บาท ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม หรือเท่ากับ 0.0125 บาท ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม ดังนั้นราคาอาหารผสมเสร็จในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีราคาเท่ากับ 4.800, 4.806, 4.813, 4.806 และ 4.813 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ โคขุนทดลองในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 1.34, 1.42, 1.35, 1.47 และ 1.44 กิโลกรัม ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณการกินอาหารในรูปของน้ำหนักสดมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.13, 11.14, 10.01, 11.14 และ 9.95 กิโลกรัม ต่อวัน ตามลำดับ ดังนั้นในแต่ละทรีทเมนต์มีต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เท่ากับ 37.49, 37.64, 36.00, 36.49 และ 33.19 บาท ตามลำดับ ค่าอาหารที่กินทั้งหมดตลอดช่วงระยะการทดลองในแต่ละทรีทเมนต์พบว่า มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่า เฉลี่ยเท่ากับ 4377.24, 4816.82, 4333.54, 4818.87 และ 4310.56 บาท ต่อ ตัว ตามลำดับ

2.9.1.3 ค่าใช้จ่ายอื่นๆ คำนวณจากตารางการประมาณการต้นทุนการเลี้ยงโคขุน ปศุสัตว์(2548) ได้แก่ ค่าแรงงานเท่ากับ 3 บาท/ตัว/วัน ใช้เวลาในการขุนโคทั้งหมด 90 วัน ดังนั้น ค่าแรงงานในการขุนโคเท่ากับ 270 บาท/ตัว ค่าเวชภัณฑ์ 200 บาท/ตัว ค่าขนส่ง 460 บาท/ตัว และ ค่าใช้จ่ายอื่นๆ เช่น ค่าน้ำ ค่าไฟฟ้า ค่าเสื่อมโรงเรือน เท่ากับ 100 บาท/ตัว ดังนั้นรวมค่าใช้จ่ายอื่น ๆ เท่ากับ 1030 บาท/ตัว

ดังนั้น ต้นทุนทั้งหมดในการขุนโคทดลองในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF เฉลี่ยเท่ากับ 20983.99, 21488.07, 20902.66, 2163.74 และ 20261.56 บาท ต่อ ตัว ตามลำดับ ทรีทเมนต์ 50CF มีต้นทุนทั้งหมดต่ำที่สุด รองลงมาคือ 50NZ, CTL, 25NZ และ 25CF ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

2.9.2 รายรับจากการจำหน่ายโคขุน

2.9.2.1 ราคาจำหน่ายโค จำหน่ายโคขุนในรูปของน้ำหนักซากโดยมีราคาซาก 90 บาท ต่อ กิโลกรัม ในกรณีที่ซากมีน้ำหนักมากกว่า 190 กิโลกรัม และราคา 88 บาท ต่อ กิโลกรัม ในกรณีที่ซากมีน้ำหนักต่ำกว่า 190 กิโลกรัม ปรากฏว่าโคขุนทดลองในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF มีน้ำหนักมีชีวิตก่อนเข้าโรงฆ่าสัตว์แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เฉลี่ยเท่ากับ 483.54, 492.31, 483.06, 498.81 และ 476.94 กิโลกรัม ตามลำดับ น้ำหนักซากในแต่ละทรีท-เมนต์พบว่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เฉลี่ยเท่ากับ 258.98, 265.90, 260.92, 270.57 และ 256.56 กิโลกรัม และมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ซากเท่ากับ 53.59, 54.06, 54.02, 54.24 และ 54.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เนื่องจากโคขุนทดลองทุกตัวในทุกทรีทเมนต์มีน้ำหนักซากเกิน 190 กิโลกรัม ดังนั้น จึงสามารถขายได้ในราคาซากกิโลกรัมละ 90 บาท ปรากฏว่าขายได้ราคาซากเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ เท่ากับ 23307.98, 23931.23, 23482.35, 24351.08 และ 23089.95 บาท ต่อ ตัว ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

2.9.2.2 รายได้ จากการจำหน่ายโคขุนทดลองในทรีทเมนต์ CTL, 25NZ, 50NZ, 25CF และ50CF ปรากฏว่ามีรายได้เฉลี่ยต่อตัวในแต่ละทรีทเมนต์หลังจากหักต้นทุนทั้งหมดแล้ว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2323.99, 2443.15, 2579.69, 2737.33 และ 2828.39 บาท ต่อ ตัว ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์กำไร เฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 11.24, 11.61, 12.44, 12.69 และ 14.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรีทเมนต์ 50CF มีรายได้เมื่อหักต้นทุนทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์กำไรเฉลี่ยต่อตัวมากสุด รองลงมาคือ

ทรีทเมนต์ 25CF, 50NZ, 25NZ และ CTL ตามลำดับ โดยมีค่าที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 18 ผลของการเสริมเอนไซม์ในสูตรอาหาร TMR ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

	CTL	25NZ	50NZ	25CF	50CF	SEM
น้ำหนักเพิ่ม(กก./วัน)	1.34	1.42	1.35	1.47	1.44	0.04
อาหารสดที่กิน(กก./วัน)	10.13	11.14	10.01	11.14	9.95	0.29
ราคาอาหาร (บาท/กก.)	4.800	4.806	4.813	4.806	4.813	
ข้อมูลรายรับ-รายจ่าย						
ค่าอาหารทั้งหมด						
(บาท/ตัว)	4377.24	4816.82	4333.54	4818.87	4310.56	123.32
ราคาโค (บาท/ตัว)	15576.75	15641.25	15539.13	15764.88	14921.00	267.61
ค่าใช้จ่ายอื่น (บาท/ตัว)	1030	1030	1030	1030	1030	
ต้นทุนทั้งหมด(บาท/ตัว)	20983.99	21488.07	20902.66	21613.74	20261.56	349.70
น้ำหนักมีชีวิต(กก.)	483.45	492.31	483.06	498.81	476.94	7.44
น้ำหนักซาก (กก.)	258.98	265.90	260.92	270.57	256.56	3.42
ซาก (%)	53.59	54.06	54.02	54.24	54.00	0.30
ราคาขาย (บาท/ตัว)	23307.98	23931.23	23482.35	24351.08	23089.95	308.05
รายได้หักต้นทุน						
(บาท/ตัว)	2323.99	2443.15	2579.69	2737.33	2828.39	145.57
กำไร (%)	11.24	11.61	12.44	12.69	14.31	0.85

SEM: Standard error mean

CTL = กลุ่มควบคุม

25NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50NZ = เสริมเอนไซม์ NUZYME 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

25CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 25 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

50CF = เสริมเอนไซม์ SELFEED 50 กรัม ต่อ อาหาร 100 กิโลกรัม

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาโดยใช้แกะเป็นสัตว์ทดลองเปรียบเทียบผลการเสริมเอนไซม์รวม SELFEED – NZ® (NUZYME) ที่ประกอบด้วย ∝-amylase, β-glucanase, xylanase และ cellulase ชนิด (C1 – ase) และ (CMC – ase) และเอนไซม์รวม SELFEED – CF®(50CF) ที่ประกอบด้วย cellulase, protease, amylase, lipase และ pectinase เสริมในอาหารผสมสำเร็จที่ระดับ 50 กรัม ต่ออาหาร 100 กิโลกรัม ต่อการย่อยได้ของโภชนะในสูตรอาหาร พบว่า การกินได้ของวัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีน ผนังเซลล์ และลิกโนเซลลูโลสไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) การย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีน และลิกโนเซลลูโลส ในทรีทเมนต์ที่เสริมเอนไซม์มีการย่อยได้สูงกว่าทรีทเมนต์ที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์ และมีค่าการย่อยได้สูงสุดในทรีทเมนต์ที่เสริมเอนไซม์ CF (P<0.05) การขับออกของไนโตรเจนในมูลในทรีทเมนต์ที่ไม่เสริมเอนไซม์มีปริมาณสูงกว่าทรีทเมนต์ที่มีการเสริมเอนไซม์ (P<0.05) แกะทดลองทรีทเมนต์ 50CF ที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ SELFEED – CF® มีปริมาณการสะสมไนโตรเจนในร่างกาย เปอร์เซ็นต์การสะสมไนโตรเจนในร่างกายมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น (P>0.05) และการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของแกะในทรีทเมนต์ CF มีแนวโน้มที่ดีกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ (P>0.05)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเสริมเอนไซม์รวม 2 ชนิด ในระดับ 25 และ 50 กรัม ต่ออาหาร 100 กิโลกรัม ต่อสมรรถภาพการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในโคเนื้อขุนพบว่า ระดับความเป็นกรด–ด่างภายในกระเพาะรูเมนในแต่ละทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) และอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนที่ 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหารภายในทรีทเมนต์ 50CF, 25CF, และ 50NZ มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย–ไนโตรเจนสูงสุดส่วนทรีทเมนต์ 25NZ มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย – ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนสูงกว่าทรีทเมนต์ที่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ (P<0.05) ซึ่งมีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหารที่มีค่าสูงสุดภายในทรีทเมนต์ 50CF, 25CF, 50NZ และ 25NZ (P>0.05) การเกิดกรดไขมันระเหยง่ายภายในกระเพาะรูเมนในแต่ละทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) และอยู่ในระดับปกติเหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ค่ากลูโคสในเลือดในแต่ละทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) และอยู่ในระดับปกติที่ร่างกายต้องการ โคขุนทดลองในกลุ่ม 50CF มีค่าการกินได้ของวัตถุแห้งที่ต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในเกณฑ์เฉลี่ยที่ 1.4 กิโลกรัม/วัน จึงมีผลทำให้ค่าตัวเลขการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคขุนกลุ่มอื่น ๆ

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากเอนไซม์มีคุณสมบัติที่เจาะจงต่อชนิดของสารอาหารที่เป็นเป้าหมายในการย่อย ดังนั้น การเสริมเอนไซม์เสริมในสูตรอาหารจึงควรเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์ที่มีความสัมพันธ์กับชนิดของสารอาหารที่อยู่ในสูตรอาหารนั้นๆ การนำเอนไซม์มาเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อให้เกิดประโยชน์และมีผลตอบแทนที่คุ้มค่าที่สุดนั้น ควรใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่มีชนิดของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสารโภชนะต่างๆได้หลายชนิดรวมกัน เพื่อช่วยเพิ่มการย่อยได้ของสารโภชนะชนิดต่างๆที่อยู่ในสูตรอาหารให้สูงขึ้น ร่างกายสัตว์สามารถนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นในทุกชนิดของสารโภชนะ

นอกจากนี้ การใช้เอนไซม์เสริมในอาหารเป็นการเพิ่มต้นทุนค่าอาหาร ดังนั้น ควรเลือกเสริมในสัตว์ที่ต้องการเร่งการเจริญเติบโต หรือในสัตว์ที่ต้องการผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในช่วงระยะสั้น เช่น สัตว์ที่อายุยังน้อย สัตว์ที่ต้องการขุน เป็นต้น เอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารควรเลือกที่มีการป้องกันการเสียสภาพจากสภาวะความเป็นกรดภายในกระเพาะอาหาร เพื่อให้เอนไซม์สามารถทำหน้าที่ย่อยสารอาหารต่างๆได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อผ่านเข้าไปในลำไส้เล็ก

การศึกษาที่สำคัญต่อไปคือ การทดสอบหารูปแบบวิธีการเสริมเอนไซม์เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด รวมถึงประเมินการใช้เอนไซม์รวมในสัตว์ที่อยู่ในสภาวะที่ต้องการโภชนะสูงเพื่อการเพิ่มผลผลิต เช่น โคนมในระยะให้นม 2 เดือนหลังคลอด ตลอดจนกลไกการทำงานของเอนไซม์ที่ชัดเจนในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการให้ผลผลิตทั้งในโคเนื้อและโคนม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2548. **ยุทธศาสตร์การพัฒนาโคเนื้อเพื่อรองรับผลกระทบการทำข้อตกลงเขตการค้าเสรี – ออสเตรเลีย.** เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาโดยกรมปศุสัตว์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรและสมาคมโคเนื้อแห่งประเทศไทย. วันที่ 28 มกราคม 2548 ณ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ สถาปนศิริ. 2533. **การย่อยได้ของแป้งจากข้าวเปลือกบด ปลายข้าวเจ้าบด และมันสำปะหลังเส้นในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารโคนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฉลอง วชิราภากร. 2541. **โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น**. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

โชคชัย ตรีวิโรจน์. 2536. **ภาวะยูเรียในเลือดของโคนมที่อยู่ระหว่างให้นม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และ จงรักษ์ จันทร์เจริญ. 2542. **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 7. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

_____. 2542. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

_____. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ประดิษฐ์ มีสุข. 2547. **ชีวเคมีเบื้องต้น (เคมีชีวิต).** มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

ประสงค์ คุณานุวัฒน์ชัยเดช, วิฑูรย์ ประสงค์วัฒนา, เสาวลักษณ์ จิรกุลสมโชค, สร้อยสังวาล สาตรักษ์, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และ เกียรติรัตน์ คุณารัตนพรักษ์. 2526. **ชีวเคมี เล่ม 1**. มหาวิมยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พนัส ธรรมกีรติวงศ์, พรศรี ชัยรัตนายุทธ์ และ สมเกียรติ ทิมพัฒนพงศ์. 2538. ผลของอาหารผสมเสร็จอัดแท่งต่อการหมักย่อยในรูเมนและเลือดโค. **วารสารเกษตร (วิทย.)** 29: 314-325.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2539. **หลักการอาหารสัตว์ เล่ม 2**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ทิพย์วดี ประไพวงศ์. 2549. **การใช้ฝักถั่วเหลืองร่วมกับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบในสูตรอาหารโคนม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. 2529. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

_____. 2533. **โภชนะศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง**. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ศรีสกุล วรจันทรา และ รณชัย สิทธิไกรพงษ์. 2539. **โภชนศาสตร์สัตว์**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อังคณา หาญบรรจง และ ดวงสมร สินเจิมสิริ. 2532 **การวิเคราะห์และประเมินคุณภาพอาหารสัตว์**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัย คันโธ. 2529. **อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short term regulation of feed intake by lactating dairy cattle**.** **J. Dairy. Sci**. 83:1598-1624

Anonymous. n.d. **Mechanism of enzyme activity.** Available Source: http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/images/enzyme.gif&imgrefurl, March 11, 2007.

AOAC. 1990. **Official method of analysis**, 13th Edition, Association of Analytical Chemists, Washington DC.

Baidoo, S.K., Y.G. Liu and D. Yungblut. 1998. Effect of microbial enzyme supplementation on energy, amino acid digestibility and performance of pigs fed hulless barley based diers. **Can. J. Anim. Sci.** 64: 654 – 658.

Beauchemin, k.A., L.M. Rode and V.J.H. Sewalt. 1995. Fibrolytic enzyme increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **J. Anim. Sci**. 75: 641– 644.

Beauchemin, K.A. and L.M. Rode. 1996. Use of feed enzymes in ruminant nutrition. pp 103-130. **Animal Science Research and Development - Meeting Future Challenges**. Ottawa, Canada.

Beauchemin, K.A., S.D.M. Jones, L.M. Rode and V.J.H. Sewalt. 1997. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. **J. Anim. Sci**. 77: 645–653.

Beauchemin, K.A., S.D.M. Jones, L.M. Rode and V.J.H. Sewalt. 1998. Use of Enzymes in ruminant nutrition. pp. 121 – 135. **Proceedings of the 33rd Pacific Northwest Nutrition Conference**. Vancouver, British Columbia.

Beauchemin, K.A., W.Z. Yang and L.M. Rode. 1999a. Effects of grain source and enzyme Additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 82:378-390.

Beauchemin, K.A., L.M. Rode and D. Karren. 1999b. Use of feed enzymes in feedlot finishing diets. **Can. J. Anim. Sci**. 79:243–246.

Beauchemin, K.A. 2002. **Feed enzyme and direct fed microbial workshop**. Available Source: http://www.Das.psu.edu/dcn/WORKSHOP/dcn2002/d0cs/beaucheminwksh2.pdf, September 4, 2006.

Beauchemin, K.A., D. Columbatto, D.P. Morgavi and W.Z. Yang. 2002b. Use of exogenous Fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminant. **J. Anim. Sci.** 81E. Suppl. E37 – E47.

Beauchemin, K.A., D. Colombatto, D.P. Morgavi and W.Z. Yang. 2003. Use of exogenous Fibrolytic enzyme to improve feed utilization by ruminants**. J. Anim. Sci**. Suppl. E37-E47.

Bedford, M.R. 1993. Mode of action of feed enzymes. **Journal of Applied Poultry Research 2: 85 – 92.**

Bedford, M.R. and G.G. Partridge. 2001. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. CABI Publishing, London.

Beguin, P., S. Chauvaux, G. Guglielmi, M. Matuschek, E. Leibovitz, M – K. Chaveroche, I. Miras, P. Alzari and P. Gounon. 1998. **The *Clostridium thermocellum* cellulosome; organization and mode of attachment to the cell**. p.107. MIE Bioforum, Genetic, Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation. Suzuka, Japan.

Blowey, R.W., D.W. Wood and J.R. Davies. 1973. A national monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. **Veterinary Record** 92: 691-696.

Bowman, G.R. 2001. **Digestion, ruminal pH, salivation, and feeding behaviour of lactating dairy cows fed a diet supplemented with fibrolytic enzym**es. M.S. Thesis,Univ. of British Colombia, Vancouver, Canada.

Bowman, G.R., K.A. Beauchemin and J.A. Shelfode. 2002. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutriend digestion by lactation dairy cows. **J. Dairy. Sci.** 85: 3420 – 3429.

Boyles, D.W., Richardson, C, R., Robinson, K.D. and Cobb, C.W. 1992. Feedlot performance of steers fed steam-flaked grain sorghum with added enzymes. **Anim. Sci**. 43: 502-505.

Brenes, A., B. A. Rotter, R. R. Marquardt and W. Guenter. 1993. The nutritional value of row, autoclaved and dehulled peas (*Pisum sativum* L.) in chicken diets as affected by enzyme supplementation. **Can. J. Anim. Sci.** 73: 605 – 614.

Chen, K.H., J. T.Huber, J. Simas, C.B. Theurer, P. Yu, S.C. Chan, F. Santos, Z. Wu, and R. S. Swingle. 1995. Effects of enzyme treatment or steam-flaking of sorghum grain on lactation and digestion in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 78:1721 – 1727.

Cheng, K – J ., T. A. Mcallister, J. D. Popp, A. N. Hristov, Z. Mir, and H. T. Shin.1998 . A review of bloat in feedlot cattle. **J. Anim. Sci**. 76: 299 – 308.

Chesson, A. 1993. Probiotics and other intestinal mediators. pp 197-214. *In* D.J.A. Cole, J. Wiseman and M. A. Varley. Principles of *bacillus* and digestibility in swine 805. **Pig Sci**. Nottingham University Press, Lough.

Church, D.C. 1975. **Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants Volume 1**. 2nd ed. O & B Books, Oregon.

Colombatto, D. 2000. **Use of enzymes to improve fibre utilization in ruminants. A biochemical and in vitro rumen degradation assessment**. Ph.D. Diss., Univ. of Reading, U.K.

Cowieson, A.J., Sarkilahti, L.K., Apajalahti. J.H.A., T. Acamovic and M.R. Bedford. 2000. Proc. Of 21st **world's poultry congress**, Montreal, Canada, August 20-24th.

Dong, Y., H.D. Bae, T. A. McAllisster, G. W. Mathison and K. – J. Cheng. 1999. The effect of exogenous fibrolytic enzyme, ∝ - bromoethanesulfonate and monensin on digestibility of grass hay and methane production in the Rusitec. **Can. J. Anim. Sci**. 79: 491 – 498.

Erwin, E.S., G.J. Marco and E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J. Dairy. Sci.** 44: 1768 – 1771.

Feng, P., C. W. Hunt, G. T. Pritchard, and W. E. Julien. 1996. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season forage in beef steers. **J. Anim. Sci**. 74:1349-1357.

Fontes, C.M.G.A., J. Hall, B.H. Hirst, G.P. Hazelwood, and H. J. Gilbert. 1995. The resistance of cellulases and xylanases to proteolytic inactivation. Appl. **Microbiol. Biotechnol**. 43:52-57.

Friesen, O.D., W. Guenter, R.R. Marquardt and B.A. Rotter. 1992. The effect of enzyme supplemention on the apparent energy and nutrient digestibilities of wheat, barley, oats and rye for the young broiler chick. **Poult. Sci.** 71: 1710-1721.

Francis, P.A., Robbins, K.R., Mathew, A.G., Draughon, F. A. and D.A. Golden. 1999. **Poul. Sci.** 78: Abstract S30.

Gashe, B.A. 1992. cellulase production and activity by *Tricboderma* sp. A-001**. Journal of applied bacteriology**. 73, 79-82.

Hristov, A.N., L.M. Rode, K.A. Beauchemin, and R.L. Wuerfel. 1996. Effect of a commercial enzyme preparation on barley silage in vitro and in sacco dry matter degradability. Proc. West. Section, Am. Soc. **Anim. Sci**. 47:282–284.

Hristov, A.N., T.A. McAllister, and K. J. Cheng. 1998a. Stability of exogenous polysaccharide degrading enzymes in the rumen. **Anim. Feed Sci. Technol**. 76:161–168.

_____. 1998b. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. **J. Anim Sci**. 76:3146-3156.

_____. 2000. Intraruminal supplementation with increasing rates of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet **J. Anim. Sci**. 78:477–487.

Higginbothum, G.E., M. Torabi and J.T. Huber. 1989. Influence of dietary protein concentration and degradability on performance of lactating cows during hot environmental temperatures. **J. Dairy Sci.** 72: 2554-2564.

Hillman, K. 1999. Manipulation of the intestinal microflora for improve health and growth in pig. **Proceedings of the World's Poultry Science Association Spring Meeting Scarborough**, 22-24 March.

Iwaasa, A.D., L.M. Rode, K. A. Beauchemin, and S. Eivemark. 1997. **Effect of fibrolytic enzymes in barley-based diets on performance of feedlot cattle and in vitro gas production**. JointRowett Res. Inst.-Inst. Natl. de Recherche Agronomique Rumen Microbiol. Symp., Aberdeen, Scotland, Poster 39.

Jack, M.P. 1977. **Metabolic Diseases in Farm Animal: Nitrogen Metabolism**. William Heinemaim Medical Book Ltd., London.

Kohn, R.A. 2007 . **Use of milk or blood urea nitrogen to identify feed management inefficiencies and estimate nitrogen excretion by dairy cattle and other animals**. Available Source: http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2007/Kohn.pdf, March 20, 2007.

Kohn, R.A. and M.S. Allen. 1992. Storage of fresh and ensiled forages by freezing affects fibre and crude protein fractions. **J. Sci. Food Agric**. 58:215–220.

Kopency, J., M. Marounek and K. Holub. 1987. Testing the suitability of the addition of *Trichoderma viride* cellulases to feed rations for ruminants. **Zivocisna vyroba** 32: 587 – 592.

Krause, M., K. A. Beauchemin, L.M. Rode, B. I. Farr and P. Nørgaard. 1998. Fibrolytic enzyme treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. **J. Anim. Sci.** 96:1010–1015.

Kubicek, Ch.P., J. Bissett, I. Druzhinina, C. Kulling – Gradinger and G. SzaKacs. 2003. Genatic and metabolic diversity of *Trichoderm*: a case study on South – East Asian isolate. Fungal Gen. Biol. 38: 310 – 319.

Kung, L.Jr. 1996. Direct – fed microbial and enzyme feed additive. In: Muirhead S. (ed.) **Direct – Fed Microbial, enzyme and Forage Additive Compendium**, pp. 15 – 20. The Miller Publishing Company, Minetonka, Minnesota.

Kung, L., Jr., R.J. Treacher, G.A. Nauman, A.M. Smagala, K.M. Endres and M.A. Cohen. 1999. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. **J. Dairy Sci**. 75: 110 – 117.

Kung, L.Jr., R.J. Treacher, G.A. Nauman, A.M. Smagala, K.M. Endres and M.A. Cohen. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. **J. Dairy Sci**. 83:115 –122.

Leng, R.A, J. Kanjanapruthipong and N. Jessop. 1994. Climate and nutrition interactions in ruminants, pp. 188-199. *In* M. Wanapat and K. Sommart, eds. **Recent Advances in Swamp Buffalo Nutritional and Feeding**. Proc. The First Asian Buffalo Association Congress. Khon Kaen University, Khon Kaen,Thailand.

Luchini, N.D., G.A. Broderick, D.L. Hafner, R. Derosa, S. Reynal and R. J.Treacher. 1997. Production response to treating forage with fibrolytic enzymes prior to feeding to laction cows. **J. Dairy Sci**. 80 (Suppl. 1), 262.

Lewis, D. 1957. Blood urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. **J. Agric.** 48: 438-442.

Lewis, G.E., C.W. Hunt, W.K. Sanchez, R. Treacher, G.T. Pritchard and P. Feng. 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **J. Anim. Sci**. 74:3020–3028.

Lewis, G.E., W.K. Sanchez, C.W. Hunt, M.A. Guy, G.T. Pritchard, B.I. Swanson and R. J. Treacher. 1999. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 82:611–617.

Lewis, G.E., W.K. Sanchez, C.W. Hunt, M.A. Guy, G.T. Pritchard, B. I. Swanson and R. J. Treacher. 1999. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 82:611–617.

Li, K., P. Azadi, R. Collins, J. Tolan, J.S. Kim and K–E.L. Eriksson. 2000. Relationships between activities of xylanases and xylan structures. **Enzyme Microb. Technol**. 27: 89 – 94.

Madiraveitia, F., A. Solis, H. Medrano and J. Quintero. 1985. Obtencion de proteinas mocrobianas mejoradores de suelos a partir del aserrin. Aislamiento de *Trichoderma*. pp. 253 – 258. *In* **La Utilizacion de los Recursos Celulosicos en la Alimentaction Animal.**

Mahardika, I.G., D. Sastradipradja, T. Sutardi and I.K. Sumdi. 2000. Nutrient requirement of exercising Swanp Buffalo, Bubalus bubalis II Details of work energy of cows and its relation to heart rate. **Aian – Aus. J. Anim. Sci**. 13 (7): 1003–1009.

Mascarell, J., and M. Ryan. 1997. **Technical aspects of enzyme utilization: Dry *vs* liquid enzymes**. Options mediterraneennes, cahiers. 26: 161 – 173. Available Source: http//resources. Ciheam. Org/om/pdf/c26/97605982.pdf, Aug. 11, 2006.

Matsui, H.,K. Ogata, K. Tajima, M. Nagamine, T. Nagamine, R.I. Aminov and Y. Benno. 2000. Phenotypic characterization of polysaccharidases produced by four *Prevotella* type strains. **Curr. Microbiol**. 41: 45 – 49.

McAllister, T.A., A.N. Hristov, K.A. Beauchemin, L.M. Rode and K.-J. Cheng. 2001. Enzymes in ruminant diets. pp. 273-297. *In* M.R. Bedford and G.G. Partridge, eds. **Enzymes in farm animal nutrition**. CAB Publishing, Oxon.

McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh. 1988. Feed enzymes. *In* **Animal nutrition**. pp. 405 – 42. Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd.

Morgavi, D.P., K.A. Beauchemin, V.L. Nsereko, L.M. Rode, A.D. Iwaasa, W.Z. Yang, T.A. McAlliste and Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **J. Dairy Sci**. 83:1310–1321.

_____. 2001. Resistance of feed enzyme to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastroint stinal priteases. **J. Anim. Sci.** 79: 1621 – 1630.

Muirhead, S. 1996. direct fed microbial. *In* **Enzyme and forage additive compendium**, 3rd edn. The miller publishing company, Minetonka, Minnesota.

Newbold, C.J. 1995. Microbial feed additives for ruminant. *In* Wallace, R.j. and Chesson, H.C. (eds) Biotechnology in **Animal Feeds and Animal Feeding**. pp. 259 - 278. VCH Publishers, New York.

Nsereko, V.L., D. P. Morgavi, L.M. Rode, K.A. Beauchemin and T.A. McAllister. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. **Anim. Feed Sci. Technol**. 88:153–170.

Nsereko, V.L., K.A. Beauchemin, D.P. Morgavi, L.M. Rode, A.F. Furtado, T.A. McAllister, A.D. Iwaasa, W.Z. Yang and Y. Wang. 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. **Can. J. Microbiol**. 48:14–20.

Nussio, L.G., J.T. Huber, C.B. Theurer, C.B. Nussio, J. Santos, M. Tarazon, R.O. lima–Filho, B. Riggs, M.Lamoreaux and R.J.Treacher. 1997. Influence of a cellulase/xylanase complex (X / C) on lacyational performance of dairy cows fed alfalfa hay based diets. **J. Dairy Sci**. 80 (Suppl.1), 220.

Oba, M. and M.S. Allen. 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects ondry matter intake and milk yield of dairy cows. **J. Dairy Sci**. 82:589–596.

Phipps, R.H., J.D. Sutton, D.E. Beever, M.K. Bhat, G.F. Hartnell, J.Vicini and D.L. Hard. 2000. Effect of cell-wall degrading enzymes and method of application on feed intake and milk production of Holstein-Friesian dairy cows. **J. Dairy Sci**. 83(Suppl. 1):23.

Pinos-Rodri´guez, J.M., S.S. Gonza lez, G.D. Mendoza, R. Ba rcena, M.A. Cobos, A. Hernandez and M.E. Ortega. 2002. Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. **J. Anim. Sci.** 80:3016–3020

Poutance, K. 1997. Enzyme: An important tool in the improvement of the quality of cereal foods. **Trends food Sci. Technol.** 8: 300 – 306.

Preston, T.R. 1972. Molass as an energy source for cattle. **World Rev. Nutr. Diet**. 17: 250-311.

Rode, L.M., W.Z. Yang and K.A Beauchemin. 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. **J. Dairy Sci**. 82:2121–2126.

Sanchez, W.K, W.C. Hunt, M. Guy, G.T. Prichard, B.I. Swanson, T.B. Warner and J.M. Higgins. 1996. Effect of fibrolytic enzymes on lactional performance of dairy cows. **J. Anim. Sci**. 74: (Suppl. 1), 296.

SAS. 2003. SAS/SATAT User' Guide. SAS Instiute Inc., Carry, North Carolin.

Satter, R.D. and R.R. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on ruminal microbial protein production in vitro. **Br. J. Nutr**. 32: 199-208.

Savory, C. J. 1992. Enzyme supplementation, degradation and metabolism of three U-14C-labelled cell wall substrates in the fowl. **Bri J. Nutr.** 67, 91-102.

Schultz, L.H., H.F. Mayland and R.J. Emerick. 1988. Metabolic problem related to nutrition, pp. 493-531. *In* D.C. Church, ed. **The Ruminant Animal: Digestion Physiology and Nutrition**. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Sheppy, C. 2001. The current feed enzyme market and likely trends. pp. 1 – 10. **In** M. R. Bedford and G. G. Partridge, ed. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. CABI Oublishing, Finnfeeds Marlborough Wiltshire, UK.

Simon O. 1998. The mode of action of NSP hydrolyzing enzymes in the gastrointestinal tract. **J. Ani. and Feed Sci**. 7: 115 - 123.

Sutton, J.C., I.C. Hart, W.H. Broster, R.J. Elliott and E. Schuller. 1988. Feeding frequency for lactating cow. Effect on rumen fermentation and blood matabolites and hormones. **Brit. J. Nutr.** 56:181

Sutton, J.D., R.H. Phipps, D.E. Beever, D.J. Humphries, G.F. Hartnell and J.L. Vicini. 2001. Comparison of different methods of administration on the effect of fibrolytic enzymes on digestive processes in lactating cows**. J. Dairy Sci**. 84 (Suppl. 1):37.

Sutton. J. D., R.H. Phipps, D.E. Beever, D.J. Humphries, G.F. Hartnell, J.L. Vicini and D.L. Hard. 2003. Effect of Method of Application of a Fibrolytic Enzyme Product on Digestive Processes and Milk Production in Holstein-Friesian Cows. **J Dairy Sci.** 86(2): 546 - 556.

Spencer, J.D., G.L. Alle and T.E. Sauber. 2000. Phosphorous bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low – phytase corn for pigs. **J. Anim. Sci.** 78 : 675 – 681.

Tiffany, T.O., J.M. Jansen, C.A. Burtis, J.B. Overton and C.D. Scott. 1972. Enzymatic kinetic rate and end point analyses of substrate by the use of a GeMSAEC faast analyzer. **Clinical Chemistry** 18: 829 – 840.

Treacher, R.J. and C.W. Hunt. 1996. Recent developments in feed enzymes for ruminants. **Proc.Pacific Northwest Nutrition Conference**. Seattle, WA.

Uhlig, H. 1998. General characteristics of enzyme. pp. 13 – 26. *In* **Industrial Enzyme and their Application**. Wiley – Interscience Publication John Wiley and Sons, Inc., USA.

Vicini, J.L., H.G. Bateman, M.K. Bhat, J.H. Clark, R.A. Erdman, R.H. Phipps, M.E.Van Amburgh, G.F. Hartnell, R.L. Hintz and D.L. Hard. 2003. Effect of Feeding Supplemental Fibrolytic Enzymes or Soluble Sugars with Malic Acid on Milk Production. **J. Dairy Sci**. 86:576-585.

Vahjen, W., K. Glaser, K. Schafer and O. Simon. 1998. Influence of xylanase – supplemented feed on the development of selected bacterial group in the intestinal tract of broiler chicks. **J. Agri. Sci.** 130: 489 – 500.

Van Soest, P.J. 1982. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. O & B books, Corvallis, Oregon, USA.

Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Method for dietaey fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci.** 74 : 3583 – 3597

Wang, Y and T.A. McAllister. 2002. Rumen Microbes, Enzymes and Feed Digestion. Asian Australian**. J. Anim. Sci.** 15(11): 1659 – 1676.

Wenk , C. 1992. Enzymes in the nutrition of monogastric farm animals. pp. 205 – 218. *In* T. P. Lyons, ed **Biotechnology in the Feed Industry**. Proc . Alltech ′8th Ann. Symp. Technical Publication, Nicholasville, Kentucky .

White, B. A., R. I. Mackie, and K. C. Doerner. 1993. Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. pp. 455–484. *In* . H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield and J. Ralph, ed. **Forage Cell Wall Structure and Digestibility** Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI.

Wiliczkiewicz, A. 2005. effect of non starch polysaccharides of cereal grains on intestinal microflora of chickens and ducks, **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**,Veterinary Medicine, Volume 8, Issue4. Available Source : http:// www. ejpau.media.pl/volume8/issue4/art-24.html, Sep.11, 2006.

Wyatt, C.L., and R. Queenborough. 1995. **How can feed enzyme improve the final product ?. Using enzyme in poultry feeds**. Available Source: http:// www.agric. gov.ab.ca/. livectock/poultry/ psiw9517.html. Accessed, Sep.11, 2006.

Yang, W.Z., K.A. Beauchemin and L.M. Rode. 1991. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci**. 82:391–403.

Yang, W.Z., K.A. Beauchemin and L.M. Rode. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **J. Dairy Sci.** 83:2512–2520.

ZoBell, D.R., R.D. Weidmeier, K.C. Olson and R.J. Treacher. 2000. The effect of an exogenous enzyme treatment on production and carcass characteristics of growing and finishing steers. **Anim. Feed Sci. Technol**. 87:279–285.

ภาคผนวก

การหาปริมาณแอมโมเนียโดยวิธีการกลั่นไอน้ำ (Stream distillation) ในของเหลวจากกระเพาะรูเมน

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. อุปกรณ์กลั่น ประกอบด้วยท่อนำไอน้ำที่เกิดจากการต้มน้ำใน flask ที่ใส่ลูกแก้วและมีที่สำหรับยึดจับขวดกลั่นด้วยขดลวดสปริง

2. ขวดกลั่น (distillate flask) เป็นขวด Kjeldahl ขนาด 250 มิลลิลิตร มีท่อแก้วอยู่ข้างกระเปาะแก้ว มีคอขวดและเขี้ยวยึดแก้ว ความยาวของขวดควรจะให้พอดีกับการนำเข้าไปต่อกับชุดอุปกรณ์กลั่น โดยที่ปลายท่อนำไอน้ำกับก้นขวดอยู่ระยะประมาณ 4 มิลลิลิตร

3. บิวเรต
4. flask
5. shaker
6. volumetric pipette ขนาด 5 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิลิตร
7. กระดาษกรองเบอร์ 42

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียม 2 N KCl โดยชั่งสารมา 150 กรัม ละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร
2. เผา MgO ในเตาเผาอุณหภูมิประมาณ 500 – 600 C° นาน 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน dissicator เก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดสนิท

3. Boric acid โดยละลายกรดบอริก 20 กรัม ในน้ำร้อนประมาณ 700 มิลลิลิตร ปล่อยให้เย็นและเติม ethanol 200 มิลลิลิตร

4. Indicator: bromcresol green 0.3 กรัม ผสม methyl red 0.16 กรัม ใน ethanol 250 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีม่วง

5. Boric acid indicator solution: นำ indicator 20 มิลลิลิตร เติมลงใน boric acid ที่เตรียมได้ในข้อ 3 จะได้สารละลายสีม่วงชมพู

วิธีการวิเคราะห์แอมโมเนีย

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmayer flask เติม 2 N KCl ลงไปจำนวน 90 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระดาษฟอย

2. เขย่าด้วยเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3. นำไปกรอง โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42

4. ก่อนทำการกลั่น ควรต้มไล่แอมโมเนียในน้ำที่ใช้ให้หมดก่อน ประมาณ 10 นาทีและปรับอัตราที่เกิด distillate ประมาณ 7-8 มิลลิลิตรต่อนาที และปรับอัตราการไหลน้ำหล่อเย็นที่ไหลผ่าน condenser ให้เหมาะสม

5. ดูดสารละลายที่กรองได้ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดกลั่น (Kjeldahl flask) เติม MgO ลงไปประมาณ 0.2 กรัม กลั่นสารละลายและปรับอัตราน้ำหล่อเย็นให้เหมาะสม

6. รองรับ distillate ที่ได้ด้วย Erlenmayer flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุ boric acid indicator solution 5 มิลลิลิตร

7. ทำการกลั่นจนได้สารละลายประมาณ 30 มิลลิลิตร (ซึ่งสังเกตได้จากสารละลายจะมีสีเขียว)

8. นำ distillate ที่ได้มาไทเทรตด้วย 0.005 N H_2SO_4 จนสารละลายเริ่มเปลี่ยนจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสีชมพูจาง ๆ นาน 20 วินาที เพื่อหาปริมาณของกรดที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพอดีกับแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ } NH_3\text{-N ใน 100 ml} = \frac{(V_2) \times 1000 \times M_2 \times (2 \times 14)}{V_1} \times \frac{100}{10} \quad mg/dm^3$$

M_1 = mol/L ของ NH_4^+

M_2 = mol/L ของ 0.005 N H_2SO_4(M ของ H_2SO_4 คือ N หาร 2 เท่ากับ 0.0025)

V_1 = ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการกลั่น (10 ml)

V_2 = ปริมาณที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง - ปริมาณที่ใช้ไทเทรต blank

การวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยง่ายจากตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน

นำของเหลวในกระเพาะรูเมนมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 5 นาที นำส่วนใส 100 µl ผสมกับ 25 เปอร์เซ็นต์ metaphosphoric acid 20 µl พักไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 C° จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 5 นาที นำส่วนใส 50 µl ผสมกับ Internal Standard 50 µl นำสารละลายที่เตรียมได้ดังกล่าวจำนวน 2 µl ฉีดเข้าเครื่อง Gas chromatography การฉีดจะใช้ตัวอย่างจำนวน 2 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปใน gas chromatography Chrompack ซึ่งมี pack column ชนิด Chrompack B.V. Packing 10เปอร์เซ็นต์ SP-1200+1เปอร์เซ็นต์ H_3PO_4 on chromosorb waw 80-100 mesh (2m x 1/8 " x 2.0 mm SS) ใช้ฮีเลียมเป็น mobile phase ด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตร/นาที กระทำที่อุณหภูมิ 125 C° แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น (กรดอะซิติก กรดโพพิโอนิก และกรดบิวทีริก)

ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น (mmol/dl) = $(s/S) \times 2 \times 1.2$

เมื่อ

s = (พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันสายสั้นที่ต้องการคำนวณ) / (พื้นที่ใต้กราฟของ Iso-valerate ในตัวอย่าง)

S = (พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันสายสั้นที่ต้องการคำนวณใน standard) / (พื้นที่ใต้กราฟของ Iso-valerate ใน standard)

2 = อัตราส่วนของการใช้ตัวอย่างต่อ Iso-valerate ซึ่งใช้ที่ 1:1

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวนิภาพร กาญจนา
วัน เดือน ปี ที่เกิด	25 ธันวาคม 2525
สถานที่เกิด	อำเภอบ้านนาสาร จังหวัด สุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียน
	พรุพีพิทยาคม จ. สุราษฎร์ธานี พ.ศ. 2543
	ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล
	วิทยาเขตนครศรีธรรมราช พ.ศ. 2545
	วท.บ. (สัตวศาสตร์) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ พ.ศ. 2547