



## รายงานการวิจัย

เรื่อง การผลิตหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียสำหรับการหมักใบและทาง  
ปาล์มเพื่อเป็นอาหารทางเลือกใหม่สำหรับโคพื้นเมือง

Microbial Inoculants Production for Fermentation of Oil – Palm  
Leaf and Fronds as Alternative Feeds for Thai Native Cattle

ณรงค์ชัย ชูพูล

Narongchai Chupoon

น้อมจิตต์ แก้วไทย อันเดร

Nomchit Kaewthai Andrei

ศิรินาถ ศรีอ่อนนวล

Sirinat Srionnual

ธีระพงศ์ หมวดศรี

Teerapong Muadsri

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2561

การผลิตหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียสำหรับการหมักใบและทางปาล์มเพื่อเป็น  
อาหารทางเลือกใหม่สำหรับโคพื้นเมือง

Microbial Inoculants Production for Fermentation of Oil – Palm Leaf  
and Fronds as Alternative Feeds for Thai Native Cattle

ณรงค์ชัย ชูพูล<sup>1</sup> ศิรินาถ ศรีอ่อนนวล<sup>1</sup> น้อมจิตต์ แก้วไทย อันเดร<sup>1</sup> ธีระพงศ์ หมวดศรี<sup>1</sup>  
Narongchai Chupoon,<sup>1</sup> Sirinat Srionnua,<sup>1</sup> Nomchit Kaewthai Andrei<sup>1</sup> and  
Teerapong Muadsri<sup>1</sup>

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นแบบผสมต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและทางจุลชีววิทยาของใบและทางปาล์มหมัก โดยใช้หัวเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus plantarum* และ *Saccharomyces cerevisiae* ในสัดส่วนส่วน 1:1 เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักใบและทางปาล์ม ศึกษาอัตราหัวเชื้อเริ่มต้นจำนวน 5 อัตรา คือ ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 2.0 และหน่วยทดลองควบคุมใช้น้ำกลั่น โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการตัดทางปาล์มแล้วนำมาหั่นให้มีขนาดความยาวประมาณ 2 - 3 ซม. จากนั้นบรรจุลงถังพลาสติกขนาดใหญ่ เติมหหัวเชื้อผสมในปริมาณต่าง ๆ หมักในสภาพไร้อากาศเป็นเวลา 30 วัน ผลการศึกษา พบว่า การเติมเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 ทางปาล์มหมัก มีระดับความเป็นกรดและต่าง และปริมาณโปรตีนมากกว่าหน่วยทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) มีโปรตีนรวมสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ  $13.73 \pm 0.120$  สำหรับการศึกษอายุการเก็บรักษาใบและทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าสีฮันเตอร์แลป  $L^*$ ,  $a^*$  และค่า  $b^*$  เท่ากับ  $29.57 \pm 0.120$ ,  $4.29 \pm 0.096$  และ  $12.36 \pm 0.672$  ตามลำดับ ใบและทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ต่าง และปริมาณกรดแลคติกที่สูงกว่าหน่วยทดลองควบคุมซึ่งช่วยในการถนอมอาหารสัตว์

ผลการศึกษาอิทธิพลของการใช้สัดส่วนของ ใบและทางปาล์มหมักและฟางข้าวต่อไมโครไบโอมด้ากระเพาะรูเมนของโคพื้นเมือง ใช้โคพื้นเมืองจำนวน 9 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย  $135.22 \pm 27.51$  กิโลกรัม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์มีจำนวน 3 ทรีทเมนต์ จำนวน 3 ซ้ำ สัดส่วนของทางปาล์มหมักและฟางข้าวมีดังนี้ กลุ่มที่ 1 ใช้ใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 กลุ่มที่ 2 ใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 70 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 30 กลุ่มที่ 3 ใช้ฟางข้าวร้อยละ 10 ใช้เวลาเลี้ยงทั้งสิ้น 90 วัน ทำ ทำการฆ่าและเก็บตัวอย่างน้ำจากระเพาะรูเมน เพื่อศึกษาไมโครไบโอมด้า ด้วยการใช้วิธีการลำดับยีน 16S rRNA ด้วยแพลตฟอร์ม Illumina MiSeq มีการพบเชื้อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนคล้ายๆกันทั้ง 3 กลุ่ม โดยพบจุลินทรีย์จี้นส์ที่เด่นคือ Bacteroidales,

Clostridiales, Bacteroidetes, Sphingobacteriales and Desulfovibrionales ในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 พบกลุ่มของจุลินทรีย์ตามสัดส่วนดังนี้ Clostridiales ร้อยละ 38.71 รองลงมา Bacteroidales ร้อยละ 20.50% สำหรับกลุ่มที่ให้อาหารด้วยทางปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 พบ *Ruminococcus flavefaciens*, *Paraprevotella clara*, and *Clostridium alkalicellulosi* และพบจุลินทรีย์ *Dysgonomonas wimpennyi* มากที่สุด เมื่อทำการศึกษาจุลินทรีย์ระดับสปีชีส์ในตัวอย่างกลุ่มที่ให้อาหารทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 พบ *Prevotella dentosini* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยลิกนิน นอกจากนี้ยังมีการพบจุลินทรีย์ *Ruminococcus flavefaciens* และ *Paraprevotella clara* คิดเป็นปริมาณร้อยละ 3.33

สำหรับผลการศึกษาคุณภาพซาก พบว่า เนื้อโคพื้นเมืองที่ได้จากการเลี้ยงทางปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 มีปริมาณโปรตีนสูงแต่มีปริมาณไขมันต่ำกว่าการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 สำหรับค่าความสว่าง ( $L^*$ ) และความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และค่าปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) สำหรับการให้อาหารหยาบทั้ง 3 หน่วยการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 มีความนุ่มกว่าเนื้อโคที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และหน่วยการทดลองควบคุม ผลการให้อาหารที่มีส่วนผสมของทางปาล์มและฟางข้าว เมื่อนำเนื้อสันนอกที่ได้จากโคที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของทางปาล์มหมักฟางข้าว พบว่า ไม่มีความแตกต่างด้าน สี เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม ดังนั้นเนื้อโคที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักและฟางข้าวมีคุณค่าทางอาหารสูงและ มีศักยภาพสำหรับการแนะนำให้เกษตรกรเพื่อลดค่าใช้จ่ายและสร้างรายได้ต่อไป

**คำสำคัญ:** หัวเชื้อเริ่มต้นผสม ใบและทางปาล์มน้ำมันหมัก แลคติกแอซิคแบคทีเรีย โคพื้นธุ์พื้นเมือง

---

<sup>1</sup> อาจารย์ สาขานวัตกรรมการอาหารและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย  
อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช

## ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effects of mixed culture inoculants on the physicochemical and microbiological characteristics of oil palm fronds. Mixed cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* of 1:1 ratio were used as a starter culture for fermenting of oil palm frond (OPF). The five inoculation percentages of the treatments with 3 replicates were conducted. The control treatment was ensiled by distilled water, the four other groups were inoculated into OPF rate of 0.5 %, 1.0 %, 1.5%, and 2.0% w/w. Harvested date-palm leaves were cut into lengths of about 2-3 cm, then OPF ensiled with different concentrations of inoculants and packed into a plastic tank under anaerobic fermentation for 30 days. It was exhibited that the OPF inoculated with 1% of mixed culture inoculants (MMI) and 2% MMI had lower pH ( $P < 0.05$ ) and higher protein content ( $P < 0.05$ ) than the control. The maximum crude protein content of  $13.49 \pm 0.156$  % was obtained. The shelf life of OPF with and without the 1% MMI rate under field condition of storage for 3 months was investigated. The resulting of OPF was brown-green with a pleasant odor was detected. The Hunter  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  value were  $29.57 \pm 0.120$ ,  $4.29 \pm 0.096$ , and  $12.36 \pm 0.672$  respectively. The OPF was better preserved than the control, with lower pH values and higher contents of lactic acid concentration. The addition of OPF fermented had higher total lactic acid bacteria than the control. It can be concluded that the utilization of MMI as a starter culture could effectively increase the nutritional value and shelf – life of fermented OPF. The findings indicated that the MMI was feasible for an alternative starter for OPFS production for smart farming in the future.

The second experiment was conducted to examine the effects of feeding OPES and RS proportion as roughage sources on hematological parameters and ruminal microbiota in Thai beef cattle. Nine bulls BM  $135.22 \pm 27.51$ kg were assigned in a randomized completed block design with 3 treatments and three repetitions. The rice straw and OPFS proportion was followed, 1) 20% OPES and 80% RS, 2) 30% OPES and 70% RS 3), 100% RS as a control group. On day 90, the rumen fluid samples were collected, and their microbiota compositions were determined using

high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene by the Illumina MiSeq platform. We found that the rumen microbial community composition was similar in all three groups. *Bacteroidales*, *Clostridiales*, *Bacteroidetes*, *Sphingobacteriales*, and *Desulfovibrionales* were the predominant genus. At the species level, the effect of 20% OPES was detected for *Prevotella dentasini* in the rumen fluid. These data suggesting that *Prevotella* spp. play an important role in the conversion of plant lignans to human health beneficial antioxidants in the rumen. *Ruminococcus flavefaciens* and *Paraprevotella clara* comprised approximately 3.33% bacteria abundance of fluid samples in 20 % OPFS and 80% SR.

The last experiment examined the carcass of Thai beef cattle fed with OPFS. The results showed that 30% OPFS and 70% RS feeding had the highest protein content in meat with the lower fat concentration than those control fed 100% (RS). The lightness (L\*) redness (a\*) and moisture content were not significantly different between the three meat groups, while 20 % OPFS and 80% RS showed the highest fat content ( $p < 0.05$ ). However, 30% OPFS and 70% RS beef was tenderer than 80% RS beef and 100%RS beef. Meat from beef cattle fed diet containing 30% OPFS and 70% RS showed the lowest value for shear force. Feeding OPFS : RS has no affect sensory evaluation in the longissimus muscle, such as meat color, texture, appearance, and marbling score.

In conclusion, OPFS could be successfully used as a good quality roughage source for beef cattle suitable to cover the demands of the livestock industry of Thailand at concomitantly lower production costs for the farmers.

**Keywords:** Mixed culture inoculant, Oil palm frond, Lactic acid bacteria, Yeast and Thai native cattle

---

<sup>1</sup> Department of Food Innovation and Management Faculty of Agro - Industry, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung yai, Nakhon Sri Thammarat

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฯ ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการสำนักงานวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนงบประมาณวิจัยแผ่นดินต่อเนื่องจำนวน 2 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2561 - 2562 เป็นจำนวนเงิน 647,600 บาท สำหรับการศึกษาทดลอง ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ สำหรับการวิเคราะห์และทดลอง ขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่สนับสนุนให้ความอนุเคราะห์ให้โครงการวิจัยใช้โรงเลี้ยงโคในการทดลอง พร้อมให้คำแนะนำในการเลี้ยงโค ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ และการใช้เครื่องทำแห้งแบบพรีชดราย ในโอกาสนี้ ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ขอขอบคุณ คุณฐิติพงษ์ นกแก้ว ศูนย์พัฒนาการเกษตรศรีวิชัย ให้ความช่วยเหลือการตัดแต่งเนื้อ และวิเคราะห์คุณภาพเนื้อ และอาจารย์บุญธรรม แสงแก้ว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ช่วยดูแลเลี้ยงโคทดลอง จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จ ขอขอบคุณผู้ร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน เจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยให้การดำเนินโครงการวิจัยสำเร็จและลุล่วงตามแผนที่วางไว้ทุกประการ

ณรงค์ชัย ชูพูล  
หัวหน้าโครงการวิจัย

## สารบัญ

|                                     | หน้า |
|-------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย                     | ก    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                  | ค    |
| กิตติกรรมประกาศ                     | จ    |
| สารบัญ                              | ฉ    |
| สารบัญตาราง                         | ช    |
| สารบัญภาพ                           | ฅ    |
| สารบัญภาพผนวก                       | ญ    |
| บทที่ 1 บทนำ                        | 1    |
| บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย       | 19   |
| บทที่ 3 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล     | 26   |
| บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ | 46   |
| บรรณานุกรม                          | 47   |
| ภาคผนวก                             | 55   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |  | หน้า |
|----------|--|------|
| 1        | จำนวนโคเนื้อในประเทศไทยตั้งแต่ พ.ศ.2558 - 2561   | 2    |
| 2        | ปริมาณการผลิต การส่งออก การนำเข้า การบริโภคเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ของ<br>ไทยปี 2558 - 2562   | 3    |
| 3        | ผลวิเคราะห์ค่าสีของใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0<br>0.5 1.5 และ 2.0 หมักในสภาวะไร้อากาศและบ่มระยะเวลา 30 วัน ที่<br>อุณหภูมิห้อง  | 26   |
| 4        | ระดับความเป็นกรด-ด่าง ของใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ<br>0 0.5 1.5 และ 2.0 ในสภาวะไร้อากาศระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง  | 27   |
| 5        | ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) ของใบและทางปาล์มที่หมักด้วยเชื้อผสมร้อยละ 0<br>0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ใน สภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่<br>อุณหภูมิห้อง   | 28   |
| 6        | การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดบิวทิริกของใบ<br>ปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อ ผสมร้อยละ 1.0 และใบปาล์มหมักที่ไม่มีการ<br>เติมหัวเชื้อผสม การหมักในสภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่<br>อุณหภูมิห้อง | 30   |
| 7        | ปริมาณโปรตีนและเยื่อใย (ร้อยละ) ของใบปาล์มหมักที่เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ<br>1.0 และ ไม่เติมเชื้อผสม เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็น<br>ระยะเวลา 90 วัน  | 33   |
| 8        | ปริมาณไขมันและเถ้า (ร้อยละ) ของทางและใบปาล์มหมักที่เติมและไม่เติม<br>เชื้อผสมเมื่อเก็บที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 33   |
| 9        | สัมประสิทธิ์การเจริญ ( Growth Performance ) และการย่อยได้ของ<br>โภชนะ ( Nutrient Digestibility ) ของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทาง<br>ปาล์มหมักที่เสริม ร้อยละ 0 20 และ 30 เมื่อทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90<br>วัน    | 35   |
| 10       | ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยา ( Hematological parameter ) ของโคพื้นเมือง<br>ไทยที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก  | 36   |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |   | หน้า |
|----------|---|------|
| 11       | ร้อยละผลการอ่านทั้งหมด (Total Reads) เพื่อการจำแนกตามระดับ<br>อนุกรมวิธานวิทยา  | 38   |
| 12       | ร้อยละผลการอ่านทั้งหมด ( Total Reads ) เพื่อการจำแนกตามระดับจีโนม   | 38   |
| 13       | ผลการจำแนกจุลินทรีย์ระดับสปีชีส์ในตัวอย่างของเหลวจากรูเมนของโคที่<br>เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก  | 39   |
| 14       | ปริมาณโปรตีนไขมัน และความชื้นของเนื้อสัตว์นอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบ<br>และทางปาล์ม หมักผสมฟางข้าวในสัดส่วนต่างๆกันเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 40   |
| 15       | ค่าพารามิเตอร์การสูญเสียน้ำระหว่างแช่เย็น การสูญเสียน้ำระหว่างการแปร<br>รูปด้วย ความร้อนแรงตัดผ่านเนื้อ และค่าสีเนื้อสัตว์นอกของโคพื้นเมืองไทยที่<br>เลี้ยงด้วยทางใบปาล์มหมักร้อยละ 70 และฟางข้าวร้อยละ 30 เป็นเวลา 90<br>วัน | 41   |
| 16       | ค่าพารามิเตอร์การสูญเสียน้ำระหว่างแช่เย็น การสูญเสียน้ำระหว่างการแปร<br>รูปด้วยความร้อนแรงตัดผ่านเนื้อ และค่าสีเนื้อสัตว์นอกของโคพื้นเมืองไทยที่<br>เลี้ยงด้วยทางใบปาล์มหมักร้อยละ 70 และฟางข้าวร้อยละ 30 เป็นเวลา 90<br>วัน  | 41   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 1      | ใบและทางปาล์มหมักด้วยหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เมื่อทำการหมักสภาวะไร้อากาศ ระยะเวลา 30 วันที่อุณหภูมิห้อง  | 27   |
| 2      | ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีส (ร้อยละ) ใบและทางปาล์มหมักด้วยหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 สภาพไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วันที่อุณหภูมิห้อง  | 29   |
| 3      | พีคโครมาโทแกรมของกรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดบิวทริก ของใบปาล์มหมักที่ทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ใช้คอลัมน์คอลัมน์แบบ Titan™ C18 UHPLC, 1.9 $\mu\text{m}$ ใช้สารละลายเคลื่อนที่ 25mM K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ปรับระดับความเป็นกรด- ต่างเท่ากับ 2.5 ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร | 31   |
| 4      | น้ำหนักโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยทางและใบปาล์มหมักร้อยละ 0 20 และ 30 กับฟางข้าว และอาหาร ขึ้นเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 34   |
| 5      | ผลการจำแนกอนุกรมวิธาน ด้วยวิธีการ Next-Generation Sequencing   | 37   |
| 6      | คะแนนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคพื้นเมืองที่ได้รับทางปาล์มหมัก และ ฟางข้าวในสัดส่วนต่างๆกัน  | 43   |
| 7      | ลักษณะลายกล้ามเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 43   |
| 8      | ลักษณะเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 44   |
| 9      | ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 44   |
| 10     | ลักษณะเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยง ด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 45   |

## สารบัญภาพผนวก

| ภาพผนวกที่ |   | หน้า |
|------------|---|------|
| 1          | แปลงปาล์มน้ำมัน สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์                                | 56   |
| 2          | ทางปาล์มที่ตัดแล้วพร้อมนำไปหั่นสำหรับการหมัก                                | 56   |
| 3          | เครื่องสับย่อยอนุภาคประสงคี่ห้อนิมุต (Nimut)                                | 56   |
| 4          | ทางและใบปาล์มที่ผ่านการหั่นด้วยเครื่องสับย่อยอนุภาคประสงคี่ห้อนิมุต (Nimut) | 56   |
| 5          | หัวเชื้อ <i>L.plantarum</i> เลี้ยงในอาหาร MRS                               | 57   |
| 6          | ยีสต์แห้งสำเร็จสำหรับผสมหัวเชื้อในการหมัก                                   | 57   |
| 7          | การผสมหัวเชื้อคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนการหมัก                                | 57   |
| 8          | การหมักใบและทางปาล์มในถัง 200 ลิตร  | 57   |
| 9          | การผสมหัวเชื้อ ยีสต์ กากน้ำตาล ผสมกัน เพื่อใช้สำหรับหมักใบปาล์ม             | 58   |
| 10         | ใบและทางหมักในถัง 200 ลิตรเพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษา                        | 58   |
| 11         | สีของใบปาล์มหมัก ระยะเวลาหมัก 30 วัน  | 58   |
| 12         | การวิเคราะห์สีของใบปาล์มหมักด้วยเครื่อง Mini Scan EZ                        | 58   |
| 13         | การวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่างใบและทางปาล์มหมัก                                | 59   |
| 14         | ตัวอย่างใบและทางปาล์มหมักหลังการอบ  | 59   |
| 15         | การตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของใบปาล์มหมักเริ่มต้น                   | 59   |
| 16         | เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย (Fiber)   | 59   |
| 17         | เครื่องวิเคราะห์ไขมัน   | 60   |
| 18         | เครื่องวิเคราะห์โปรตีน  | 60   |
| 19         | เครื่อง High Performance Liquid Chromatography สำหรับวิเคราะห์กรดอินทรีย์   | 60   |
| 20         | การตรวจหากรดในตัวอย่างใบและ ทางปาล์มหมัก ด้วยเครื่อง (HPLC)                 | 60   |
| 21         | โคพื้นเมืองใช้ในการทดลอง  | 61   |
| 22         | โคพื้นเมืองที่ทดลองกินใบปาล์มหมัก   | 61   |
| 23         | โคพื้นเมืองหน่วยการทดลองให้กินใบปาล์มหมัก ร้อยละ 30                         | 61   |

## สารบัญภาพผนวก (ต่อ)

| ภาพผนวกที่ |   | หน้า |
|------------|---|------|
| 24         | โคพื้นเมืองหน่วยการทดลองให้กินใบปาล์มหมัก ร้อยละ 20   | 61   |
| 25         | การนำเนื้อใส่่างควบคุมอุณหภูมิสำหรับทดสอบ cooking loss  | 62   |
| 26         | เครื่องวัดอุณหภูมิสำหรับทดสอบ cooking loss  | 62   |
| 27         | การวัดแรงตัดผ่านเนื้อด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส(Texture analyzer)  | 62   |
| 28         | ขั้นตอนการวางชิ้นเนื้อเพื่อวัดแรงตัดผ่านเนื้อด้วย เครื่อง Texture analyzer  | 62   |
| 29         | การเตรียมตัวอย่างเนื้ออบแห้งเพื่อใช้วิเคราะห์โปรตีน   | 63   |
| 30         | ขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีนในเนื้อ  | 63   |
| 31         | ขั้นตอนการชั่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์  | 63   |
| 32         | การวิเคราะห์ไขมันในเนื้อ  | 63   |
| 33         | ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน มีระดับคะแนนการแทรกไขมัน ในเนื้อระดับ 1 (MBS , 1: น้อยที่สุด 5 : สูงสุด) | 64   |
| 34         | ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 64   |
| 35         | ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 65   |
| 36         | ลักษณะกล้ามเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 65   |
| 37         | ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 66   |
| 38         | ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน  | 66   |
| 39         | ลักษณะกล้ามเนื้อสันในแช่แข็งโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน   | 67   |

## สารบัญภาพผนวก (ต่อ)

| ภาพผนวกที่ |   | หน้า |
|------------|---|------|
| 40         | ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกแช่แข็งโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อย<br>ละ30ผสมกับฟางข้าวร้อยละ70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน | 67   |
| 41         | การจัดอบรมการผลิตใบและทางปาล์มหมัก ให้กับเกษตรกรเลี้ยงโคและ<br>แพะ  | 68   |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

สถิติการปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย พ.ศ. 2560 ประมาณ 5.3 ล้านไร่ มีผลผลิตปาล์ม น้ำมันประมาณ 13.5 ล้านตัน คิดเป็นเป็นสัดส่วนผลผลิตน้ำมันปาล์มทั่วโลกเพียงร้อยละ 3 จึงไม่มีศักยภาพในการกำหนดราคาจำหน่ายได้ส่งผลทำให้ราคาผลปาล์มสดมีราคาตกต่ำ ราคาปาล์มทะลาย ยังคงอยู่ระดับต่ำเฉลี่ย 2.30 – 2.50 บาทต่อกิโลกรัม เกษตรกรปลูกปาล์มประสบปัญหาขาดทุน (เชษฐ ชูดา, 2561) แนวทางการแก้ปัญหาควรนำผลพลอยได้จากปาล์มน้ำมันมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า ซึ่ง ใบและหางปาล์ม นับว่าเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโคพื้นเมือง สามารถตอบสนองแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารหยาดสำหรับ เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ได้อย่างยั่งยืน ทั้งนี้การเลี้ยงโคจำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการปลูกหญ้าอาหารสัตว์ ประกอบกับพื้นที่สาธารณะสำหรับใช้เป็นแหล่งอาหารสัตว์ลดลง การเลี้ยงโคเนื้อในภาคใต้มีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2548 โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง ได้แก่ ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส ขณะที่ปริมาณพืชอาหารสัตว์ มีปริมาณลดลงและไม่พอเพียง กับความต้องการ ของสัตว์เคี้ยวเอื้องในพื้นที่ (Wattanachant, 2010) ทำให้เกิดปัญหาโคเนื้อที่มีปริมาณไม่เพียงพอต่อ ความต้องการของตลาด ดังนั้น การแสวงหาอาหารหยาดเพื่อทดแทนหญ้าพืชอาหารสัตว์จึงมีความ จำเป็นสำหรับการเลี้ยงโคเนื้อในพื้นที่ภาคใต้ อาหารหยาดทดแทนที่สำคัญ คือ หางใบปาล์มน้ำมัน ซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตปาล์มน้ำมันมีคุณค่าทางโภชนาการที่สามารถนำมาใช้เลี้ยง สัตว์เคี้ยวเอื้องได้ เกษตรกรชาวมาเลเซียได้มีการนำหางปาล์มหมักมาเลี้ยงสัตว์อย่างแพร่หลาย (Ebrahimi et al., 2014) นัฐฐา (2552) ได้รายงานผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของหางใบปาล์ม น้ำมัน พบว่าประกอบด้วยอินทรีย์วัตถุ (organic matter) ร้อยละ 89.2 โปรตีนรวม (crude protein) ร้อยละ 7.86 เยื่อใยรวม (crude fiber) ร้อยละ 43.33

รายงานจากสำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ระบุว่า ภายในปี ค.ศ. 2050 คาดว่าจะมีประชากรโลกเพิ่มถึงกว่า 9,000 ล้านคน จากปัจจุบัน 7,000 ล้านคน ซึ่งการ เติบโตของประชากรมีแนวโน้มที่จะเพิ่มปริมาณความต้องการทรัพยากรธรรมชาติที่เป็นแหล่งพลังงาน และอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ หรือเอฟเอโอ ได้ ประเมินว่า โลกมีความจำเป็นที่จะต้องผลิตอาหารเพิ่มขึ้นจากในปัจจุบันประมาณร้อยละ 60 จึงจะ เพียงพอต่อความต้องการของอาหารที่เพิ่มขึ้นในปี ค.ศ. 2050 ซึ่งเป็นเรื่องท้าทายด้านข้อจำกัดของ พื้นที่เพาะปลูก เทคโนโลยี หรือการใช้ปุ๋ยที่มีอยู่ เพื่อที่จะให้เพียงพอ สำหรับสถิติโคเนื้อของประเทศ ไทยของกลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ รายงานว่าระหว่างปี พ.ศ. 2558-2561 จำนวนโคเนื้อที่เลี้ยงมี

แนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี (ตารางที่ 1) โดยในปีพ.ศ. 2561 มีจำนวนโคเนื้อทั้งสิ้น 4.92 ล้านตัว อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจำนวนโคเนื้อประเทศไทยเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณเนื้อโคของประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อผู้บริโภค พบว่าปริมาณการนำเข้าเนื้อโคแช่แข็งคุณภาพสูงและผลิตภัณฑ์รวมในช่วงปี พ.ศ. 2555-2561 เพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 5.26 ต่อปี โดยในปี พ.ศ. 2561 มีการนำเข้าเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ปริมาณรวม 17,343.46 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,863 ล้านบาท

ดังนั้น ประเทศไทยจึงควรมีการพัฒนาการผลิตโคเนื้อเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค โคพื้นเมืองไทยเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง โดยมีจุดเด่นที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีใน สภาพอากาศร้อนในเมืองไทย และเปลี่ยนอาหารหยาบคุณภาพต่ำเป็นเนื้อได้ดี เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในขณะที่ภาคการผลิตไม่สามารถผลิตโคเนื้อได้เพียงพอกับความต้องการจะเห็นได้จากตลาดระดับล่างคือโคพื้นเมือง และโคลูกผสมพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ มีความต้องการบริโภคเพิ่มสูงขึ้น และทำให้ราคาเนื้อโคปรับเพิ่มสูงจากกิโลกรัมละ 120 บาท เป็น 180 -220 บาทต่อกิโลกรัม

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2562) รายงานปริมาณการผลิตโคเนื้อตั้งแต่ปี 2558-2562 พบว่ามีอัตราเพิ่มขึ้นร้อยละ 25.55 ปริมาณการนำเข้าเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.99 และปริมาณการบริโภคเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.08 โดยโคที่ผลิตได้จะใช้บริโภคในประเทศเกือบทั้งหมดและมีบางส่วนที่ได้จากการนำเข้ามาโดยถูกต้องตามกฎหมายและลักลอบนำเข้าทั้งในรูปของโคมีชีวิตและเนื้อโคชำแหละในปี พ.ศ. 2561 ที่มีการนำเข้าโคมีชีวิตมีปริมาณ 262,730 ตัว มูลค่า 3,985.77 ล้านบาท และนำเข้าเนื้อโคและผลิตภัณฑ์จากออสเตรเลียและนิวซีแลนด์มีปริมาณ 13,925.449 ตัน (มูลค่า 2,917.95 ล้านบาท) ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้น 0.99 เท่า เมื่อเทียบกับปี 2561 และปี 2562 คาดว่าการนำเข้าโคมีชีวิตรวมถึงเนื้อโคและผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2

**ตารางที่ 1** จำนวนโคเนื้อในประเทศไทยตั้งแต่ พ.ศ. 2558-2561

| ปี พ.ศ. | จำนวนโคเนื้อ (ล้านตัว) |
|---------|------------------------|
| 2558    | 4.90                   |
| 2559    | 4.90                   |
| 2560    | 4.91                   |
| 2561    | 4.92                   |

ที่มา : ดัดแปลงจากกลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ กรมปศุสัตว์ (2561)

**ตารางที่ 2** ปริมาณการผลิต การส่งออก การนำเข้า การบริโภคเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ของไทย  
ปี 2558 – 2562

| รายการ                            | พ.ศ.   |        |        |        | อัตราเพิ่ม (%) | พ.ศ.(คาดการณ์)<br>2562 |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|------------------------|
|                                   | 2558   | 2559   | 2560   | 2561   |                |                        |
| การผลิต <sup>1/</sup> (ล้านตัว)   | 0.91   | 0.94   | 0.99   | 0.99   | 2.55           | 1.02                   |
| น้ำหนักรีด (พันตัน)               | 131.38 | 157.58 | 161.73 | 168.84 | 5.70           | 170.97                 |
| ส่งออก <sup>2/</sup> (พันตัน)     | 7.34   | 0.17   | 0.11   | 0.10   | -              | -                      |
| นำเข้า <sup>2/</sup> (พันตัน)     | 14.41  | 10.48  | 12.18  | 13.93  | 0.99           | -                      |
| การบริโภค <sup>1/</sup> (ล้านตัว) | 1.26   | 1.26   | 1.26   | 1.26   | 0.08           | 1.26                   |
| น้ำหนักรีด (พันตัน)               | 181.01 | 211.51 | 211.68 | 211.89 | 3.21           | 212.02                 |

ที่มา: <sup>1/</sup> สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2562)

<sup>2/</sup> กรมศุลกากร

ดังนั้นการนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะปลูกปาล์มมาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการเทคโนโลยีชีวภาพสำหรับการใช้เป็นอาหารหยาบสำหรับการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งเป็นการพัฒนาเศรษฐกิจแบบองค์รวม ที่จะพัฒนาเศรษฐกิจ 3 มิติไปพร้อมกัน ได้แก่ เศรษฐกิจชีวภาพ (Bio economy) ระบบเศรษฐกิจชีวภาพ มุ่งเน้นการใช้ทรัพยากรชีวภาพเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม โดยเน้นการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง เชื่อมโยงกับ เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) คำนึงถึงการนำวัสดุต่าง ๆ กลับมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด และทั้ง 2 เศรษฐกิจนี้ อยู่ภายใต้เศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) ซึ่งเป็นการพัฒนาเศรษฐกิจที่ไม่ได้มุ่งเน้นเพียงการพัฒนาเศรษฐกิจเท่านั้น แต่ต้องพัฒนาควบคู่ไปกับการพัฒนาสังคมและการรักษาสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมดุลให้เกิดความมั่นคงและยั่งยืนไปพร้อมกัน โดยเปลี่ยนข้อได้เปรียบที่ไทยมีจากความหลากหลายทางชีวภาพและวัฒนธรรม ให้เป็นความสามารถในการแข่งขันด้วยนวัตกรรม เพื่อให้เกิดเศรษฐกิจ (Bio Circular Economy Green : BCG) ที่เติบโต แข่งขันได้ในระดับโลก เกิดการกระจายรายได้ลงสู่ชุมชน ลดความเหลื่อมล้ำ ชุมชนเข้มแข็ง มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาที่ยั่งยืน การใช้ประโยชน์จากไบโอดีเซลจากสวนปาล์มในช่วงเก็บเกี่ยวผลปาล์มผ่านกระบวนการหมัก เพื่อใช้อาหารหยาบสำหรับการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง

## 1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การปรับปรุงคุณภาพทางโภชนาของทางไบโอดีเซลน้ำมัน ด้วยวิธีการทางเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (Bioconversion) โดยการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเยื่อใยของทางไบโอดีเซลน้ำมันและการสร้างกรดเพื่อให้สามารถเก็บรักษาทางปาล์มหมักได้นานโดยไม่เสื่อม

เสีย รวมทั้งมีส่วนปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาะของทางใบปาล์มน้ำมันซึ่งการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์ เพื่อเร่งกระบวนการหมัก

โดยมีสมมติฐานคือ

1. ปริมาณการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ ที่มีความสามารถหมักใบและทางปาล์ม เพิ่มคุณค่าทางโภชนาะ และการย่อยได้ของทางใบปาล์มน้ำมันสูงขึ้นเพื่อเพิ่มการใช้วัตถุดิบที่เป็นเศษเหลือทางการเกษตรเป็นอาหารสัตว์ได้อย่างดีมีประสิทธิภาพ

2. สามารถใช้ทางใบปาล์มหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบของโค เพื่อการลดต้นทุนเพิ่มรายได้แก่เกษตรกร

#### 1.2.1.สถานการณ์การเพิ่มการผลิตปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชตระกูลปาล์ม (Palmae หรือ Rrecaceae) ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name): *Elaeis guineensis Jacq.* เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ออกดอกเป็นช่อ เป็นจั่นแยกสาขาเป็นหลายช่อดอกมีดอกตัวผู้ และดอกตัวเมียอยู่แยกกันคนละดอก แต่อยู่ในต้นเดียวกัน (monoecious) เป็นพืชผสมข้ามตัวเอง (cross-pollinated) ในแต่ละต้นจะเกิดช่อดอกได้ประมาณ 10 - 15 ช่อดอก มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 24-30 เดือนหลังจากปลูก แต่ละต้นให้หลายปาล์มสด 15 ทลาย แต่ละทลายมีน้ำหนักประมาณ 15 -20 กิโลกรัมต่อทลาย ซึ่งจำนวน หรือน้ำหนักขึ้นกับวิธีการปลูก และอายุของปาล์ม ส่วนผล มีผลเป็นทะลายประกอบด้วยก้านทะลาย ช่อทะลาย และผล (fruitlets) มีประมาณ 1,000-1,300 ผลต่อทลาย ปาล์มน้ำมันมีระบบรากแบบ fibrous root system โดยรากเกือบทั้งหมดเจริญตามแนวอนระดับใกล้ผิวดิน ความลึกประมาณ 2 เมตร

พื้นที่ปลูกปาล์ม และผลผลิตทั้งประเทศพบว่า มีปริมาณเนื้อที่ปลูกเพิ่มขึ้นจาก 4,877,288 ไร่ ในปี พ.ศ. 2560 เป็น 5,068,989 ไร่ ในปี พ.ศ. 2561 และให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 13,037,289 ตันในปี พ.ศ. 2560 เป็น 13,960,917 ตัน ในปี พ.ศ.2561 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) คิดคำนวณ เป็นผลพลอยได้ของทางใบปาล์มน้ำมันจะได้ประมาณ 2,190,232,704 ทางใบต่อปีจากตัวเลข ดังกล่าว คาดว่าจะมีผลผลิตทางใบปาล์มน้ำมันสดประมาณ 20.87 ล้านตัน/ปี (น้ำหนักสดประมาณ 9.53 กิโลกรัมต่อทางใบ) (Islam et al., 2000) ประกอบกับในปัจจุบันพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในภาคใต้กำลังขยาย มากขึ้นทำให้ผลพลอยได้เหล่านี้มีมากขึ้นด้วย ขณะที่ในประเทศมาเลเซีย มีผลพลอยได้ของทางใบปาล์มน้ำมันประมาณ 26 ล้านตันต่อปี (Wanrosli et al., 2004)

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชยืนต้นที่มีอายุยืนประมาณ 25 ปี จัดเป็นพืชน้ำมันที่สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทั้งที่เป็นอาหารโดยตรง และผลพลอยได้อื่นๆ เช่น ทางใบปาล์มน้ำมัน (oil palm frond, OPF) สามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เกษตรกรจะต้องตัดทางใบปาล์มน้ำมันทุกครั้งที่มีการเก็บเกี่ยวทะลาย ซึ่งโดยทั่วไปเกษตรกรจะเก็บเกี่ยวทะลายทุกๆ 15 วัน ดังนั้น ในแต่ละเดือนจะมีการตัดทางใบปาล์มออกอย่างน้อย 2 ทางใบต่อต้น หรือคิดเป็น 44 ทางใบต่อไร่ เมื่อใช้อัตรากการปลูก 22

ต้นต่อไร่ (ธีระและคณะ, 2548) จากการศึกษาวิจัย และคณะ (2546) รายงานว่า จำนวนทางใบปาล์ม น้ำมัน และน้ำหนักขึ้นอยู่กับอายุของปาล์ม โดยจำนวนทางใบ และน้ำหนักใบปาล์มน้ำมันมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้น จากตารางพบว่าน้ำหนักทางใบปาล์ม และใบปาล์มที่มีอายุระหว่าง 3-18 ปี มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 9.53 และ 2.06 กิโลกรัม/ทางใบ ตามลำดับ ซึ่งเป็นอาหารหยาบที่มีศักยภาพสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ดังนั้น การนำทางใบปาล์มน้ำมันมาพัฒนาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารหยาบ เพราะนอกจากจะเป็นการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ที่เหลือใช้จากการปลูกปาล์มน้ำมันแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของทางใบปาล์มน้ำมันอีกด้วย ทางใบปาล์มน้ำมันจำนวนนี้สามารถนำไปใช้เป็นอาหารหยาบทดแทนสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องในภาวะที่มีการขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ หรือในช่วงที่อาหารหยาบประเภทอื่นมีราคาแพงได้

#### 1.2.2. แนวทางการใช้ทางใบปาล์มน้ำมันรูปแบบต่างๆ เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

การใช้ประโยชน์จากทางใบปาล์มน้ำมันในสัตว์ได้มีการศึกษาวิจัยมาเป็นเวลานาน เนื่องจากสัตว์เคี้ยวเอื้องมีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากพืชอาหารชนิดต่างๆ ได้สูง โดยอาศัยกิจกรรมและเอ็นไซม์ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระเพาะรูเมน โดยจุลินทรีย์ทำการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโพลีแซ็กคาไรด์ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส หรือเพนโตส โดยผ่านวิถีต่างๆ จากนั้นกลูโคส หรือเพนโตสจะถูกหมักในกระเพาะรูเมนอย่างรวดเร็ว และถูกสังเคราะห์ไปเป็นกรดไพรูวิก (pyruvic acid) หรือไพรูเวท (pyruvate) ซึ่งเป็นตัวกลางที่สำคัญในการสังเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ ประมาณร้อยละ 60 ของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นเป็นกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids, VFAs) ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้าย (end-products) ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid, C2) กรดบิวทีริก (butyric acid, C4) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid, C3) เป็นหลัก และกรดวาเลอริก (valeric acid, C5) ไอโซวาเลอริก (isovaleric acid) และไอโซบิวทีริก (isobutyric acid) อาจพบบ้างแต่ในปริมาณน้อย ซึ่งสัตว์จะดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป สำหรับแนวทางการนำทางปาล์มน้ำมันมาใช้เป็นอาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค แพะ มีอยู่ 3 แบบ ดังนี้

##### 1.2.2.1. การใช้ใบปาล์มสด

ทางใบปาล์มน้ำมัน (oil palm frond, OPF) ในการปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทยจะมีทางใบปาล์มน้ำมันเป็นผลพลอยได้ในระบบการเก็บเกี่ยว ซึ่งน้ำหนักแห้งของทางใบที่ตัดทิ้งประมาณ 15 ทางใบต่อต้นต่อปี โดยคิดเป็นน้ำหนักได้ 3 กิโลกรัมต่อทางใบโดยในสภาพเป็นจริงทางใบแห้งที่ตัดได้จากปาล์มที่เริ่มตัดแล้ว 1 ปีจะมีน้ำหนักประมาณ 1.6 ต้นต่อไร่ โดยทางใบในแต่ละต้นจากปาล์มอายุ 1-6 ปี จะมีทางใบ 56-64 ทางใบ และในปาล์มอายุ 7 ปีขึ้นไปจะมี ทางใบ 36-48 ทางใบ ซึ่งทางใบปาล์มเหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่นทำเป็นวัสดุคลุมดิน ทำปุ๋ยหมัก ทำเชื้อ

กระดาศ และใช้ทำเป็นเชื้อเพลิง นอกจากนี้การนำมาใช้เป็นอาหารหยาบทดแทนหญ้าในช่วงที่อาหารหยาบหลักขาดแคลนก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งทางใบปาล์มมีโปรตีน ค่อนข้างต่ำ คือประมาณร้อยละ 3-5 (โอภาส และคณะ 2549) ดังนั้นเมื่อให้สัตว์กินทางปาล์มน้ำมันอย่างเดียวจึงมีโภชนะไม่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ และปัญหาเรื่องการย่อยได้ต่ำก็เป็นปัญหาใหญ่ในการนำมาใช้ประโยชน์ โดยข้อมูลพื้นฐานทางใบปาล์มจะสามารถถูกย่อยได้ประมาณร้อยละ 35 (คิดเป็นวัตถุแห้ง) ดังนั้นหากต้องการนำมาใช้ประโยชน์จึงควรจะมีการพัฒนาหรือแปรรูปก่อนเพื่อเพิ่มคุณภาพและเพิ่มการย่อยได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของโภชนะในทางใบปาล์ม พบว่ามีโปรตีน ร้อยละ 4.7 เยื่อใยร้อยละ 38.5 ผนังเซลล์ร้อยละ 78.7 ลิกโนเซลลูโลสร้อยละ 55.6 เถ้าร้อยละ 3.2 คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายร้อยละ 20 และพลังงาน ใช้ประโยชน์ได้ 5.66 เมกะจูลต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง แนวทางการนำทางใบปาล์มไปใช้เลี้ยงสัตว์มีหลายแนวทาง เช่นการแขวนให้แพะตั้งกินคล้ายกับปล่อยให้กินในธรรมชาติ หรือนำมาสับให้มีขนาด 2 ถึง 5 ซม. ให้สัตว์กินในสภาพสด และเสริมด้วยอาหารชั้น หรือนำทางใบปาล์มน้ำมันมาสับและทำการหมักประมาณ 30-60 วัน โดยไม่ต้องเสริมวัตถุดิบอื่นๆ ในการหมัก หรือสามารถเติมกากน้ำตาลในอัตราส่วนร้อยละ 5 ของทางปาล์มน้ำหนักแห้ง การให้สัตว์กินทางใบปาล์มเป็นอาหารหยาบต้องมีการเสริมอาหารชั้นให้มากขึ้นประมาณร้อยละ 25 เมื่อเทียบกับการใช้หญ้าสดเป็นอาหารหยาบ การหมักทางใบปาล์มเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะเก็บรักษาทางใบปาล์มเพื่อเป็นอาหารหยาบไว้ใช้ในยามขาดแคลนหรือประสบภัยทางธรรมชาติ การหมักทางใบปาล์มที่ผ่านการสับละเอียดแล้ว โดยไม่เติมอะไรเลย เทียบกับ การผสมกากน้ำตาล หรือผสมปุ๋ยยูเรียลงไปด้วย พบว่าการหมักด้วยกากน้ำตาล 2 ถึง 3 กิโลกรัมต่อทางใบปาล์มสด 100 กิโลกรัมจะดีที่สุด (คิดเป็นร้อยละ 5 ของทางใบปาล์มแห้ง) เพราะการหมักด้วยกากน้ำตาลจะทำให้โคกินทางใบปาล์มได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับการหมักด้วยยูเรีย 2 กิโลกรัมต่อทางใบปาล์ม 100 กิโลกรัมสด (คิดเป็นร้อยละ 5 ของทางใบปาล์มแห้ง) หรือใช้การหมักโดยไม่เติมอะไรเลยก็สามารถทำได้เช่นกัน เพราะการหมักด้วยยูเรียหรือกากน้ำตาลจะไม่ได้ช่วยให้ทางใบปาล์มย่อยได้ดีขึ้นมากนัก โดยเฉพาะยูเรียแล้วพบว่าการย่อยได้ของทางใบปาล์มหมักลดลงและสัตว์ไม่ชอบกินทางใบปาล์มที่หมักด้วยยูเรีย แต่การหมักด้วยกากน้ำตาลพบว่า สัตว์กินได้มากกว่า การหมักที่ดีควรมีการเติมเกลือประมาณ 2 กิโลกรัมต่อทางใบปาล์ม 100 กิโลกรัม ร่วมด้วยโดยใช้วิธีโรยทับส่วนบนของทางใบปาล์มที่หมักเกลือจะละลายและซึมผ่านลงไป ในทางใบปาล์มที่หมักและจะช่วยเพิ่มความอร่อยในการกินอาหาร

1.2.2.2. การใช้ทางใบปาล์มในรูปอาหารผสมเสร็จ หรือ total mix ration (TMR) ปกติการใช้ทางใบปาล์มเป็นอาหารหยาบสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องจะทำให้สัตว์กินได้ในปริมาณที่จำกัด เพราะขึ้นอยู่กับความนุ่ม ความอร่อย และการย่อยได้ที่ต่ำ เมื่อเทียบกับหญ้าและฟางข้าว การใช้อัตราส่วนของทางใบปาล์มสับต่ออาหารชั้นที่ได้รับการผสมในอัตราส่วนที่แน่นอนก่อนนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์นี้เรียกว่า อาหารผสมเสร็จ หรือ total mix ration (TMR) ซึ่งการผสมที่ใช้อัตราส่วน

แน่นอนนี้จะทำให้สัตว์กินอาหารที่มีโภชนะได้โดยรวมแล้วใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์มากที่สุด เมื่อเทียบกับการแยกอาหารหยาบและอาหารข้นให้ในเวลาที่แตกต่างกัน หรือไม่มีการผสมกัน ทำให้สัตว์เลือกกินอาหารอย่างใดอย่างหนึ่งได้ ซึ่งในที่สุดก็จะส่งผลต่อปริมาณโภชนะที่สัตว์ได้รับหลังจากมีการย่อยได้แล้ว อัตราส่วนระหว่างทางใบปาล์มต่ออาหารข้น คือ 40 ต่อ 60 เป็นอัตราส่วนที่สมควรจะใช้ในการผสม TMR และถ้าสัตว์เลี้ยงอยู่ในช่วงให้น้ำนมหรือต้องการขุนช่วงกลางถึงปลายก่อนส่งขาย ควรลดทางใบปาล์มลงเหลือ 30 ต่ออาหารข้น 70 อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของทั้งทางใบปาล์มน้ำมันและอาหารข้นก่อนนำมาผสมกันเพื่อให้ได้ปริมาณของโภชนะโดยรวมแล้วเพียงพอต่อการให้ผลผลิตของสัตว์ในแต่ละช่วงยังมีความจำเป็นมากในการผสมอาหาร TMR การให้กินในรูปแบบนี้จะทำให้โคหรือแพะกินทางใบปาล์มได้มากขึ้น สถานะการหมักในกระเพาะก็เกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องและเหมาะสมกับการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อเทียบกับการแยกอาหารหยาบและอาหารข้นให้คนละครั้ง

### 1.2.2.3. การปรับปรุงคุณภาพของทางใบปาล์มน้ำมัน

Paengkoum (2003) รายงานว่าผลของการอบทางใบปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำแรงดันสูงเปรียบเทียบกับการอัดเม็ดพร้อมอบด้วยไอน้ำแรงดันสูง ไม่มีผลต่อคุณภาพของทางปาล์ม เมื่อเปรียบเทียบกับทางใบปาล์มสับธรรมดา พบว่า มีระดับโปรตีนไม่แตกต่างกันคือร้อยละ 4.6 มีเยื่อใย NDF ร้อยละ 67 และ ADF ร้อยละ 42 แต่เมื่อนึ่งทางใบปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำแรงดันสูงทำให้ความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนของโคที่เวลาต่างๆ สูงกว่าทางใบปาล์มน้ำมันธรรมดา โดยพบว่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งเพิ่มสูงขึ้นจากร้อยละ 45 เป็นร้อยละ 56 สอดคล้องกับหลักการที่นำทางใบปาล์มน้ำมันมาหนึ่งด้วยแรงดันสูง จะมีผลให้การย่อยได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากทำให้พันธะการเกาะกันของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ที่เกาะกับลิกนิน ลดลง แต่ทั้งนี้ความคุ้มทุนในการอบทางใบปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำแรงดันสูง คงยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการเตรียมอาหารหยาบสำหรับสัตว์เพราะมีต้นทุนที่สูงมาก การปรับปรุงอาหารข้นหรือเสริมแหล่งพลังงานหรือโปรตีนในอาหารที่ใช้เนื่องจากทางใบปาล์มเป็นอาหารหยาบเป็นส่วนหนึ่งที่สามารถช่วยทำให้มีการกินและย่อยทางใบปาล์มให้มากขึ้นได้ จากสภาพความเหมาะสมในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น การใช้ทางปาล์มน้ำมันร่วมกับแหล่งไนโตรเจนระดับที่สูงขึ้น เนื่องจากทางปาล์มน้ำมันประกอบด้วยไนโตรเจนหรือโปรตีนค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงได้มีการเสริมไนโตรเจน หรือยูเรียในอาหารโดย Paengkoum (2003) ได้ทดลองใช้ทางใบปาล์มอบไอน้ำแรงดันสูงเป็นอาหารหยาบสำหรับแพะและมีการเสริมยูเรียร่วมกับทางปาล์มน้ำมันในอาหารแพะพันธุ์ชานเนน พบว่า การใช้ยูเรียเสริมในอาหารสูงถึงร้อยละ 3 คือ 48.6 กรัมต่อวัน แพะมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น แต่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเสริมยูเรียสูงถึงร้อยละ 4 และ 5 โดยเฉพาะระดับร้อยละ 5 ทำให้น้ำหนักลดลง ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วย ระดับปริมาณการกินได้ การย่อยได้ การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในรูเมนลดลง รวมทั้งสมดุลของโปรตีนและพลังงาน โดยการใช้ทางใบ

ปาล์มเป็นอาหารควรมีการเสริมไนโตรเจน (ยูเรีย) และพลังงานที่หมักย่อยได้เร็วจำพวกแป้งหรือน้ำตาลให้เหมาะสม จากการศึกษาโดยการเสริมพลังงานร่วมกับการใช้ยูเรียในระดับสูง ในแพะที่ได้รับทางปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งอาหารหยาบ พบว่าการใช้พลังงานในระดับสูงมากๆ สามารถใช้ร่วมกับยูเรียในระดับสูงได้ถึงร้อยละ 4 แต่ไม่ควรใช้ยูเรียสูงถึงร้อยละ 5 เพราะจะทำให้การเจริญเติบโตลดลงรวมทั้งปริมาณการกินได้ การย่อยได้ การสังเคราะห์จุลินทรีย์ ลดลงด้วย ในการเสริมโปรตีนไหลผ่านโดยใช้กากถั่วเหลืองในระดับสูงร้อยละ 4 ในสูตรอาหารก็ช่วยในการกินได้และการเจริญเติบโตของแพะได้เช่นกัน

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาของทางใบปาล์มน้ำมันมีโปรตีนประมาณร้อยละ 4.2-6.25 เยื่อใยร้อยละ 44.8 เถ้าร้อยละ 4.7-6.6 (Ishida and Abu Hassan, 1997; Khamseekhiew et al., 2002; Zahari and Alimon, 2003) ขณะที่ Abu Hassan et al.(1995); Abu Hassan et al. (2006) รายงานว่า องค์ประกอบทางโภชนาของทางปาล์มน้ำมันสด (fresh oil palm frond) นั้นประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 2-6 เยื่อใยร้อยละ 38.5 ผนังเซลล์ร้อยละ 78.7 ลิกโนเซลลูโลสร้อยละ 55.6 เถ้าร้อยละ 3.2 คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายร้อยละ 20 และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 5.66 เมกะจูลต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ทำนองเดียวกับวุฒิชัย (2549) ที่รายงานทางใบปาล์มสดมีโปรตีนร้อยละ 5.2 ส่วนโภชนาอื่นๆ นั้นมีค่าใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม คุณค่าทางโภชนาอาจผันแปรขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อายุของปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน อายุที่เก็บเกี่ยว ความถี่ในการเก็บสัดส่วนของใบกับแกนทางใบ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และสภาพอากาศ เป็นต้น สรุปทางใบปาล์มน้ำมันประกอบด้วยวัตถุแห้ง โปรตีน เถ้า ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน เฉลี่ยร้อยละ 31.1-39.6, 4.2-6.3, 3.2-10.0, 60.2-69.5, 45.5-55.6 และ 22.5-47.4 ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีโดยเฉพาะโปรตีน ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน จะผันแปรไปตามส่วนประกอบของทางใบคือทางใบปาล์มน้ำมันทั้งทางใบจะมีปริมาณเยื่อใยมากกว่าทางใบปาล์มที่ตัดส่วนก้านใบออก เนื่องจากส่วนก้านใบจะเป็นส่วนที่มีปริมาณเยื่อใยมากที่สุด และมีโปรตีนต่ำสุด ขณะที่ใบย่อยปาล์มน้ำมัน (leaflets) มีโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 11 สูงกว่าทางใบปาล์มน้ำมัน แสดงให้เห็นว่าใบย่อยปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งอาหารหยาบที่มีศักยภาพสูงสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพราะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าระดับความต้องการเพื่อการดำรงชีพ (ร้อยละ 6.25) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Playne, 1972) สอดคล้องกับรายงานของ Oshio et al. (1990) ที่รายงานทางใบย่อยปาล์มน้ำมันมีโปรตีน และไขมันสูงกว่าทางใบปาล์มน้ำมัน ขณะที่ ทางใบปาล์มน้ำมัน และใบย่อยปาล์มน้ำมันมีเซลลูโลส (cellulose) ต่ำกว่าเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ดังนั้น ในอนาคตเฉพาะใบย่อยปาล์มน้ำมันน่าจะเป็นแหล่งอาหารหยาบที่มีศักยภาพสูงสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ดี

### 1.2.3. กระบวนการหมัก (Fermentation processes)

กระบวนการผลิตพืชอาหารหมัก (silage) เป็นวิธีการเก็บถนอมพืชอาหารสัตว์ โดยอาศัยกระบวนการหมัก ซึ่งกระบวนการหมักต้องอาศัยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) ในการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate, WSC) ให้กลายเป็นกรดอินทรีย์ ในกระบวนการหมักจะมีการสะสมกรดแลคติก (lactic acid) มีผลทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง เป็นผลให้การทำงานของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ และรา ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของพืชหมักมีการหยุดทำงานลง (Woolford, 1984)

ในกระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์เมื่อเซลล์พืชตายลง จนกลายเป็นสภาวะที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นจะมีความร้อนเกิดขึ้นในระยะ 2-3 วันแรกของการหมักจากนั้นความร้อนค่อยๆลดภายใน 2-3 สัปดาห์ จนทำให้เกิดกรดหลายชนิด รวมทั้งแอลกอฮอล์และก๊าซต่างๆ (สายัณห์ ทัดศรี, 2542) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงการหมักอาหารหยาบ แบ่งได้เป็น 5 ระยะ ดังนี้ (ภัทรภร ทศพงษ์, 2560)

1) ระยะที่ 1 ใช้เวลา 1-2 วันหลังปิดหลุมหมัก โดยปกติก๊าซออกซิเจนจะถูกใช้หมดภายใน 4-5 ชั่วโมง เกิดเป็นความร้อนและน้ำ ซึ่งจะทำให้ความนำกินของหญ้าหมักลดลง โปรตีนบางส่วนซึ่งอาจสูญเสียสูงถึงร้อยละ 50

2) ระยะที่ 2 เกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 2-4 หลังปิดหลุมหมัก เป็นระยะเกิดกรดอะซิติก จะเริ่มมีการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำกับโปรตีนบางชนิดให้กลายเป็นกรดอะซิติก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงจาก 6.0 ถึง 4.2 เมื่อค่าความเป็นกรดลดไปถึงระดับนี้ แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกจะเริ่มถูกทำลาย

3) ระยะที่ 3 เป็นระยะที่เริ่มมีการผลิตกรดแลคติก เป็นระยะที่มีความสำคัญขณะที่กรดอะซิติกเริ่มลดลง แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเพิ่มปริมาณขึ้นและทำให้กรดแลคติกเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงไปถึง 4.2 หรือต่ำกว่า กรดชนิดนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์สร้างเป็นพลังงานได้

4) ระยะที่ 4 เป็นระยะผลิตกรดแลคติกอย่างต่อเนื่องไปอีกประมาณ 2 สัปดาห์ หรือมากกว่า อุณหภูมิเริ่มลดลงเหลือประมาณ 26-27 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดต่างลดลงที่ระดับ 3.8 ซึ่งส่งผลให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดลงและหยุดหรือสิ้นสุดลง

5) ระยะที่ 5 เป็นระยะเก็บรักษา ถ้าสภาพแวดล้อมทุกอย่างเป็นไปด้วยดี พืชหมักจะยังคงเป็นพืชหมักที่เก็บไว้ในรูปหมักคงไปได้นาน โดยอาศัยกรดแลคติกป้องกันไม่ให้เกิดการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตต่อไปอีก

พืชหมักที่มีคุณภาพดีควรมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.2 หรืออาจต่ำกว่านี้ ตามมาตรฐานหญ้าหมักยุโรป หญ้าหมักที่มีคุณภาพดีกล่าวคือต้องมีกรดแลคติกในปริมาณที่สูงและมี

กรดอะซิติกต่ำ ส่วนกรดบิวทีริกควรมีอยู่ต่ำที่สุดประกอบด้วยกรดแลคติกร้อยละ 1.5-2.5 กรดอะซิติก ร้อยละ 0.5-0.8 กรดบิวทีริกร้อยละ 0.1 และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH<sub>3</sub>-N) น้อยกว่า ร้อยละ 5-8 ของไนโตรเจนรวม หรือไม่เกินร้อยละ 15 มิฉะนั้นจะทำให้หญ้าหมักคุณภาพลดลง(สายัณห์, 2542)

#### 1.2.3.1 จุลินทรีย์ของพืชอาหารหมัก

ในกระบวนการหมักพืชอาหารจะมีแบคทีเรียและเชื้อราพวกที่ใช้ออกซิเจนติดอยู่ตามพืชอาหารสัตว์เป็นส่วนใหญ่ แต่ในสภาพปราศจากออกซิเจน ในการหมักจะมีจุลินทรีย์พวกอื่นจะมีการเจริญเติบโตขึ้นมาแทน ได้แก่ *Escherichia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* และ *Pediococcus* นอกจากนี้ยังมีพวกยีสต์ที่สามารถอยู่ได้ทั้งสองสภาพ (facultative anaerobes) (พิพัฒน์, 2558)

#### 1.2.3.2 แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก

แบคทีเรียกลุ่มนี้พบอยู่ทั่วไปตามชิ้นส่วนของพืช โดยจะเพิ่มจำนวนในระหว่างการเก็บเกี่ยวและการหมักพืช จัดเป็นพวก facultative ซึ่งติดอยู่กับผิวของพืชอาหารสดในปริมาณมาก แบคทีเรียกลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ พวก homofermentative เป็นพวกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactice*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium* และ *Streptococcus lactis* ส่วนพวก heterofermentative ซึ่งได้แก่ *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus viridescens* และ *Leuconostoc mesenteroides* เป็นพวกที่มีการผลิตกรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอล ชนิดต่างๆ ของแบคทีเรีย (วิศิษฐิพรและ สมนึก, 2544)

แบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* มีบทบาทที่สำคัญในการผลิตหญ้าหมัก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเซลล์เป็นท่อน (rod-shaped cell) มีขนาดปกติ 0.5 x 1.0-10.0 ไมโครเมตร เซลล์เป็นท่อนยาวแต่อาจพบเซลล์สั้นเกือบกลมก็ได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่แต่อาจพบบ้างที่เซลล์เคลื่อนที่ด้วย Peritrichous flagella พบทั้ง microaerophiles, facultative anaerobes และ anaerobes การเจริญมักถูกกระตุ้นด้วยร้อยละ 5 carbon dioxide อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส เป็นพวก chemoorganotrophs ที่ต้องการธาตุอาหารสมบูรณ์ และสร้างกรดแลคติกเป็นผลผลิตหลักอย่างน้อยร้อยละ 50 จากกลูโคสและ คาร์โบไฮเดรต (สุรลักษณ์และคณะ, 2545) หลังจากเริ่มมีการหมักโดยแบคทีเรียกลุ่ม homofermentative จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว จะสลายพวกแบคทีเรียที่ละลายน้ำได้ ได้เป็นกรดอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่ คือ กรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของอาหารหมักลดลงทันที โดยกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจะชะงักการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อค่าความเป็นกรดต่างลดลงถึง 3.8-4.0 กิจกรรมของจุลินทรีย์จะหยุดทั้งหมด ทำให้ได้

พืชอาหารหมักที่มีสภาพดีและลักษณะเหมาะสมซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานถ้ายังคงอยู่ในสภาพปราศจากออกซิเจน (วิศิษฐ์พรและ สมนึก, 2544)

#### 1.2.4 พันธุ์โคเนื้อ

พันธุ์โคเป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงโคขุน โคเนื้อที่มีการเลี้ยงในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ แต่สายพันธุ์โคเนื้อที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยมีดังนี้ (ภัทรภร, 2560)

1.2.4.1 โคพื้นเมืองของไทย (Thai native breeds) โคพื้นเมืองของไทยจัดเป็นพวก *Bos indicus* โดยทั่วไปมีลักษณะรูปร่างกะทัดรัด ลำตัวเล็ก มีสีไม่แน่นอน โคเพศผู้โตเต็มที่มีน้ำหนัก 400 - 500 กิโลกรัม เพศเมียโตเต็มที่มีน้ำหนัก 300 - 350 กิโลกรัม โดยภาพรวมโคพื้นเมืองไทยมีแนวหลังเกือบเป็นเส้นตรง ไม่มีตะโพนกหรือมีตะโพนกขนาดเล็ก เหนียงคอไม่หย่อนยาน ผิวหนังมีหลายสี เช่น สีแดง สีดำ และสีขาว ในขณะที่โคพื้นเมืองภาคใต้ตัวผู้จะมีตะโพนกใหญ่ บั้นท้ายเล็กในลักษณะของโคชน โคพื้นเมืองภาคเหนือในพื้นที่จังหวัดลำพูน มีสีขาว โคพื้นเมืองทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือมักจะมีขนาดโตกว่าโคภาคอื่นเพราะมีพันธุ์โคอินเดียผสมอยู่พอสมควร อัตราการเจริญเติบโตโดยทั่วไปไม่เกิน 500 กรัมต่อวัน โคพื้นเมืองเป็นโคที่ทนทานต่ออากาศร้อน ทนแมลงรบกวน มีความต้านทานโรคในท้องถิ่นได้ดีมากเลี้ยงลูกเก่ง เหมาะสำหรับใช้เป็นแม่โคพื้นฐานกับโคพันธุ์ต่างประเทศมาผสมพันธุ์กับพ่อพันธุ์อื่น เช่น บราห์มันและชาร์โรเลส์ เป็นต้น

1.2.4.2 โคพันธุ์อเมริกันบราห์มัน (American Brahman) ลักษณะทั่วไปของโคอเมริกันบราห์มัน มีตะโพนกและเหนียงคอ ลำตัวมีสีขาวหรือสีเทาตลอด และมีสีแดง เรียกว่า บราห์มันแดง (Red Brahman) ทนทานต่อสภาพอากาศร้อน แมลง และพยาธิในเขตร้อนได้ดี ให้นมดี เลี้ยงลูกเก่ง หากินและแทะเล็มเก่งในถิ่นทุรกันดารได้ดี นิยมใช้ทำเป็นโคลูกผสม เพศผู้โตเต็มที่มีน้ำหนัก 800 - 900 กิโลกรัม ส่วนเพศเมียมีน้ำหนัก 500 - 700 กิโลกรัม นิยมนำมาผสมกับโคยุโรป เพื่อสร้างพันธุ์ใหม่และสำหรับการเลี้ยงขุน ลูกผสมโคบราห์มันที่ได้สามารถ ปรับตัวเข้ากับสภาพอากาศร้อนได้ดี โตเร็ว และเนื้อีคุณภาพดี เช่น พันธุ์ชาร์เบรย์ (Chabray) พันธุ์แบรงกัส (Brangus) และพันธุ์บราห์ฟอร์ด (Braford) เป็นต้น

1.2.4.3 โคพันธุ์ชาร์โรเลส์ (Charolais) โคพันธุ์ชาร์โรเลส์มีลักษณะทั่วไป มีสีขาวถึงครีม เป็นโคที่มีขนาดใหญ่ รูปร่างมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีกล้ามเนื้อตลอดทั้งตัว โคเพศผู้โตเต็มที่มีน้ำหนัก 1,000-1,200 กิโลกรัม เพศเมียมีน้ำหนัก 800-850 กิโลกรัม นิสัยเชื่อง มีการอัตราเจริญเติบโตดี แม่โคให้นมดี เลี้ยงลูกเก่ง ให้คุณภาพเนื้อดีมาก เป็นโคที่นำมาผสมเพื่อการผลิตเป็นโคขุน มีรูปร่างยาวเพรียวกว่าโคพันธุ์ยุโรปอื่นๆ มีขาสั้น ลำตัวเล็ก มีเปอร์เซ็นต์ซากสูงกว่าโคพันธุ์อื่นๆ คุณภาพซากดีมาก เนื้อีคุณภาพดี สำหรับในประเทศไทยได้นำมาผสมพันธุ์กับโคลูกผสมบราห์มันเพื่อผลิตโคลูกผสม

#### 1.2.4.4 โคลูกผสม (Crossbred Cattle)

ก. โคลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองกับพันธุ์บราห์มันโดยเป็นโคลูกผสมที่มีสายเลือด พันธุ์บราห์มันประมาณร้อยละ 50-75 ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดโคชั้นกลาง มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยวันละ 1 กิโลกรัม ร้อยละซากประมาณร้อยละ 55 เนื้อมีไขมันแทรกในระดับปานกลาง

ข. โคลูกผสมพันธุ์ชาร์โรเลส์อาจจะเป็นลูกผสม 2 สายพันธุ์ เช่น ลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองกับพันธุ์ชาร์โรเลส์ ลูกผสมพันธุ์บราห์มันกับชาร์โรเลส์ เป็นต้น หรือเป็นลูกผสม 3 สายพันธุ์ ระหว่างพันธุ์พื้นเมือง บราห์มัน และชาร์โรเลส์ เช่น โคพันธุ์กำแพงแสน เป็นต้น ปัจจุบันโคลูกผสมกำแพงแสนมีเลือดของพันธุ์ชาร์โรเลส์ร้อยละ 50 พื้นเมืองร้อยละ 25 และพันธุ์บราห์มันร้อยละ 25 ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีเลิศในเรื่องความสมบูรณ์ คือ เป็นสัตว์เร็ว ผสมติดง่าย ได้ลูกทุกปีโคลูกผสมเหล่านี้เป็นที่ต้องการของตลาดชั้นสูงทั้งในประเทศและต่างประเทศ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยวันละ 1.2 กิโลกรัม เมื่อใช้อาหารขุนมีร้อยละซากประมาณร้อยละ 58 เนื้อมีไขมันแทรกในระดับสูง

พืชอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวโพด หญ้าและถั่วต่างๆ ที่เก็บเกี่ยวในขณะที่มีความชื้นพอเหมาะนำมาเก็บไว้ในสภาพสุญญากาศ เมื่อกระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์พืชอาหารสัตว์สดเหล่านี้เปลี่ยนสภาพเป็นหญ้าหมักเก็บได้นาน โดยไม่มีการเสื่อมเสียและยังคงมีคุณค่าทางโภชนาการ กระบวนการหมักหญ้าหมัก (silage fermentation) ประกอบด้วย 2 กระบวนการ คือ กระบวนการหมักที่ใช้ออกซิเจน (aerobic condition) กระบวนการที่ไม่ต้องการใช้ออกซิเจน (anaerobic condition) ปัจจัยที่ส่งผลทำให้กระบวนการหมักทั้งสองได้แก่ ปริมาณอากาศที่เหลือภายหลังการนำพืชหมักในถังไซโล หรือหลุมหมัก องค์ประกอบต่างๆ ในพืชที่นำมาหมักเช่นปริมาณน้ำตาล ความชื้น และแร่ธาตุ

การหมักพืชอาหารสัตว์โดยทั่วไปจะมีการใช้จุลินทรีย์ในธรรมชาติ ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีบทบาทในการหมัก โดยแบคทีเรียกรดแลคติกแบ่งออก 2 กลุ่ม คือ โฮโมเฟอร์เมนเททีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Homofermentative Lactic acid Bacteria) *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus* species, และ *Enterococcus faecium* แบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติกเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 คือ เฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Heterofermentative Lactic acid Bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus buchneri*. ผลผลิตจากกระบวนการหมักจากการเปลี่ยนน้ำตาลในต้นพืชเป็น กรดอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ แลคติกแอซิด อะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์

กรดแลคติกมีความสำคัญในการลดทอนของค่าความเป็นกรดต่าง แต่จำนวนแบคทีเรียบนพืชที่ผลิตกรดแลคติกมีน้อยอาจเป็นสาเหตุให้ไม่เพียงพอสำหรับต่อกระบวนการหมัก การใช้จุลินทรีย์มีชีวิต (microbial culture) ที่ผลิตกรดได้จึงเป็นประโยชน์ให้กระบวนการหมักพืชดีขึ้น ประโยชน์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกในกลุ่ม *Lactobacilli* ที่ใช้เป็นสารเสริมชีวนะ (probiotics) สำหรับโค กระบือ ช่วยให้การเกาะติด (adhesion) ของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกกับทางเดินอาหารของสัตว์

และขัดขวางการเกาะติดของแบคทีเรียก่อโรคการเกิด ลดความเป็นกรดต่างในระบบทางเดินอาหาร ทำให้ยับยั้งการเพิ่มจำนวนอย่างมากมายของแบคทีเรียที่ให้โทษกับสัตว์ และกระตุ้นการสังเคราะห์ สารเฉพาะชนิดที่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (Huber,1997) เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม *homolacticbacteria* มีคุณสมบัติผลิต กรดแลคติกเป็นหลักและ ผลิตกรดอะซิติกได้ดี เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารประกอบที่ทำให้ เกิดกลิ่นและรสเป็นที่ต้องการของสัตว์ และทำให้สภาพของอาหารอยู่ในลักษณะที่ดี ป้องกันการเจริญ ของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารหมักได้และช่วยยับยั้งการสูญเสียในรูปวัตถุแห้ง (สุร ลักษณ์ ,2545 ; Arriola et al.,2011) การเติม *Lactobacillus plantarum* ในกระบวนการหมัก มี คุณสมบัติทำให้ระยะเวลาในการหมักหรือการเกิดกรดสั้นกว่าโดยอาศัยการหมักในตามธรรมชาติ (Queiroz et al., 2012; Guo et al., 2013; Comino et al., 2014)

สำหรับการผลิตพืชหมักด้วยการใช้ยีสต์ นิยมใช้สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถปลดปล่อยโปรตีนออกมานอกเซลล์ในรูปของเอ็นไซม์หรือโปรตีนที่เกาะอยู่กับผนังเซลล์ นอกจากนี้ยีสต์ *S.cerevisiae* สามารถสังเคราะห์ mannoproteins จำนวนมาก เพื่อใช้เป็นโครงสร้าง ของผนังเซลล์ระหว่างการเจริญเติบโต (สิรินาฏและเมธา, 2558) การเสริมยีสต์ในอาหารสัตว์เพื่อเป็น สารเสริมชีวณะ สามารถช่วยปรับปรุงกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมนได้ดียิ่งขึ้น สามารถยับยั้ง การแพร่กระจายของ *Clostridium* ลดการสูญเสียวัตถุแห้งภายในกระเพาะรูเมนที่มีประชากรของ แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อราอยู่อย่างหนาแน่น และทำหน้าที่ในการย่อยอาหารได้ถึงร้อยละ 60-70 ของการย่อยได้ทั้งหมด

Jouany et al. (1999) ได้แสดงให้เห็นถึงลักษณะการจับกันของยีสต์กับชิ้นส่วนอาหารใน กระเพาะรูเมนและปฏิสัมพันธ์กับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ (microbial consortium) โดยยีสต์จะสนับสนุน การเจริญเติบโตทั้งแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกและกรดโพรพิโอนิก นอกจากนี้ยังเพิ่มกลิ่นหอมในพืช อาหารหมัก ทั้งยีสต์และจุลินทรีย์ทำให้เกิดกรดแลคติกและเอทานอลในพืชอาหารอาหารหมัก (Woolford, 1984) บทบาทของยีสต์ในกระเพาะรูเมนสามารถเข้าไปแย่งใช้กลูโคส (glucose) และ oligosaccharide สายเล็กๆ ที่ได้จากการย่อยของ amylolytic bacteria ที่เกาะติดอยู่กับเม็ดแป้ง ทำให้มีกลูโคสที่จะใช้ประโยชน์โดยแบคทีเรีย *Streptococcus bovis* น้อยลง ซึ่ง *S.cerevisiae* สามารถใช้กลูโคสได้ดี และยังสามารถใช้ออกซิเจนที่เข้าสู่กระเพาะรูเมนโดยทางอาหารและน้ำที่กิน เข้าไปเพื่อใช้ในการผลิตพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตของตัวเอง (Jouany et al., 1999)

ซึ่งการทำพืชหมักเป็นการเก็บถนอมพืชอาหารสัตว์อย่างหนึ่ง ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษา พืชอาหารสัตว์ในระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ที่มีคุณค่าทางโภชนาและผลผลิตที่สูงไว้ใช้ในยาม ขาดแคลน ซึ่งการเก็บถนอมในลักษณะหมักนี้ มีข้อดี คือสามารถเก็บไว้ได้นานโดยที่คุณค่าทางอาหาร ของพืชมีการเปลี่ยนแปลงน้อย การทำพืชหมักมีหลักการสำคัญคือ พืชที่ใช้หมักต้องมีความชื้นที่

เหมาะสมและมีปริมาณน้ำตาลที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) นอกจากนี้ ต้องไล่อากาศออกจากภาชนะหมักให้มากที่สุด ซึ่งทำได้โดยการสับพืชให้มีขนาดสั้น แล้วอัดให้แน่นจากนั้นปิดภาชนะหมักให้เร็วที่สุดเท่าที่จะเร็วได้ สำหรับพันธุ์พืชอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการทำเป็นพืชหมักนั้นควรเป็นพืชที่ปลูกและมีการจัดการง่ายให้ผลผลิตสูง มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate; WSC) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 6 น้ำหนักแห้ง เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*) ซึ่งให้ผลผลิตต่อไร่สูง มีปริมาณ WSC สูง ทำให้ได้พืชหมักคุณภาพดี มีสัดส่วนของธัญพืชสูงทำให้มีความน่ากินสูงและมียอดโภชนะที่ย่อยได้สูง (ร้อยละ 67-70) แต่มีจุดด้อยคือ ตัดได้เพียงครั้งเดียว ต้องปลูกใหม่ทุกครั้ง แต่มีพืชอาหารสัตว์ เช่น หญ้าเนเปียร์ยักษ์ (*Pennisetum purpurem* x *P. glaucum*) และหญ้ากินนีสีม่วง (*Panicum maximum* TD 58) เป็นพืชหลายปี จึงตัดได้หลายครั้งให้ผลผลิตต่อไร่สูง และมีความน่ากิน แต่พืชตระกูลหญ้าจะมีค่า WSC เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 3-5 โดยเฉพาะใน หญ้ากินนีสีม่วงพบว่ามีค่าต่ำสุด คือร้อยละ 2-4 เมื่อเทียบกับหญ้าชนิดอื่น เช่น หญ้าเนเปียร์ หญ้าซิกแนล หญ้ารูซี่ เป็นต้น ดังนั้นในการทำหญ้าหมักจึงมักแนะนำให้เติมสารเสริมที่เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก เช่น กากน้ำตาล จะทำให้กระบวนการหมักเกิดได้อย่างสมบูรณ์ ได้พืชหมักที่มีคุณภาพดี

Warly and Evitayani (2013) ได้รายงานผลการวิจัยแปรรูปใบปาล์มด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การนึ่งด้วยไอน้ำ การเติมแอมโมเนีย การหมัก และการใช้วิธีการแบบผสม จากการทดลองพบว่าการเติมแอมโมเนียมีผลทำให้เพิ่มคุณค่าทางโภชนะและเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยได้กว่าวิธีการอื่นๆ จากการศึกษาใบปาล์มก่อนการแปรรูปด้วยวิธีการต่างมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ น้ำหนักแห้งร้อยละ 54.12 ปริมาณสารอินทรีย์ร้อยละ 89.96 มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดร้อยละ 8.51 ปริมาณเยื่อใยร้อยละ 28.48 เซลลูโลสร้อยละ 24.69 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 16.24 มีปริมาณลิกนินร้อยละ 14.21 ซึ่งปริมาณลิกนินในใบปาล์มในปริมาณสูงมีผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้น้อยและความน่ากินลดน้อย และเมื่อทำการหมักใบปาล์มด้วยยูเรียร้อยละ 4 เป็นระยะเวลา 21 วัน ใบปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณลิกนินลดลง

อาหารผสมสำเร็จหรืออาจเรียกออาหารผสมครบส่วน (complete ration) เป็นอาหารผสมสำเร็จที่เกิดจากการนำอาหารหยาบและอาหารข้นมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมและมีโภชนะตามความต้องการของสัตว์ และยังเป็นการจัดการในการเลี้ยงที่ประหยัดเวลาและแรงงาน โคจะได้รับโภชนะครบถ้วน มีความเป็นกรดต่างในกระเพาะรูเมนที่สภาพเหมาะสมต่อสภาวะนิเวศน์การทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งการหมักย่อยที่ดีจะทำให้การดูดซึมอาหาร และ นำไปใช้ประโยชน์ได้ด้วยดีขึ้น สำหรับสัดส่วนของอาหารหยาบและอาหารข้นที่ใช้ในการผสมอาหารสำเร็จนั้น ปกติใช้สัดส่วน 60:40 หรือ 40:60 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำมาผสมลงในสูตร ในกรณีที่มีสัดส่วน

ของอาหารหยาบที่สูงขึ้น จะมีผลให้ปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งของสัตว์ลดลง ต้องใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีคุณสมบัติที่ดี (วิโรจน์, 2560)

ธันวา ไวยบท (2558) ศึกษารูปแบบการให้อาหารโคเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองxบราห์มัน 3 รูปแบบ คือ อาหารควบคุม อาหารผสมสำเร็จ (TMR) และกลุ่มอาหารแคลซาเรีย (การผสมระหว่างกากมันสำปะหลังและยูเรียโดยการเอ็กซ์ทรูด) เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าโคมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 797.3, 654.3 และ 416.0 กรัมต่อวัน โดยอัตราการเจริญเติบโตของโคที่ได้รับอาหารควบคุมและอาหารผสมสำเร็จมีค่าไม่แตกต่างกันแต่สูงกว่าโคกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรแคลซาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) Wang et al. (2014) ศึกษาการหมักพืชอาหารหยาบด้วยการเสริม *L.plantarum* DSM 19745 ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^5$  cfu/g ในข้าวโพดหมัก ทำให้พืชหมักมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำกว่ากลุ่มไม่เสริม คือ 3.38 เทียบกับร้อยละ 3.71 และทำให้เกิดกรดบิวทีริกต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมคือ 0.1 เทียบกับร้อยละ 0.4 นอกจากนี้พบว่าการเกิดกรดแลคติกและอะซิติกของกลุ่มที่เสริมเชื้อมีค่าสูงกว่ากลุ่มไม่เสริม คือ 6.14 เทียบกับร้อยละ 5.03 และ 3.15 เทียบกับร้อยละ 2.90 (Aragon et al, 2012)

Abu Hassan and Ishida (1991) ทำการศึกษาผลการหมักทางไบปาล์มน้ำมันด้วยน้ำกากน้ำตาล และยูเรียต่อความน่ากินของทางไบปาล์มน้ำมันหมัก โดยมีทางไบปาล์มน้ำมันหมัก 4 รูปแบบคือ 1) ทางไบปาล์มน้ำมันหมัก 2) ทางไบปาล์มน้ำมันร้อยละ 94.1 หมักร่วมกับน้ำร้อยละ 5.9 3) ทางไบปาล์มน้ำมันร้อยละ 91.3 หมักร่วมกับน้ำร้อยละ 5.8 และกากน้ำตาลร้อยละ 2.9 และ 4) ทางไบปาล์มน้ำมันร้อยละ 92.2 หมักร่วมกับน้ำร้อยละ 5.8 และยูเรียร้อยละ 2 ใช้ระยะเวลาในการหมักประมาณ 6 เดือน ในโคพื้นเมืองประเทศมาเลเซียพันธุ์ Kedah-Kelantan เพศผู้ พบว่าปริมาณการกินได้ของทางไบปาล์มน้ำมันหมักทั้ง 4 รูปแบบ เท่ากับ 2.6, 3.8, 2.8 และ 2.0 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

Dahlan et al. (2000) ศึกษาผลการใช้ทางไบปาล์มน้ำมันสด ทางไบปาล์มน้ำมันหมัก และทางไบปาล์มน้ำมันอัดเม็ดในอาหารแพะต่อปริมาณอาหารที่กินได้ และการย่อยได้ของโภชนะ โดยใช้สูตรอาหาร 5 สูตร ประกอบด้วยทางไบปาล์มน้ำมันสด (D1) ทางไบปาล์มน้ำมันหมัก (D2) ทางไบปาล์มน้ำมันหมักผสมกับกากน้ำตาล (D3) ทางไบปาล์มน้ำมันอัดเม็ด (D4) และทางไบปาล์มน้ำมันสับผสมกากเนื้อไบปาล์มน้ำมัน ราช้าว เปลือกถั่วเหลือง กากน้ำตาล ปลาป่น ยูเรีย แร่ธาตุผสม และเกลือ (NaCl) ในรูปอาหารผสมสำเร็จรูปแล้วนำมาอัดเม็ด (D5) โดยแพะที่ได้รับอาหาร D1, D2, D3 และ D4 ได้รับอาหารชั้นในรูปอาหารแพะอัดเม็ดเสริมปริมาณร้อยละ 1 ของน้ำหนักตัว พบว่าปริมาณการกินได้ของอินทรีย์วัตถุทั้งหมด และปริมาณการกินได้ของโปรตีนรวมทั้งหมดของแพะที่ได้รับอาหาร D4 และ D5 สูงกว่าแพะที่ได้รับอาหาร D1, D2 และ D3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าการอัดเม็ดทางไบปาล์มน้ำมัน ซึ่งส่งผลให้ระดับความชื้นในทางไบปาล์มน้ำมันลดลง และความ

หนาแน่นของอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้สัตว์กินได้ง่ายขึ้น Zahari et al.,(2003) รายงานผลการศึกษากการใช้ทางปาล์มหมักสำหรับการเลี้ยงโคเนื้อและโคนมของประเทศมาเลเซีย มีผลผลิตทางปาล์มหมักแบบอัดเม็ดและก้อน สำหรับเป็นอาหารหยาบ พบว่าโคเนื้อมีคุณภาพซากที่ดี

การศึกษากการใช้ยีสต์ร่วมกับแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพอาหารหมักโดย มนัสนันท์ และคณะ (2557) ทำการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากปาล์มน้ำมันรวมด้วยวิธีการหมักร่วมกับยีสต์ (*S. cerevisiae*, S) และบาซิลลัสซับติลิส (*Bacillus subtilis*, B) และเชื้อผสม S+B โดยศึกษากการย่อยได้ในตัวสัตว์ (in vivo digestibility) ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน ผลพบว่าการหมักกากปาล์มด้วยยีสต์ โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 45 วัน ทำให้ค่าโปรตีนสูงขึ้นร้อยละ 22.92 ( $P < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกากปาล์มรวมที่ไม่ผ่านการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะโดยมีโปรตีนเท่ากับร้อยละ 12.36 และ 7.75 ตามลำดับ

กระบวนการทำหญ้าหมักโดยทั่วไป คือการใช้วิธีการหมักตามธรรมชาติ การหมักด้วยวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้น สำหรับหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีการจำหน่ายมีหลากหลายผลิตภัณฑ์ เช่น หัวเชื้อหญ้าหมัก KUB-G หัวเชื้อ SYNFERM™ Silage ของประเทศไต้หวัน BioAH Enhance™ Microbial Silage Inoculant USA ผลิตภัณฑ์หมักหัวเชื้อของประเทศออสเตรเลีย นอกจากนี้ มีการใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผสมในอาหารชั้นสำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ผลิตภัณฑ์ LEVUCCELL SC ของประเทศแคนาดา ดังนั้น เพื่อให้ใบและทางปาล์มหมักมีคุณสมบัติเป็นอาหารหยาบที่ดีด้านคุณค่าทางโภชนะสำหรับการเลี้ยงโคพื้นเมือง จึงมีการศึกษาอิทธิพลการใช้หัวเชื้อผสมที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียทำให้ใบและทางปาล์มมีอายุการเก็บรักษาที่นานเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์ มีคุณสมบัติความน่ากินและมีความสามารถในการย่อยได้ (Palatable and highly digestible) การศึกษาอายุการเก็บรักษาทางปาล์มหมักเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน และการศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะของใบปาล์มหมักและการเจริญและคุณภาพเนื้อของโคพื้นเมือง

### 3.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.3 เพื่อการอิทธิพลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักใบและทางปาล์มหมักที่มีผลต่อคุณภาพทางโภชนะ
- 3.2 เพื่อการศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะของใบและทางปาล์มหมักและการเจริญของโคพื้นเมือง
- 3.3 เพื่อการศึกษาอายุการเก็บรักษาใบและทางปาล์มหมัก
- 3.4 เพื่อการศึกษาคุณภาพของเนื้อสัตว์ทดลอง

#### 4.ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ได้ข้อมูล ปริมาณหัวเชื้อผสมที่เหมาะสมสำหรับใช้หมักทางปาล์มคุณค่าทางโภชนะของทางปาล์มหมักแหล่งอาหารหยาบหลักที่มีการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ อายุการเก็บรักษาของทางปาล์มหมัก

4.2 ได้ทราบข้อมูลด้านสมรรถนะการเจริญ และความสามารถการย่อยได้ ของโคพื้นเมืองไทยเมื่อเลี้ยงด้วยทางปาล์มหมัก รวมทั้งต้นทุนการผลิต

4.3 ได้ทราบข้อมูลด้านคุณภาพทางเคมีและกายภาพเนื้อโคพื้นเมือง ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดสามารถนำวิธีการและหัวเชื้อเริ่มต้นไปเผยแพร่แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์รายย่อยในเขตภาคใต้ และหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมปศุสัตว์ กรมอาชีวศึกษา และมหาวิทยาลัย รวมทั้งผู้สนใจ ที่มีบทบาทสำคัญในการเลี้ยงโคพื้นเมือง

#### 5.นิยามศัพท์เฉพาะ

5.1 หัวเชื้อผสม (Mixed Culture) หมายถึงจุลินทรีย์ที่มีมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์และมีความจำวนเซลล์ที่มากและมีความว่องไวต่อการเจริญแบ่งเซลล์

5.2 กระบวนการหมัก (Fermentation Processes) หมายถึง เป็นกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งต่างจากการหายใจแบบใช้ออกซิเจนที่ใช้ออกซิเจนที่เป็นสารอนินทรีย์เป็นตัวรับ

5.3 กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ (Anaerobic Fermentation) หมายถึง การหมักในสภาพไร้อากาศจัดเป็นการถนอมอาหาร (food preservation) ที่ใช้จุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรีย (bacteria) ยีสต์ (yeast) หรือ รา (mold) ซึ่งเป็นเชื้อเริ่มต้น (starter) ซึ่งอาจเป็นเชื้อบริสุทธิ์ เชื้อผสม เป็นการหมักสามารถเกิดในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic fermentation)

5.4 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) หมายถึงคือ กลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) น้ำตาลแล็กโทส (lactose) ให้เกิดกรดแล็กติก (lactic acid fermentation) กรดอินทรีย์อื่น ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid) และกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และสารอื่น เช่น hydrogen peroxide และ diacetyl ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสของอาหารหมัก แบคทีเรียแล็กติก สามารถสร้างแบคทีริโอซิน (bacteriocin) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นแบคทีเรียแล็กติกได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่ปลอดภัย (generally recognized as safe bacteria; GRAS status)

5.5 ไมโครไบโอด้า ( Microbiota ) ชุมชนทางนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ที่ใช้ร่วมกัน

symbiotic และที่ทำให้เกิดโรคที่พบในและในสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ทั้งหมดที่ศึกษาจนถึงปัจจุบันจากพืชสู่สัตว์ Microbiota รวมถึงแบคทีเรียอาร์เคีย Protists เชื้อราและไวรัส พบว่า Microbiota มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อสถานะสมดุลทางฮอร์โมนและการเผาผลาญของสิ่งมีชีวิตที่มีกระดูกสันหลัง

5.6 แบคทีเรีย (Bacteria) คือ จุลินทรีย์ที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ที่เป็นเซลล์แบบโปรคาริโอต (prokariotic cell) พบทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ อากาศ แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญต่ออาหารและการผลิตอาหาร เพราะแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้น การถนอมอาหาร (food preservation) ทุกวิธีเป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อทำลาย หรือควบคุมสถานะแวดล้อม เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย

5.7 ยีสต์ (yeast) ยีสต์ มีเซลล์ชนิดยูคาริโอต (Eukariote) เป็นเซลล์เดี่ยวรูปร่างกลม รูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย (bacteria) มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 5 ไมครอน

5.8 เทคโนโลยีหาลำดับเบสยุคใหม่ (Next generation sequencing, NGS) คือการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (genome) ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างรวดเร็วภายในครั้งเดียวและมีประสิทธิภาพ ทำให้ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวนมหาศาล และมีค่าใช้จ่ายที่ถูกลงกว่าการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger sequencing นอกจากนี้วิธีการนี้ยังสามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยที่ไม่ต้องรู้ลำดับนิวคลีโอไทด์มาก่อนได้ เทคโนโลยี NGS มีการพัฒนาด้วยวิธีการหลากหลาย เช่น การเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอแบบ PCR โดยไม่ต้องหยุดกระบวนการใช้ chain termination แบบ Sanger sequencing แต่ทำให้การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้นไปพร้อม ๆ กับการสร้างสาย DNA ด้วย PCR ส่งผลให้การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้นได้ตลอดเวลา เกิดขึ้นพร้อม ๆ กัน และเกิดขึ้นจำนวนมากหลายตำแหน่งในเวลาเดียวกัน (massively paralleled sequencing) จากคลังดีเอ็นเอ (DNA library) ต้นแบบที่เตรียมโดยปฏิกิริยา PCR ทำให้ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวนมหาศาลในเวลาอันรวดเร็ว

## บทที่ 2

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 2.1 ศึกษาอิทธิพลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักใบและทางปาล์มหมักที่มีผลต่อคุณภาพทางโภชนะ

2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีการใช้ *Lactobacillus plantarum* 543 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ทำการขยายปริมาณหัวเชื้อด้วยการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ในอาหารเหลว MRS ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทำการบ่มเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยวิธีการตกตะกอน และทำแห้งแบบพรีชตราย เก็บตัวอย่างหัวเชื้อในตู้เย็น สำหรับการใช้ทดลองต่อไป

2.1.2 เซลล์ยีสต์ ในการทดลองครั้งนี้มีการใช้ยีสต์ *Sacharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ผงที่มีความว่องไว (Active Dry Yeats) ยี่ห้อ Saf -Instant ประเทศตุรกี

2.1.3 การเตรียมสายละลายหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์สำหรับการทดลองเปรียบเทียบปริมาณหัวเชื้อผสมที่ใช้ ร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 w/w ด้วยการเติมหัวเชื้อพรีชตราย *L.plantarum* และเซลล์ยีสต์อย่างละสัดส่วนเท่ากัน ละลายลงในสารละลายกากน้ำตาลที่มีปริมาณกากน้ำตาล 8 ° Brix สำหรับใช้ผสมกับใบและทางปาล์มหมักเพื่อการปรับความชื้นให้ทางปาล์มหมักมีความชื้นในช่วงร้อยละ 65 - 68

2.1.4 เตรียมใบและทางปาล์มสำหรับการหมัก โดยทางปาล์มน้ำมันจากแปลงปาล์มของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย พื้นที่ทุ่งใหญ่ จ. นครศรีธรรมราช นำทางและใบปาล์มที่ได้จากการตัดแต่งทางปาล์มในช่วงการตัดทะเลลายปาล์ม มาสับด้วยเครื่องหั่น (Nimut รุ่น 2E ประเทศไทย) ให้มีขนาดความยาว 3 -4 เซนติเมตร

2.1.5 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นผสมแบคทีเรียกรดแลคติกกับยีสต์ในการหมักและทางปาล์มระดับห้องปฏิบัติการ ปริมาณร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ด้วยการบรรจุทางและใบปาล์มลงในขวดตูแรน ขนาด 5 ลิตร จำนวนทั้งสิ้น 30 ใบ โดยทำการใส่ปริมาณหัวเชื้อผสมในแต่ละหน่วยการทดลอง จำนวน 6 ใบ สำหรับชุดควบคุมมีการเติมน้ำกลั่นร้อยละ 2 เมื่อทำการเติมหัวเชื้อแล้วทำการผสมให้เข้ากันอัดให้แน่น หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยา ในวันแรกของการหมักและเมื่อทำการบ่มครบ 30 วัน ด้วยการเก็บตัวอย่างของแต่ละหน่วยการทดลองเพื่อการวัดระดับความเป็นกรด - ด่าง ค่าสี ลักษณะทางกายภาพ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ - 40 องศาเซลเซียส เพื่อบอกการวิเคราะห์ทางเคมีและจุลชีววิทยาต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ของใบและทางปาล์มหมัก ซึ่งมีการดูลักษณะปรากฏ สี การตกมัน การวัดระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยการใช้เครื่องวัดระดับความเป็นกรด - ด่าง ยี่ห้อ Metler-Toledo รุ่น Seven Compact<sup>TM</sup> pH/Ion S220 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ วัดสีของใบปาล์ม ด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab รุ่น Mini Scan EZ 4500L ประเทศสหรัฐอเมริกา L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความสว่าง (lightness) จากค่า + L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าสีขาว จนถึง - L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าสีขาว a<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง จากค่า - a<sup>\*</sup> ไปยังค่าสีแดง + a<sup>\*</sup> ค่า b<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความเป็นสีฟ้าและสีเหลือง - b<sup>\*</sup> คือค่าสีฟ้า ไปยังค่าสีเหลืองคือ + b<sup>\*</sup>

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (Crude Protein) โดยวิธีของ Kjeldahl ตามวิธีการของ AOAC (1990) คำนวณปริมาณโปรตีน ด้วยการนำค่าปริมาณไนโตรเจนคูณด้วยกับค่าแฟคเตอร์ คือ 6.25 (N x 6.25) การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วยการใช้วิธีการสกัดกับปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามวิธีการของ Soxtec 2050 ; Foss Analytical, Hillered, Denmark การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash) ด้วยวิธีการนำตัวอย่างไปเผาในตู้อบหาปริมาณเถ้าควบคุมอุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันใช้วิธีการสกัดด้วยโซลเว้นท์ (Solvent Extraction Method )

## 2.2 การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD)

มีการเปรียบเทียบปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบหน่วยการทดลองโดยวิธี Duncan, s new multiple range test พิจารณาคัดเลือกใช้ปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่มีผลทำให้ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนที่สูง มีลักษณะทางกายภาพ มีกลิ่นรสที่ดีและพิจารณาค่าจนถึงต้นทุนการผลิตหัวเชื้อ

### 2.3 เพื่อการศึกษาอายุการเก็บรักษาใบและทางปาล์ม

โดยทำการเลือกใช้ปริมาณหัวเชื้อผสมที่เหมาะสม จำนวน 1 อัตรา ในการผลิตกรดแลคติก การลดลงของระดับความเป็นกรด - ด่าง สี กลิ่น คุณค่าทางโภชนะ และต้นทุนการค่าผลิตหัวเชื้อผสมโดยทำการทดลองในถังหมักขนาด 200 ลิตร เปรียบเทียบกับการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ทำการหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์ทุกๆ 1 เดือน ทำการทดลองและวิเคราะห์เหมือนกับข้อ 1.4.1.5

### 2.4 การศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะของใบและทางปาล์มหมักและการเจริญของโคพื้นเมือง

2.4.1 ใช้โคพื้นเมืองภาคใต้ของไทยเพศผู้ อายุระหว่าง 15-18 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 160 กิโลกรัม จำนวน 9 ตัว เลี้ยงในคอกเดี่ยว ขนาดของคอกกว้าง 2.0 เมตร ยาว 3.0 เมตร

และสูง 1.50 เมตร ภายในคอกมีอ่างน้ำสำหรับให้โคกิน ส่วนรางอาหารยื่นออกมาจากคอกต่างหาก มีแร่ธาตุก้อนแขวนไว้ให้โคสามารถเลียกินได้ตลอดเวลาอย่างไม่จำกัด (ad libitum) โดยก่อนทดลองชั่งน้ำหนักโคทุกตัว ฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย (foot and mouth ) disease, FMD) แบบรวมทั้ง 3 type (OA และ Asia I) ของกรมปศุสัตว์ และถ่ายพยาธิโคทดลองทุกตัวโดยใช้ Farmazen® (Albendazole) ของบริษัท H.K. Pharmaceutical Co., Ltd. เป็นยาถ่ายพยาธิภายใน และ Asuntol 50® ของบริษัทไบออร์เลเวอร์เซน เยอรมัน เป็นยากำจัดพยาธิภายนอก สุ่มหน่วยทดลองให้กับแต่ละกลุ่มการทดลองโดยใช้โคทดลองจำนวน 3 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง ซึ่งมีหน่วยการทดลอง 3 กลุ่มประกอบด้วยดังนี้

- 1) ไบปาล์มและทางปาล์มต่อหมักฟางแห้งหญ้าสด สัดส่วน 30 : 70
- 2) ไบปาล์มและทางปาล์มหมักต่อฟางแห้งหญ้าสดสัดส่วน 20 : 80
- 3) ไบปาล์มและทางปาล์มหมักต่อฟางแห้งหญ้าสดสัดส่วน 0 : 100

2.4.2 โคทดลองได้รับอาหารหยาบตามทรีตเมนต์ต่างๆ อย่างเต็มที่และได้รับอาหารขั้นสำเร็จรูปที่มีโปรตีนร้อยละ 14 ในปริมาณร้อยละ 1 ของน้ำหนักตัว การให้อาหารจะให้วันละ 2 เวลา คือ เช้า เวลา 06.00 นาฬิกาและ เย็นเวลา 17.00 นาฬิกา โดยให้โคทดลองปรับตัวกับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน จึงเริ่มเก็บข้อมูลใช้ระยะเวลาในการทดลอง 120 วัน

2.4.3 ใช้แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) มี 3 กลุ่มการทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้โคทดลอง 1 ตัว เก็บข้อมูลปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวอัตราการเจริญเติบโต ต้นทุนค่าอาหารการย่อยได้ การศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะของไบและทางปาล์มหมักและการย่อยได้ของโภชนะของไบและทางปาล์มหมัก ทำการเก็บตัวอย่างมูลโคในระยะเวลา 7 วัน สุดท้ายก่อนสิ้นสุดการทดลอง นำมูลโคแต่ละหน่วยการทดลองไปอบที่ตู้อบลมร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid insoluble ash, AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) เพื่อไปหาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ตามวิธีการของ Schnere ilder and Flatt (1975) นำค่าเฉลี่ยจากอิทธิพลของการใช้อาหารหยาบเลี้ยงโคทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT)

## 2.5 การวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมือง

โคพื้นเมืองจำนวน 9 ตัว ทำการเลี้ยง ณ ฟาร์มเลี้ยงโค สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์นครศรีธรรมราช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย โดยยึดหลักของจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ หลังจากทำการเลี้ยงครบ 90 วัน

ได้มีการทำการฆ่าเชื้อโคพื้นเมือง เก็บตัวอย่างของเหลวจากนมไปจำนวนแต่ละ 50 มล. นำไปวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่าง จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองวัตต์แมนเบอร์ 1 เก็บส่วนใสบรรจุใส่หลอดทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 40 องศาเซลเซียส รอทำการวิเคราะห์ ทำการส่งตัวอย่างของเหลวจากนม เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ไมโครไบโอมิต้า ด้วยวิธีการหาลำดับดีเอ็นเอยุคใหม่ (next generation sequencing) การใช้แพลตฟอร์ม 16S เมทาจีโนมิกส์อิลลูมินา (illumine 16S Metagenomics) ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปีเปตตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะนมปริมาณ 1.5 มล. ลงในหลอดหมุนเหวี่ยง เติมนิวคลีโอโปรตีน K 20 ไมโครลิตรทำการสกัดดีเอ็นเอ ด้วยการใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอแบบที่เรีย bacterial DNA Extraction kit (Vivantis, Selangor Darul Ehsan, Malaysia) ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอด้วย Nanodropspectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้ในแต่ละตัวอย่างไปสร้างไลบรารี 16S แอปพลิเคชัน ด้วยการเติม 16SrRNA gene ภายใต้ช่วงขอบเขต V3-V4 ที่มีจำนวนเบส 550 เบสคู่สม ปริมาณ 50 นาโนกรัมในแต่ละตัวอย่าง

นำจีโนมิกส์ที่สกัดได้ในแต่ละหน่วยการทดลอง มาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR amplification) ด้วยการใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณปลาย 5' (Forward primer) 5' CGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGATCAGCCTACGGNGGCWGCAG' และไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณปลาย 3 reverse primer: 5'-GTCTCGTGGGCTCGG AGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') ด้วยการใช้สารผสมมาสเตอร์พีซีอาร์สำเร็จรูป HiFi HotStart 2xReadyMixDNA polymerase (Phusion High-Fidelity DNA Polymerase, Biolad Ltd., London) ปฏิกิริยาพีซีอาร์แต่ละรอบมีการปรับระดับอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาดังนี้ ประกอบด้วยปฏิกิริยา Denaturation 95 องศาเซลเซียส 3 นาทีจำนวน 3 รอบ จากนั้นปรับเป็นโปรแกรมอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาทีจำนวน 8 รอบ Annealing 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที จากนั้น extension 72 องศาเซลเซียส 5 นาที

ไลบรารีที่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการใช้ AMPure XP beads (Beckman Coulter, Indianapolis, UK). จากนั้นทำการเชื่อมอะดีปเตออร์ซึ่งมีการใช้ชุดสารเคมีสำเร็จรูป Illumina Nextera XT index kits v2 (Illumina, San Diego, USA) ที่ปลายดีเอ็นเอ ในวงรอบที่ 2 ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ซึ่งมีแต่ละรอบมีการปรับระดับอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาดังนี้ ประกอบด้วย 95 องศาเซลเซียส 3 นาที อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 8 รอบ จากนั้นปรับเป็นโปรแกรมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้นตอนสุดท้าย extension 72 องศาเซลเซียส 5 นาที เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยาพีซีอาร์ในเม็ดปิดจะมีดีเอ็นเอต้นแบบที่เหมือนกันจำนวนมาก ซึ่งจะถูกนำไปหาลำดับดีเอ็นเอต่อไป ส่วนเม็ดปิดที่ไม่มีดี

เอนเอเกาะอยู่จะถูกกำจัดออกไปด้วยการ จากนั้นนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย AMPure XP beads (Beckman Coulter, Indianapolis, UK) และวัดปริมาณสารพันธุกรรมด้วย DeNovix fluorometers (Wilmington, USA) ทำการรวมแอมพลิตคอมไลบรารีกับแหล่งดีเอ็นเอสายเดี่ยวในสัดส่วนที่เท่ากัน ผ่านกระบวนการเจือจางทำให้เสียสภาพทางธรรมชาติโดยมีขั้นตอนการปฏิบัติตามคู่มือคำแนะนำของ Illumina MiSeq library preparation guide. จากนั้นทำการเติมชุดสารเคมีสำเร็จรูป PhiX Illumina control library version 3 (Illumina, San Diego, USA) ลงในไลบรารีแอปพลิเคชันเพื่อควบคุมการหาลำดับดีเอ็นเอ การหาลำดับดีเอ็นเอของตัวอย่างด้วยเครื่อง Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, USA) มีการใช้ชุดสำเร็จรูป 600 cycle MiSeq reagent kit V3 (Illumina, San Diego, USA) มีการใช้โปรแกรม Miseq Reporter Software ในการวิเคราะห์ข้อมูลการหาลำดับดีเอ็นเอ

## 2.6 การตรวจวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาของโค

เก็บเลือดโคพื้นเมืองที่ตำแหน่ง Jugular vein ปริมาตรตัวละ 20 มล. แบ่งใส่หลอดเก็บเลือดที่มีสาร EDTA ปริมาตรหลอดละ 10 มล. หลังจากนั้นตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บไว้ในกล่องที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายในวันเดียวกันตัวอย่างเลือดที่มีสาร EDTA ใช้เข็มและไซลิงค์ที่แห้งและสะอาดเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein) ใส่ขวดที่มีสารกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตรวจวิเคราะห์หาค่าโลหิตวิทยาตามวิธีการของ Benjamin (1978) ดังนี้ ค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) โดยวิธี microhematocrit centrifugation ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) โดยวิธี acid hematin จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) โดยใช้ Thoma red cell pipette และสาร Hayem solution จำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) โดยใช้ Thoma white cell pipette และสาร Turk's solution จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด (WBC) รวมถึงจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (Neutrophils) ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) อีซิโนฟิล (Eosinophils) และ เบโซฟิล (Basophils) ค่าปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง MCV, MCH และ MCHC ด้วยการคำนวณหาจากค่า Hb, PCV และ RBC โดยส่งตัวอย่างเลือดและตัวอย่างมูลโคของโคพื้นเมืองตรวจวิเคราะห์หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สำหรับการวิเคราะห์พยาธิใบไม้ในตับตัวอย่างอุจจาระ มีการเก็บอุจจาระโคโดยวิธีล้างจากทวารหนัก (per rectum) หรืออุจจาระที่เพิ่งถ่ายใหม่ๆบริเวณส่วนบนไม่ติดพื้นดิน จากนั้นนำมาตรวจโดยวิธี การตกตะกอนแบบง่าย (simple sedimentation technique) เพื่อตรวจหาพยาธิใบไม้ในตับ ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 - 100 เท่า โดยใช้หลักการจำแนกตามลักษณะรูปร่างเปลือกไข่ ขนาด สี และองค์ประกอบภายในตามวิธีของ อาคม (2541) และ Thienpont et al. (1979)

## 2.7 เพื่อการศึกษาคุณภาพของเนื้อสัตว์ทดลอง

เมื่อทำการเลี้ยงโคพื้นเมืองครบ 90 วัน ทำการฆ่าโคทุกตัว โดยอดอาหารเป็นระยะเวลา 12 ชม แต่มีน้ำกินตลอดเวลา จากนั้นทำการฆ่าชำแหละตามวิธีการของ มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9019 - 2550 โดยเก็บข้อมูลน้ำหนักก่อนฆ่า น้ำหนักหลังฆ่า น้ำหนักซากอ่อน น้ำหนักซากเย็น ร้อยละซาก คุณภาพซาก ร้อยละซากโค (Percentage of Dressing Carcass) ร้อยละผลพลอยได้ที่ชำแหละตัดแต่งซาก (Percentage of by-products) มีการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อสันใน เนื้อสันนอก (Longissimus dorsi) ด้วยการตัดในตำแหน่งซี่โครงที่ 12-13 และกล้ามเนื้อสันในเทียม (Semitendinosus) ทำการวัดค่าระดับความเป็นกรด - ด่างของเนื้อ ยี่ห้อ Metler - Toledo รุ่น Seven Compact<sup>TM</sup> pH/Ion S220 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ ทำการเก็บรักษาตัวอย่างเนื้อแต่ละหน่วยการทดลองอุณหภูมิ - 40 องศาเซลเซียส ด้วยตู้เย็น Sanyo รุ่น MDF - U442 (T) ประเทศญี่ปุ่น เพื่อการวิเคราะห์คุณภาพเนื้อดังนี้

2.7.1 วัดสีเนื้อโคพื้นเมือง นำกล้ามเนื้อสันนอกและสันในเทียมที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานประมาณ 24 ชั่วโมง มาวัดค่าสีเนื้อตามระบบ CIE (Complete International Commission on Illumination) ด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab รุ่น Mini Scan EZ 4500L ประเทศสหรัฐอเมริกา  $L^*$  หมายถึงค่าความสว่าง (lightness) จากค่า  $+L^*$  หมายถึงค่าสีขาว จนถึง  $-L^*$  หมายถึงค่าสีเทา  $a^*$  หมายถึงค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง จากค่า  $-a^*$  ไปยังค่าสีแดง  $+a^*$  ค่า  $b^*$  หมายถึงค่าความเป็นสีฟ้าและสีเหลือง  $-b^*$  คือค่าสีฟ้า ไปยังค่าสีเหลืองคือ  $+b^*$

2.7.2 การวิเคราะห์ความแน่นเนื้อ (Firmness) ซึ่งสามารถใช้เป็นค่าดัชนีความนุ่มของเนื้อ ด้วยการวิเคราะห์ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force value) ตามวิธีของ Boccard et al. (1981) โดยนำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียมที่หาผ่านการวิเคราะห์ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักแล้วเมื่อทำให้สุกแล้ว นำเนื้อมาตัดตามความยาวเส้นใย กล้ามเนื้อ ให้มีชิ้นขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ  $1 \times 3 \times 1$  ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปวัดด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น TAHD1 ของบริษัท Stable Micro System (Model HD3091, UK) ติดตั้งอุปกรณ์วัดแรงตัดแบบ Warner Bratzler Shear Device โดยค่าแรงตัดผ้า เนื้อมีหน่วยเป็นกิโลกรัม

2.7.3 วัดความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อสันนอกและสันในเทียม โดยประเมินจากค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) และการสูญเสียน้ำหนักเมื่อทำให้สุก (cooking loss) ตามวิธีของ ปราณี (2547) ดังนี้

2.7.4 ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บ โดยนำตัวอย่างเนื้อซึ่งน้ำหนักแล้วบรรจุในถุงพลาสติกที่ปิดสนิท และนำไปแขวนไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไป

2.7.5 ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเมื่อทำให้สุก โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนื้อ แล้วบรรจุในถุงสุญญากาศที่ทนความร้อนนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือต้มจนกระทั่งได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำถุงที่บรรจุตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ผ่านการทำให้สุกแล้วไปทำให้เย็น โดยการแช่น้ำแบบให้น้ำไหลผ่านนาน 30 นาที หรือจนกระทั่งได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อลดลงเหลือประมาณ 32 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำเนื้อออกจากถุง ชั่งน้ำหนักที่ผิวเนื้อให้แห้งเล็กน้อย จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อมาชั่งน้ำหนักแล้วนำมาคำนวณหาร้อยละน้ำหนักที่ สูญเสียไป

2.7.6 นำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสัน การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (Crude Protein) โดยวิธีของ Kjeldahl ตามวิธีการของ AOAC (1990) คำนวณปริมาณโปรตีน ด้วยการนำค่าปริมาณไนโตรเจนคูณด้วยกับค่าแฟคเตอร์ คือ  $6.25 (N \times 6.25)$  การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วยการใช้วิธีการสกัดกับปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามวิธีการของ Soxtec 2050; Foss Analytical, Hillered, Denmark การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash) ด้วยวิธีการนำตัวอย่างไปเผาในตู้อเผาหาปริมาณเถ้า ควบคุมอุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันใช้วิธีการสกัดด้วยโซลเวนต์ (Solvent Extraction Method)

2.7.7 การศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักและฟางข้าว โดยใช้ตัวอย่างเนื้อสันในที่ได้โคจากการเลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมฟางข้าวร้อยละ 20 ทางปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมฟางข้าวร้อยละ 70 และเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 และตัวอย่างเนื้อสันในจากท้องตลาด ตัวอย่างเนื้อสำหรับใช้ทดสอบการชิมมีการต้มในน้ำเดือด ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ให้คะแนนความชอบทั่วไป ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม โดยการให้คะแนนแบบความแตกต่าง แบบ 9 point Hedonic คือคะแนน 9 คือ ชอบมากที่สุด 1 คือ ชอบน้อยที่สุด ประสาทสัมผัสจากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีคุณภาพเนื้อทางกายภาพ และทดสอบด้านประสาทสัมผัส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomized design; CRD) ตรวจสอบความแปรปรวนโดย Analysis of variance (ANOVA) และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Steel and Torrie, 1980)

### บทที่ 3

#### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

#### 3.1 อิทธิพลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลกติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักไบและทางปาล์มหมักที่มีผลต่อคุณภาพทางโภชนา

##### 3.1.1 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ

ผลการศึกษาลักษณะปรากฏของไบและทางปาล์มหมักที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 มีกลิ่นหอม มากกว่าในทางปาล์มหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมและไม่เติมหัวเชื้อผสมไม่มีกลิ่นเปรี้ยว สีของไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 มีสีเหลืองอมเขียวมีค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) สูงสุดเฉลี่ย  $18.61 \pm 0.655$  มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) สูงสุดเฉลี่ย  $36.25 \pm 0.649$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) นอกจากนั้นพบว่าไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 มีค่าความเป็นสีเหลืองสูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $4.98 \pm 0.262$  ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 1 Snell et.al (2003) ได้รายงานว่าค่าความเป็นสีเหลืองเป็นค่าบ่งบอกถึงคุณภาพการหมักของหญ้าหมัก สำหรับผลการวัดค่าสีจากการทดลองครั้งนี้มีค่าการวัดสีที่ใกล้เคียงกับการทดลองของ Toruk et al., (2011)

**ตารางที่ 3** ผลวิเคราะห์ค่าสีของไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 หมักในสภาวะไร้อากาศและบ่มระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

| ปริมาณการเติมหัวเชื้อผสม | ค่าสี ฮันเตอร์แลป      |                    |                     |
|--------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
|                          | $L^*$                  | $a^*$              | $b^*$               |
| หน่วยการทดลองควบคุม      | $34.73 \pm 2.669^{ab}$ | $3.83 \pm 0.221^c$ | $16.31 \pm 1.464^b$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5    | $33.4 \pm 0.602^b$     | $4.34 \pm 0.207^b$ | $16.72 \pm 0.209^b$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0    | $30.25 \pm 0.225^c$    | $3.5 \pm 0.117^c$  | $11.92 \pm 0.410^d$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5    | $36.25 \pm 0.649^a$    | $4.98 \pm 0.262^a$ | $18.61 \pm 0.655^a$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0    | $30.07 \pm 0.315^c$    | $4.44 \pm 0.210^b$ | $14.84 \pm 0.481^c$ |



ภาพที่ 1 ไบและทางปาล์มหมักด้วยหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เมื่อทำการหมัก  
สภาวะไร้อากาศ ระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

### 3.1.2 ผลการวัดระดับความเป็นกรด - ต่าง

ผลการตรวจวัดระดับความเป็นกรด - ต่าง ของไบและทางปาล์มหมักเมื่อมีการหมัก 30 วัน พบว่า ไบและทางปาล์มหมักการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีผลทำให้ระดับความเป็นกรด-ต่างลดลงมากที่สุด มีค่าระดับความเป็นกรด-ต่างเฉลี่ย 4.13 ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองที่มีการใช้หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 1.5 และร้อยละ 2.0 และมีใกล้เคียงกับ รายงานวิจัยของ Ebrahimi et al. (2014) ซึ่งมีการทดลองเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและ เอนไซม์เซลลูเลสในการหมักทางปาล์ม ทำการหมักเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์เมื่อสิ้นสุดการหมัก ไบและทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ต่าง เฉลี่ย 4.09 สำหรับการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมไบและทางปาล์มมีระดับความเป็นกรด - ต่าง เท่ากับ 5.69 ในช่วงเริ่มต้นการหมัก และหลังจากการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน มีระดับความเป็นกรด - ต่าง เท่ากับ 4.55 สำหรับการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 2 ไบและทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ต่าง เท่ากับ 4.34 ซึ่งระดับความเป็นกรด - ต่าง เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5.52

ตารางที่ 4 ระดับความเป็นกรด-ต่าง ของไบและทางปาล์มหมักมีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 ในสภาวะไร้อากาศระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

| ปริมาณการเติมหัวเชื้อผสม<br>( ร้อยละ ) | ระดับความเป็นกรด-ต่าง   |                         |
|--|-------------------------|-------------------------|
|  | วันแรกของการหมัก        | ระยะเวลาหมัก 30 วัน     |
| หน่วยการทดลองควบคุม                    | 5.69±0.010 <sup>b</sup> | 4.55±0.006 <sup>a</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5                  | 5.33±0.017 <sup>e</sup> | 4.28±0.006 <sup>d</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0                  | 5.74±0.015 <sup>a</sup> | 4.13±0.006 <sup>e</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5                  | 5.50±0.015 <sup>d</sup> | 4.49±0.006 <sup>b</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0                  | 5.52±0.012 <sup>c</sup> | 4.34±0.006 <sup>c</sup> |

### 3.2 ผลการวิเคราะห์ทางโภชนะ

#### 3.2.1 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน

เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ปริมาณร้อยละ 2.0 ทำให้ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุดโดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 4.93 5.76 จากวันเริ่มต้นในการหมัก ซึ่งการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนร้อยละ  $7.73 \pm 0.362$  และเมื่อสิ้นสุดการหมักมีปริมาณโปรตีนร้อยละ  $13.49 \pm 0.156$  เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ  $8.05 \pm 0.085$  เมื่อสิ้นสุดการหมัก ซึ่งหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตาม พบว่า อิทธิพลการเติมเชื้อผสมที่ปริมาณร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.5 และหน่วยการทดลองควบคุม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) ของใบและทางปาล์มที่หมักด้วยเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ใน สภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

| ปริมาณหัวเชื้อผสม     | ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) |                     |
|-----------------------|-----------------------|---------------------|
|                       | วันแรกของการหมัก      | ระยะเวลาหมัก 30 วัน |
| หน่วยการทดลองควบคุม   | $6.63 \pm 0.085^d$    | $8.05 \pm 0.085^d$  |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 | $9.68 \pm 0.219^a$    | $12.40 \pm 0.042^c$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 | $8.77 \pm 0.156^b$    | $13.73 \pm 0.120^a$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 | $7.33 \pm 0.007^c$    | $13.01 \pm 0.219^b$ |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 | $7.73 \pm 0.362^c$    | $13.49 \pm 0.156^a$ |

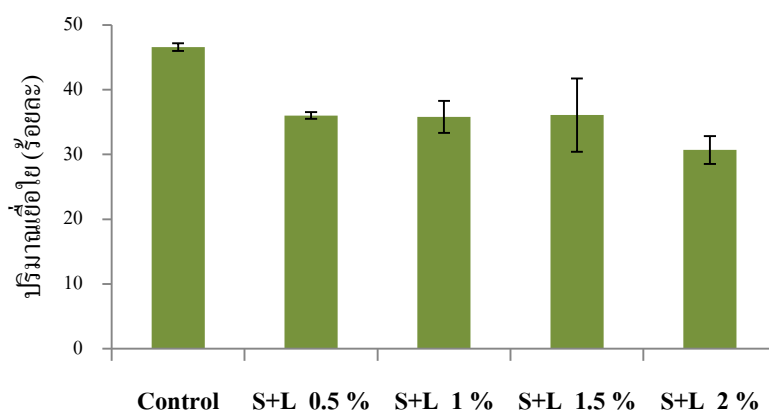
สำหรับการหมักใบและทางปาล์มด้วยหัวเชื้อผสม *L. plantarum* และ *S. cerevisiae* ร้อยละ 2.0 มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนสูงกว่า การใช้หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 และหน่วยการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม การเพิ่มของโปรตีนในระหว่างการหมัก เกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปคือยีสต์และแบคทีเรีย รวมทั้งจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่อยู่ในกระบวนการหมัก Bzducha-Wrobel, et al. (2014) ได้รายงานเซลล์ยีสต์มีปริมาณโปรตีน เฉลี่ยร้อยละ 45 - 55 และสอดคล้องกับการศึกษาการเติมเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์เซลลูเลสในการหมักใบและทางปาล์ม ซึ่งพบว่าใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5.1 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 4.46 (Ebrahimi et al., 2014)

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิตหัวเชื้อเริ่มต้นผสม ผลการคำนวณหัวเชื้อผสมมีค่าใช้จ่ายในการผลิตกิโลกรัมละ 5,000 บาท ด้วยการเติมปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณมากมี

ผลทำให้มีค่าใช้จ่ายที่สูง ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไป จึงมีการเลือกใช้การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 ในการหมักไบและทางปาล์มหมัก

### 3.2.2 ผลการศึกษาปริมาณเยื่อใย

ผลการทดลองพบว่า การเติมหัวเชื้อผสมปริมาณร้อยละ 2.0 มีผลต่อการลดลงของปริมาณเยื่อใยมากที่สุด มีปริมาณเยื่อใยร้อยละ  $30.69 \pm 2.154$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับหน่วยการทดลองควบคุม และหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.0 โดยไบและทางปาล์มหมักที่ไม่มีเติมหัวเชื้อผสมมีปริมาณเยื่อใยร้อยละ  $46.58 \pm 0.607$  เมื่อคิดเป็นร้อยละในการลดลงของปริมาณเยื่อใย พบว่า การหมักด้วยการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 ทางไบปาล์มหมักมีร้อยละการลดลงของเยื่อใยเท่ากับร้อยละ 34.11



ภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ) ไบและทางปาล์มหมักด้วยเชื้อผสม ร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 สภาพไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30วันที่อุณหภูมิห้อง Control : หน่วยการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ

S + L 0.5 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 0.5

S + L 1.0 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 1.0

S + L 1.5 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 1.5

S + L 2.0 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 2.0

### 3.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน พบว่าการใช้เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ไบและทางปาล์มหมักมีปริมาณไขมันเฉลี่ยร้อยละ  $1.39 \pm 0.581$  เมื่อทำการหมักครบ 30 วัน มีปริมาณมีไขมันเริ่มต้นร้อยละ  $1.73 \pm 0.18$  สำหรับทางปาล์มหมักที่หมักโดยไม่เติมหัวเชื้อผสมมีปริมาณไขมันเริ่มต้นร้อยละ  $1.45 \pm 0.611$  และเมื่อหมักครบ 30 วัน มีปริมาณไขมันร้อยละ  $1.21 \pm 0.33$  สำหรับการใส่หัวเชื้อผสม *L. plantarum* และ *S. cerevisiae* ในการหมักทางปาล์ม

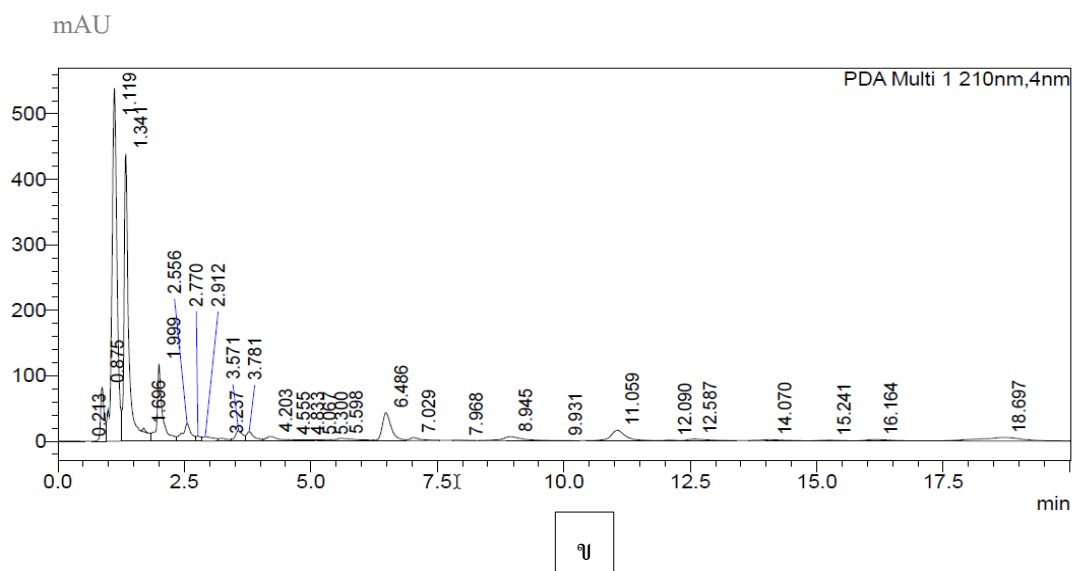
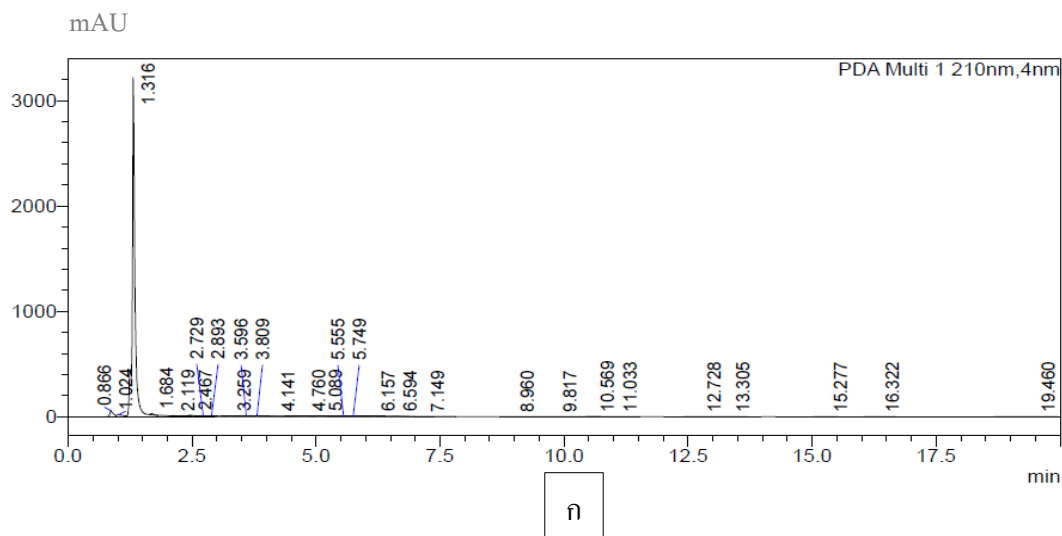
มีผลทำให้มีปริมาณไขมันต่ำกว่า รายงานวิจัยของ Ebrahimi et al. (2014) ซึ่งมีการใช้เติมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์ เซลลูเลสมีปริมาณร้อยละ 2.95

3.2.4 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรด ด้วยการใช้เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพ

ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 6 และภาพที่ 3 พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดแลคติก ซึ่งช่วงเริ่มต้นการหมักตรวจไม่พบกรดแลคติก แต่เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 30 วัน ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณกรดอินทรีย์ เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกรดแลคติก ซึ่งมีปริมาณกรดแลคติกปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 1.118 มีการปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 8.263 สำหรับการหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมนั้นตรวจไม่พบกรดแลคติก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองวิเคราะห์จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย การใช้ปริมาณหัวเชื้อผสมในปริมาณที่มากมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *L .plantarum* มีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์มีการใช้สารอาหารจากใบและทางปาล์ม รวมทั้งกากน้ำตาลที่เติมในช่วงแรกของการหมัก มีผลทำให้ระดับความเป็นกรด - ด่าง ลดลงตามระยะเวลาในการหมัก สอดคล้องกับรายงาน Ebrahimi et al.(2014) ที่มีการศึกษาการเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์ เซลลูเลสในการหมักทางปาล์ม พบว่า การเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์เซลลูเลสมีผลทำให้มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น

**ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดบิวทิริกของใบปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อ ผสมร้อยละ 1.0 และใบปาล์มหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ทำการหมักในสภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง**

| กรดอินทรีย์<br>(g/100 g ,% dry<br>basis) | ใบและทางปาล์มหมักที่ไม่มีการเติม<br>หัวเชื้อผสมหมักเป็นระยะเวลา<br>30 วัน | ใบและทางปาล์มหมักเติม<br>หัวเชื้อผสมเป็นระยะเวลา<br>30 วัน |
|--|---|--|
| กรดอะซิติก                               | 8.393 ± 0.259   | 8.263 ± 0.129  |
| กรดแลคติก                                | ND  | 1.118 ± 0.001  |
| กรดบิวทิริก                              | 0.746 ± 0.150   | 0.886 ± 0.07   |



ภาพที่ 3 พิกโครมาโทแกรมของกรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดบิวทิริก ของไบปาล์มหมักที่ทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ใช้คอลัมน์คอลัมน์แบบ Titan™ C18 UHPLC, 1.9  $\mu\text{m}$  ใช้สารละลายเคลื่อนที่ 25mM  $\text{K}_2\text{PO}_4$  ปรับระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.5 ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

ก. ไบปาล์มหมักที่ไม่มีการเติมเชื้อผสม ข. ไบปาล์มหมักที่เติมเชื้อผสมร้อยละ 1.0

### 3.2.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ผลการวิเคราะห์จำนวนเซลล์ยีสต์ของไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อ ในปริมาณต่างๆ พบว่า อิทธิพลหัวเชื้อที่ใช้ในปริมาณมาก มีผลทำให้มีจำนวนยีสต์มากกว่าการหมักแบบที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้น โดยหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสม มีการตรวจวิเคราะห์ไม่พบเซลล์ยีสต์ในช่วงเริ่มต้น แต่เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ไบและทางปาล์มหมักมีจำนวนเซลล์ยีสต์ 2.17 log CFU/g สำหรับการเติมหัวเชื้อผสมในปริมาณมากขึ้น มีผลทำให้ตรวจพบเซลล์ยีสต์

ในจำนวนที่มาก การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 พบจำนวนเซลล์ยีสต์เฉลี่ยเท่ากับ  $\log 2.9$  CFU/g และ  $\log 3.39$  CFU/g เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน มีจำนวนเซลล์ยีสต์เฉลี่ยเท่ากับ  $\log 4.92$  CFU/g และเฉลี่ยเท่ากับ  $\log 5.05$  CFU/g เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ เซลล์ยีสต์มีองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในช่วงร้อยละ 45 - 49 (Onofre และคณะ, 2017) ซึ่งในระหว่างการหมักมีเซลล์ยีสต์เจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น มีผลเพิ่มปริมาณโปรตีนในใบและทางปาล์มหมัก

### 3.2.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

ผลการเติมปริมาณหัวเชื้อผสมสำหรับการหมักใบและทางปาล์มหมัก พบว่าการใช้ *L. plantarum* ในปริมาณที่มากมีผลทำให้มีจำนวนเซลล์ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เพิ่มขึ้นตามปริมาณหัวเชื้อผสมที่ใช้ พบว่าการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 ตรวจวิเคราะห์พบแลคติกแอซิดแบคทีเรียเฉลี่ย  $4.95 \log$  CFU/g สำหรับใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเฉลี่ย  $5.25 \log$  CFU/g และ  $5.91 \log$  CFU/g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอิทธิพลการเพิ่มปริมาณการเติมหัวเชื้อมีผลต่อการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในใบและทางปาล์มหมัก การสร้างกรดแลคติก มีผลทำให้มีระดับความเป็นกรด - ต่างลดลงช่วยในการสร้างสภาวะที่เป็นกรด ช่วยรักษาคุณภาพของทางปาล์มหมักไม่ให้เกิดการเน่าเสีย

### 3.2.7 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาของทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนของใบปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1 เป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณโปรตีนร้อยละ  $12.31 \pm 0.014$  โดยในวันแรกของการเก็บรักษามีปริมาณโปรตีนร้อยละ  $13.11 \pm 0.049$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่เมื่อทำการเก็บรักษาใบและทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 90 วัน นั้นใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนที่ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับใบและทางปาล์มหมักที่มีอายุการเก็บรักษา 30 วัน และ 60 วัน ซึ่งการเกิดลงของปริมาณโปรตีนอาจเกิดจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ เยื่อใย พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 อายุการเก็บรักษา มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเยื่อใยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) กับใบและทางปาล์มหมักที่มีอายุการเก็บรักษา 30 วัน และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณโปรตีนและเยื่อใย (ร้อยละ) ของใบปาล์มหมักที่เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และ ไม่เติมเชื้อผสม เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน

| อายุการเก็บรักษา | ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)   |                          | ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ)   |                          |
|------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                  | ชุดควบคุม               | เติมเชื้อร้อยละ 1.0      | ชุดควบคุม                | เติมเชื้อร้อยละ 1.0      |
| 0 วัน            | 6.13±0.015 <sup>c</sup> | 13.11±0.049 <sup>a</sup> | 27.40±0.407 <sup>c</sup> | 23.79±0.545 <sup>d</sup> |
| 30 วัน           | 7.25±0.015 <sup>b</sup> | 12.31±0.014 <sup>b</sup> | 27.13±0.410 <sup>c</sup> | 31.97±0.378 <sup>c</sup> |
| 60 วัน           | 7.74±0.016 <sup>a</sup> | 6.91±0.021 <sup>d</sup>  | 37.48±0.556 <sup>a</sup> | 38.91±0.312 <sup>b</sup> |
| 90 วัน           | 7.71±0.012 <sup>a</sup> | 7.74±0.023 <sup>c</sup>  | 30.06±0.363 <sup>b</sup> | 40.49±0.679 <sup>a</sup> |

ตารางที่ 8 ปริมาณไขมันและเถ้า (ร้อยละ) ของทางและใบปาล์มหมักที่เติมและไม่เติมเชื้อผสม เมื่อเก็บที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน

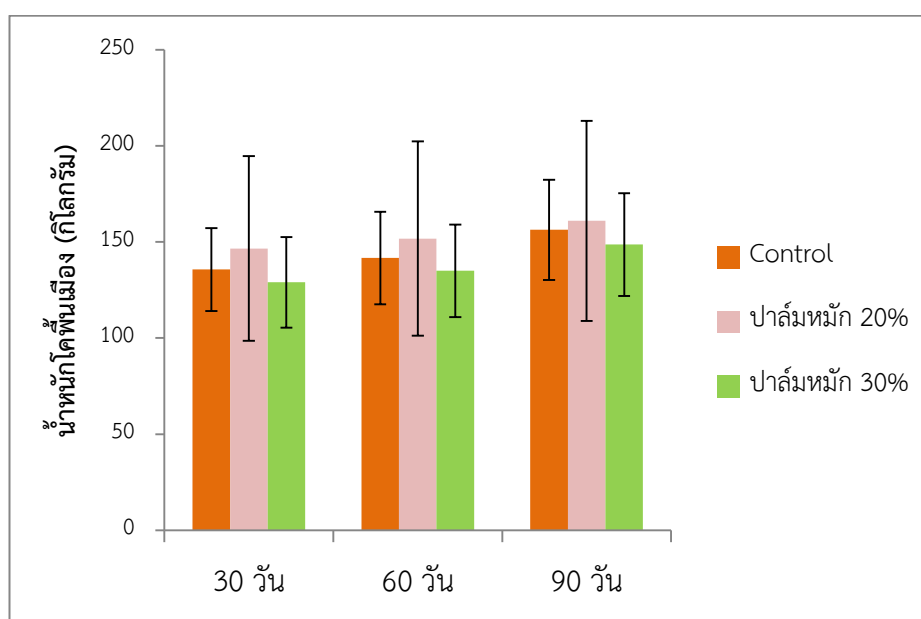
| อายุการเก็บรักษา | ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)     |                         | ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)     |                         |
|------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                  | ชุดควบคุม                | เติมเชื้อ               | ชุดควบคุม               | เติมเชื้อ               |
| 0 วัน            | 1.45±0.611 <sup>ns</sup> | 1.73±0.18 <sup>bc</sup> | 10.03±0.08 <sup>c</sup> | 9.02±0.22 <sup>c</sup>  |
| 30 วัน           | 1.21±0.33 <sup>ns</sup>  | 1.39±0.58 <sup>c</sup>  | 10.94±0.16 <sup>b</sup> | 8.50±0.09 <sup>d</sup>  |
| 60 วัน           | 1.52±0.57 <sup>ns</sup>  | 2.26±0.52 <sup>ab</sup> | 12.53±0.30 <sup>a</sup> | 11.31±0.38 <sup>a</sup> |
| 90 วัน           | 2.20±0.39 <sup>ns</sup>  | 2.64±0.26 <sup>a</sup>  | 12.21±0.09 <sup>a</sup> | 9.74±0.31 <sup>b</sup>  |

สำหรับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและเถ้า พบว่าการเก็บรักษามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมัน พบว่า ใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีปริมาณไขมันร้อยละ 2.64±0.26 เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยเริ่มต้นการหมักมีปริมาณไขมันร้อยละ 1.73±0.18 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเถ้าใบและทางปาล์มหมักพบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 8 ใบและทางปาล์มหมักที่เติมเชื้อร้อยละ 1.0 มีปริมาณเถ้าร้อยละ 9.02±0.22 ในวันเริ่มต้นการเก็บรักษา และเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน มีปริมาณเถ้าร้อยละ 9.74±0.31

### 3.3.ผลของการใช้เสริมใบและทางปาล์มหมักและฟางข้าวต่อการย่อยได้ของ โภชนะและสมรรถนะการเจริญเติบโตของโคพื้นเมืองไทย

(Effect of fermented Oil Palm Fronds in Diets on Nutrient Digestibility and Growth Performance of Thai Native Cattle )

ผลการใช้ใบและทางปาล์มหมักผสมกับฟางข้าวในสัดส่วนใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 0 20 และ 30 โดยมีการเลี้ยงด้วยอาหารชั้นร้อยละ 2 ของน้ำหนักตัว ศึกษาการย่อยได้ และสมรรถนะการเจริญเติบโตของโคพื้นเมือง จำนวน 9 ตัว แบ่งโคโดยสุ่มออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว มีการให้น้ำและอาหารแบบไม่จำกัด ทำการทดลองนาน 90 วัน เก็บตัวอย่างอาหารและมูลโคไปศึกษา การย่อยได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว การเจริญเติบโต น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และความสมบูรณ์ของร่างกาย (BCS) ผลการศึกษาพบว่าใบปาล์มหมัก มีโปรตีนหยาบ ไชมัน เถ้า เยื่อใย neutral detergent fiber (NDF) และเยื่อใย acid detergent fiber (ADF) เท่ากับร้อยละ 13.73, ร้อยละ 1.73, ร้อยละ 9.02, ร้อยละ 46.58 และ ร้อยละ 42.73 ตามลำดับ สำหรับผลการทดลองใช้ใบปาล์มหมักผสมกับฟางข้าว และสัมประสิทธิ์การเจริญของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักในระดับต่างๆและการย่อยได้โภชนะ ( Nutrient Digestibility ) ดังแสดงในตารางที่ 9



ภาพที่ 4 น้ำหนักโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยทางและใบปาล์มหมักร้อยละ 0 20 และ 30 กับฟางข้าว และอาหาร ชั้นเป็นระยะเวลา 90 วัน

ตารางที่ 9 สัมประสิทธิ์การเจริญ ( Growth Performance ) และการย่อยได้ของโภชนะ ( Nutrient Digestibility ) ของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักที่เสริม ร้อยละ 0 20 และ 30 เมื่อทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน

| ค่าพารามิเตอร์                       | ปริมาณการเลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก ( ร้อยละ ) |                            |                            |
|--------------------------------------|---|----------------------------|----------------------------|
|                                      | ร้อยละ 20                                       | ร้อยละ 30                  | ชุดควบคุม                  |
| น้ำหนักโคเริ่มต้น ( กก. )            | 137.67±42.00 <sup>ns</sup>                      | 123±21.51 <sup>ns</sup>    | 133±19.31 <sup>ns</sup>    |
| น้ำหนักโคสุดท้าย ( กก. )             | 161±52.11 <sup>ns</sup>                         | 148.67±26.76 <sup>ns</sup> | 156.33±26.02 <sup>ns</sup> |
| น้ำหนักที่เพิ่ม ( กก. )              | 23.33±10.40 <sup>ns</sup>                       | 25.67±6.80 <sup>ns</sup>   | 23.33±8.38 <sup>ns</sup>   |
| อัตราการเจริญต่อวัน ( กก./วัน )      | 0.259±0.11 <sup>ns</sup>                        | 0.285±0.07 <sup>ns</sup>   | 0.259±0.09 <sup>ns</sup>   |
| การย่อยได้ของโภชนะ ( ร้อยละ )        | 65.65±0.50 <sup>b</sup>                         | 67.54±1.06 <sup>a</sup>    | 63.14±0.87 <sup>c</sup>    |
| อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ( Kg ) | 4.72±0.05 <sup>c</sup>                          | 4.86±0.04 <sup>b</sup>     | 4.96±0.04 <sup>a</sup>     |

ผลการทดลองพบว่าการใช้ใบและทางปาล์มหมักด้วยหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์สัดส่วนร้อยละ 30 เลี้ยงโคเป็นระยะเวลา 90 วัน โคมีน้ำหนักเพิ่มสูงสุดมีค่าเท่ากับ 25.67 กก. มีค่าพารามิเตอร์สัมประสิทธิ์การเจริญที่ดีที่สุด มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเท่ากับ 0.285 กก./วัน ซึ่งสอดคล้องกับมีค่าการย่อยได้โภชนะสูงสุดเท่ากับร้อยละ 67.54 สำหรับโคพื้นเมืองที่มีการเลี้ยงด้วย ฟางข้าวและอาหารขั้วนั้นน้ำหนักเพิ่มสูงสุดมีค่าเท่ากับ 23.33 กก. อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเท่ากับ 0.259 กก./วัน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 4.96 จากการศึกษารังนี้จะเห็นได้ว่า โคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก และโคพื้นเมืองชุดควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำกว่า โคเนื้อที่เลี้ยงด้วยหญ้าหรือฟางข้าว ซึ่งจากการรายงานของสายพันธ์และคณะ (2554) ได้รายงานว่าโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยฟางหรือหญ้าซึ่งแห่งเป็นแหล่งอาหารหลักโดยให้กินอาหารแบบ เต็มที่มีค่า ADG ในช่วง 0.31 -0.41 kg/d ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างพันธุโคที่ใช้เลี้ยง และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมือนกัน

### 3.3.1 การคำนวณต้นทุนค่าอาหารหยาบ

ผลการคำนวณต้นทุนอาหารหยาบซึ่งประกอบด้วยฟางข้าวและทางปาล์มหมัก โดยมีการใช้ฟางข้าวอัดก้อน มีน้ำหนักก้อนละ 16 กิโลกรัม ราคาก้อนละ 65 บาท คิดราคารวมค่าขนส่ง มีราคากิโลกรัมละ 4.06 บาท และเมื่อคิดในรูปน้ำหนักแห้ง ฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งร้อยละ 92.5 เมื่อคิดราคาต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง ฟางข้าวมีต้นทุนกิโลกรัมละ 4.40 บาท สำหรับใบปาล์มหมัก

มีน้ำหนักแห้งร้อยละ 35 มีต้นทุนกิโลกรัมละ 3.85 บาทซึ่งประกอบด้วยค่าใช้จ่ายต่อทางปาล์มหมัก ดังนี้ ค่าแรงงาน 2.25 บาท หัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมัก 0.70 บาท ค่าไฟฟ้าและน้ำ กากน้ำตาล 0.23 บาท และค่าใช้จ่ายอื่นๆร้อยละ 0.07 ดังนั้นเมื่อพิจารณาการใช้ทางปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมฟางข้าวร้อยละ 70 มีต้นทุนเท่ากับ 4.195 บาท และการใช้ทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมฟางข้าวร้อยละ 80 มีต้นทุนเท่ากับ 4.40 บาท

### 3.3.2 ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก

ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมัก มีค่าพารามิเตอร์เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่บ่งชี้ ถึงสุขภาพของโคพื้นเมืองไทย ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (ร้อยละ) ค่าฮีโมโกลบิน (g/dL) จำนวนเม็ดเลือดแดง ( $\times 10^6$  cell/mm<sup>3</sup>) ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) อยู่ในช่วงค่าพิสัยปกติ และไม่พบไขพยาธิในมูลโคพื้นเมือง สอดคล้องกับการทดลองของ Patcharagon et al.,(2007) นอกจากนี้ในเลือดของโคพื้นเมืองพบมีค่าเม็ดเลือดขาวชนิด Neutrophil, Lymphocyte และ Monocyte ในปริมาณที่ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติบ่งชี้ถึงโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงทั้งชุดควบคุมและเสริมด้วยใบและทางปาล์มหมักมีสุขภาพที่ดี เมื่อพิจารณาถึงค่าเม็ดเลือดขาวของโคพื้นเมืองพบว่ามีค่าน้อยกว่าค่าการทดลองของเบญจพรและคณะ (2561) พบการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์

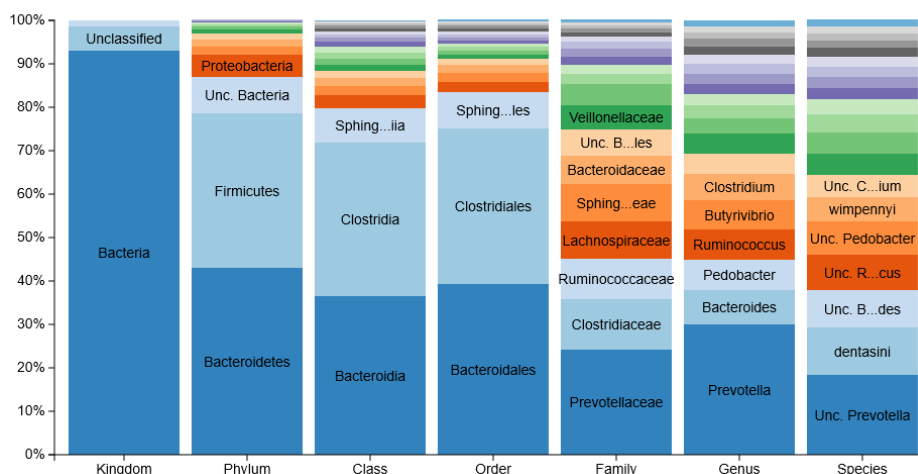
#### ตารางที่ 10 ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยา (Hematological parameter ) ของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ร้อยละ 30 และฟางข้าวร้อยละ 100

| โลหิตวิทยา   | Control                   | ปาล์มหมักร้อยละ 20        | ปาล์มหมักร้อยละ 30        | ค่าปกติ (Jain,1993) |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------|
| ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)                               | 32.77±6.352 <sup>ns</sup> | 36.17±1.986 <sup>ns</sup> | 36.17±7.446 <sup>ns</sup> | 24- 46              |
| ค่าฮีโมโกลบิน (g/dL)                                     | 10.63±1.301 <sup>ns</sup> | 12.03±0.503 <sup>ns</sup> | 12.30±2.551 <sup>ns</sup> | 5 – 18              |
| จำนวนเม็ดเลือดแดง ( $\times 10^6$ cell/mm <sup>3</sup> ) | 7.91±1.076 <sup>ns</sup>  | 8.17±0.546 <sup>ns</sup>  | 8.11±1.493 <sup>ns</sup>  | 5 – 10              |
| MCV (fl)   | 41.20±3.223 <sup>ns</sup> | 45.07±0.902 <sup>ns</sup> | 44.53±1.721 <sup>ns</sup> | 40 – 60             |
| MCH (pg)   | 13.43±0.723 <sup>b</sup>  | 14.73±0.569 <sup>a</sup>  | 15.13±0.643 <sup>a</sup>  | 13.7 – 18.2         |
| MCHC (g/dl)  | 32.80±2.646 <sup>ns</sup> | 32.70±0.985 <sup>ns</sup> | 34.00±0.173 <sup>ns</sup> | 30 -36              |
| WBC ( $\times 10^3$ cell/mm <sup>3</sup> )               | 12.21±0.717 <sup>ns</sup> | 14.24±1.755 <sup>ns</sup> | 12.94±2.343 <sup>ns</sup> | 4 – 12              |
| Segment neutrophil (%)                                   | 1.99±1.180 <sup>b</sup>   | 4.44±0.994 <sup>a</sup>   | 3.58±1.105 <sup>ab</sup>  | 15 – 45             |

|                |                          |                          |                          |         |
|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| Eosinophil (%) | 0.42±0.125 <sup>b</sup>  | 0.91±0.119 <sup>a</sup>  | 0.45±0.069 <sup>b</sup>  | 0 – 20  |
| Basophil (%)   | 0.00±0.006               | 0.43±0.742               | 0.00±0.00                | 0 – 2   |
| Lymphocyte (%) | 9.29±1.250 <sup>ns</sup> | 7.97±1.870 <sup>ns</sup> | 8.06±1.672 <sup>ns</sup> | 45 – 75 |

### 3.3 ผลการศึกษาความหลากหลายจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วย ใบและทางปาล์มหมัก

ผลการศึกษาหาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักด้วยวิธีการ Next generation sequencing (NGS) การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย Metagenomic sequencing (Metagenome) ด้วยเครื่อง Next-Generation Sequencing รุ่น MiSeq ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากกระเพาะรูเมนตามวิธีการของ Tong et al., (2018) ตัวอย่างน้ำในกระเพาะแบ่งออก 2 ส่วน คือนำมาวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่าง การนำตัวอย่างผ่านการหมუნเหวียงที่ความเร็วรอบ 100,000 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอ และการหาลำดับดีเอ็นเอ การขยายปริมาณดีเอ็นเอด้วยการเทคนิค Polymerase Chain Reaction 16S rRNA analysis และการวิเคราะห์และประมวลผลข้อมูลตามวิธีการของ Illumina MiSeq ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 5 และตารางที่ 11



ภาพที่ 5 ผลการจำแนกอนุกรมวิธาน ด้วยวิธีการ Next-Generation Sequencing

ตารางที่ 11 ร้อยละผลการอ่านทั้งหมด (Total Reads) เพื่อการจำแนกตามระดับอนุกรมวิธาน

| ระดับอนุกรมวิธาน<br>วิทยา<br>Taxonomic<br>Level | ร้อยละการอ่านทั้งหมด (% Total Reads) จากตัวอย่างของเหลวจาก<br>กระเพาะรูเมน |           |           |
|---|--|-----------|-----------|
|   | 100 % RS   | 20 % OPFS | 30 % OPFS |
| Kingdom   | 99.34 %  | 99.33 %   | 99.23 %   |
| Phylum  | 93.60 %  | 91.52 %   | 91.72 %   |
| Class   | 89.55 %  | 88.01 %   | 87.60 %   |
| Order   | 88.33 %  | 87.10 %   | 86.52 %   |
| Family  | 81.64 %  | 80.62 %   | 80.87 %   |
| Genus   | 78.27 %  | 76.28 %   | 76.08 %   |
| Species   | 33.00 %  | 37.41 %   | 37.43 %   |

ตารางที่ 12 ร้อยละผลการอ่านทั้งหมด (Total Reads) เพื่อการจำแนกตามระดับจีโนม

| ผลการจำแนกระดับ<br>จีโนม    | ของเหลวจากรูเมนจากโคที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักใน<br>ระดับต่าง ๆ |           |           |
|-----------------------------|---|-----------|-----------|
|                             | 100 % RS  | 20 % OPFS | 30 % OPFS |
| Bacteroidales               | 11.93 %   | 31.67 %   | 20.50 %   |
| Clostridiales               | 51.72 %   | 29.39 %   | 38.71 %   |
| Unclassified at Order level | 11.67 %   | 12.90 %   | 13.48 %   |
| Sphingobacteriales          | 2.51 %  | 6.87 %    | 6.34 %    |
| Desulfovibrionales          | 1.64 %  | 1.77 %    | 1.50 %    |
| Brocadiales                 | nd  | 1.77 %    | nd        |
| Methanobacteriales          | nd  | 1.45 %    | nd        |
| Flavobacteriales            | nd  | 1.34 %    | 1.50 %    |
| Pelagicoocales              | 4.31 %  | nd        | nd        |
| Thermicanales               | 1.46 %  | nd        | 1.31 %    |
| Erysipelotrichales          | 1.07 %  | nd        | nd        |
| Burkholderiales             | nd  | nd        | 1.14 %    |

**ตารางที่ 13** ผลการจำแนกจุลินทรีย์ระดับสปีชีส์ในตัวอย่างของเหลวจากรูเมนของโคที่เลี้ยงด้วยใบ  
และทาง ปาล์มหมัก

| การจำแนกระดับสปีชีส์                | ของเหลวจากรูเมนของเหลวจากรูเมนจากโคที่เลี้ยงด้วยใบและทาง<br>ปาล์มหมักในระดับต่าง ๆ |           |           |
|-------------------------------------|--|-----------|-----------|
|                                     | 100 % RS   | 20 % OPFS | 30 % OPFS |
| Unclassified at Species level       | 67.00 %  | 62.59 %   | 62.57 %   |
| <i>Prevotella dentasini</i>         | nd   | 5.48 %    | nd        |
| <i>Dysgonomonas wimpennyi</i>       | 1.82 %   | 2.86 %    | 3.16 %    |
| <i>Oscillospira eae</i>             | 1.80 %   | 2.46 %    | 2.24 %    |
| <i>Butyrivibrio proteoclasticus</i> | 1.19 %   | 2.41 %    | 1.09 %    |
| <i>Alkaliphilus crotonatoxidans</i> | 4.18 %   | 2.07 %    | 2.27 %    |
| <i>Candidatus Scalindua brodae</i>  | nd   | 1.77 %    | nd        |
| <i>Caloramator mitchellensis</i>    | 1.77 %   | 1.29 %    | nd        |
| <i>Ruminococcus flavefaciens</i>    | nd   | nd        | 1.81 %    |
| <i>Paraprevotella clara</i>         | nd   | nd        | 1.52 %    |
| <i>Clostridium alkalicellulosi</i>  | nd   | nd        | 1.00 %    |
| <i>Selenomonas infelix</i>          | 3.03 %   | nd        | nd        |
| <i>Clostridium malenominatum</i>    | 1.93 %   | nd        | nd        |

### 3.4 อิทธิพลของเลี้ยงโคพื้นเมืองด้วยทางปาล์มหมักและฟางข้าวต่อคุณภาพของเนื้อ

#### ทางด้านเคมี

ผลการตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อโคพื้นเมือง พบว่าเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 70:30 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดค่าเท่ากับร้อยละ  $22.28 \pm 0.261$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) สำหรับเนื้อสันโคพื้นเมืองที่ได้จากการเลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 20 :80 ร้อยละ  $22.28 \pm 0.261$  และหน่วยการทดลอง

ควบคุมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันพบว่าเนื้อโคพื้นเมืองมีปริมาณไขมันร้อยละ  $2.58 \pm 0.587$  สำหรับหน่วยการทดลองควบคุมมีปริมาณไขมันน้อยที่สุดมีค่าเฉลี่ยร้อยละ  $1.65 \pm 0.339$  ดังแสดงในตารางที่ 14 ผลการทดลองสอดคล้องกับ พร้อมลักษณะ และ สุภัทรา (2551) รายงานผลการศึกษาคคุณค่าทางโภชนาการของโคพันธุ์พื้นเมืองที่เลี้ยงตามธรรมชาติมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 20.67 สอดคล้องกับรายงานการทดลองศึกษาปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของโคเนื้อพื้นเมืองมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 21 มีปริมาณไขมันร้อยละ 0.77 โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ อมรรัตน์ และคณะ (2553) ซึ่งรายงานว่ องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อของโคลูกผสมพันธุ์ประเมินคุณภาพเนื้อของโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมของไทยในตลาดค้าปลีก พบว่าเนื้อโคพันธุ์ตากมีโปรตีนเท่ากับร้อยละ 21.75 นอกจากนี้มีการศึกษาการใช้อาหารผสมเสร็จหมัก FTMR วิถีพงษ์ (2562) รายงานว่าค่าโปรตีนของเนื้อโคลูกผสม (ร้อยละ 50 บราห์มัน X ร้อยละ 50 ชาร์โรเลส) ที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จหมัก กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมเชื้อจุลินทรีย์) มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จหมัก เสริมเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีค่าโปรตีนอยู่ระหว่าง ร้อยละ 21.52-22.20

**ตารางที่ 14 ปริมาณโปรตีนไขมัน และความชื้นของเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบและทางปาล์ม หมักผสมฟางข้าวในสัดส่วนต่างๆกันเป็นระยะเวลา 90 วัน**

| Parameter       | 100%RS              | 20%OPFS             | 30%OPFS               |
|-----------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| Protein (wet %) | $21.49 \pm 0.228^b$ | $21.13 \pm 0.208^b$ | $22.28 \pm 0.261^a$   |
| Fat (%)         | $1.65 \pm 0.339^a$  | $3.63 \pm 0.346^b$  | $2.58 \pm 0.587^{ab}$ |
| Moisture (%)    | $72.66 \pm 0.206^c$ | $73.24 \pm 0.201^b$ | $73.62 \pm 0.078^a$   |

สำหรับผลการศึกษาค่าสีของเนื้อโคพื้นเมือง พบว่าเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่ใช้อาหารหยาบที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น พบว่าค่าความเป็นสีเหลือง และค่าความสว่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 80 : 20 เนื้อโคสันนอกมีค่าความสีแดงน้อยกว่า เนื้อโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 70 : 30 โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าความเป็นสีแดง  $10.96 \pm 0.38$  ดังแสดงในตารางที่ 15 โดยมีค่าความเป็นต่ำกว่ารายงานวิจัยของ Sethakul et al. (2008) เนื้อโคพื้นเมืองมีค่าความเป็นสีแดงเท่ากับ 15.07 นอกจากนี้ อมรรัตน์ และคณะ (2555) รายงานผลการวิเคราะห์คุณภาพเนื้อทางกายภาพของกล้ามเนื้อสันนอกของโคเนื้อพันธุ์ตากพบว่า มี

ค่าความเป็นสีแดง เท่ากับ 19.40 ค่าที่ได้นี้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ ธันวา (2552) พบว่าค่า a\* ของเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองมีค่าความเป็นสีแดงของเนื้อประมาณ 16.18

ตารางที่ 15 ค่าพารามิเตอร์การสูญเสียน้ำระหว่างแช่เย็น การสูญเสียน้ำระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อนแรงตัดผ่านเนื้อ และค่าสีเนื้อสันนอกของโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยทางใบปาล์มหมัก ร้อยละ 70 และฟางข้าวร้อยละ 30 เป็นเวลา 90 วัน

| Parameter         | 100 %RS                  | 20%OPFS                  | 30%OPFS                  |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Drip loss (%)     | 8.39±0.231 <sup>b</sup>  | 12.27±0.140 <sup>a</sup> | 8.10±0.010 <sup>b</sup>  |
| Cooking loss (%)  | 32.97±0.120 <sup>b</sup> | 15.58±0.141 <sup>c</sup> | 35.15±0.060 <sup>a</sup> |
| Shear force (kg)  | 8.60±0.052 <sup>a</sup>  | 9.57±1.163 <sup>a</sup>  | 5.69±0.339 <sup>b</sup>  |
| <b>Meat color</b> |                          |                          |                          |
| Lightness, L*     | 35.03±1.87 <sup>ns</sup> | 32.47±1.40 <sup>ns</sup> | 34.32±0.17 <sup>ns</sup> |
| Redness, a *      | 12.36±0.37 <sup>a</sup>  | 11.96±0.23 <sup>a</sup>  | 10.96±0.38 <sup>b</sup>  |
| Yellowness, b *   | 13.19±0.60 <sup>ns</sup> | 12.23±0.46 <sup>ns</sup> | 12.70±0.31 <sup>ns</sup> |

ตารางที่ 16 ค่าพารามิเตอร์การสูญเสียน้ำระหว่างแช่เย็น การสูญเสียน้ำระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อนแรงตัดผ่านเนื้อ และค่าสีเนื้อสันในของโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยทางใบปาล์มหมักร้อยละ 70 และฟางข้าวร้อยละ 30 เป็นเวลา 90 วัน

| Parameter         | 100 %RS                  | 20%OPFS                  | 30%OPFS                  |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Drip loss (%)     | 4.72±0.128 <sup>b</sup>  | 8.11±0.045 <sup>a</sup>  | 4.44±0.104 <sup>c</sup>  |
| Cooking loss (%)  | 33.17±0.035 <sup>c</sup> | 35.06±0.117 <sup>a</sup> | 33.33±0.035 <sup>b</sup> |
| Shear force (kg)  | 8.88±2.416 <sup>ns</sup> | 7.06±1.456 <sup>ns</sup> | 7.36±0.410 <sup>ns</sup> |
| <b>Meat color</b> |                          |                          |                          |
| Lightness, L*     | 30.78±1.80 <sup>ns</sup> | 31.62±1.78 <sup>ns</sup> | 31.47±0.27 <sup>ns</sup> |
| Redness, a *      | 13.19±0.64 <sup>ns</sup> | 12.93±0.73 <sup>ns</sup> | 13.95±0.30 <sup>ns</sup> |
| Yellowness, b *   | 13.56±0.67 <sup>b</sup>  | 13.51±0.37 <sup>b</sup>  | 15.04±0.24 <sup>a</sup>  |

สำหรับผลการศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อโคสันนอก ด้วยการการสูญเสียน้ำระหว่างการแช่เย็นของเนื้อโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยอาหารหยาบทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง พบว่าเนื้อสันนอกจากโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 80:20 มีการสูญเสียน้ำระหว่างแช่เย็นสูงสุดมีค่าเท่ากับ 12.27±0.140 และ มีค่าการสูญเสียน้ำเมื่อทำให้สุกต่ำที่สุด

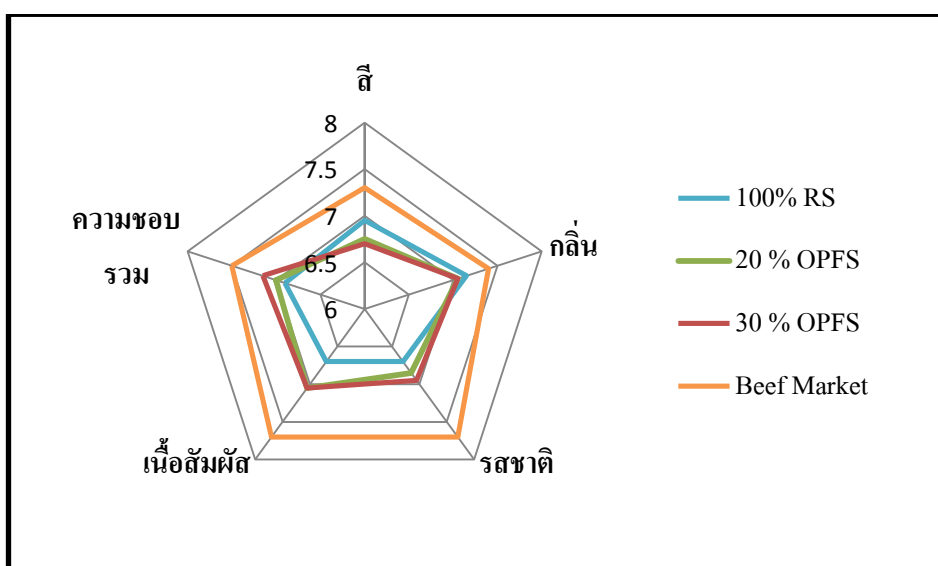
มีค่าเท่ากับ  $15.58 \pm 0.141$  โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าสูญเสีย น้ำระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่า รายงานของ จิตติพงษ์ (2562) กล้ามเนื้อสันนอกของโคที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จหมักทุกกลุ่มมีการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาอยู่ในช่วงร้อยละ 3.66 - 4.14 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่าการสูญเสียน้ำเมื่อทำให้สุกมีค่าน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ อมรัตน์ และคณะ (2555) รายงานประเมินคุณภาพเนื้อของโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมของไทยในตลาดค้าปลีก โดยทำการศึกษาในโคเนื้อพันธุ์ลูกผสม 3 สายพันธุ์คือ โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน ตาก และ กบินทร์บุรี มีค่าสูญเสีย น้ำหนักเมื่อทำให้สุกในช่วงร้อยละ 32.95 - 38.03 ซึ่งสอดคล้องกับ จิตติพงษ์ (2562) รายงานการสูญเสีย น้ำหนักเมื่อทำให้สุกมีค่าในช่วงร้อยละ 28.11 - 30.78 ซึ่งพบว่ากล้ามเนื้อสันนอกของโคที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จหมักทุกกลุ่มมีการสูญเสีย น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา มีค่าเท่ากับร้อยละ 3.66 ร้อยละ 4.14 ร้อยละ 4.14 และร้อยละ 3.67 แต่พบว่าเนื้อโคกลุ่มที่ได้รับอาหาร FTMR4 มีการสูญเสีย น้ำหนักเมื่อทำให้สุกสูงสุด คือร้อยละ 29.95

สำหรับค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสันนอก พบว่าเนื้อสันนอกจากโคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 70 : 30 ค่าแรงตัดผ่านเฉลี่ย  $5.69 \pm 0.339$  กิโลกรัม ซึ่งมีค่าน้อยที่สุดโดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) สำหรับเนื้อโคสันนอกที่เลี้ยงด้วยฟางแห้งร้อยละ 100 มีค่าแรงตัดผ่านเฉลี่ย  $8.60 \pm 0.052$  กิโลกรัม และเนื้อโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 80 : 20 ค่าแรงตัดผ่านเฉลี่ย  $9.57 \pm 1.163$  กิโลกรัม นอกจากนี้การใช้ทางปาล์มหมักและฟางข้าวมีค่าแรงตัดผ่านซึ่งสอดคล้องกับจิตติพงษ์ (2562) โคขุนที่ได้รับอาหารผสมสำเร็จหมักมีค่าอยู่ระหว่าง 5.16 - 5.93 กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม แรงตัดผ่านเนื้อของการศึกษาครั้งนี้สูงกว่า กฤตพล และคณะ (2558) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของโคขุนลูกผสมชาโรเลส์ที่ได้รับอาหารหยาบแตกต่างกัน 3 กลุ่ม คือกลุ่มอาหารควบคุม อาหาร FTMR และอาหาร FTMR ผสมกากน้ำตาล มีแรงค่าตัดผ่านเนื้อ 4.04 - 4.89 กิโลกรัม นอกจากนี้คงปฐม และคณะ (2562) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของโคขุนกำแพงแสนเพศผู้ตอนที่ได้รับอาหารผสมครบส่วนมีแรงตัดผ่านเนื้อ  $5.69 \pm 1.94$  กิโลกรัม

### 3.5 ผลศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคที่เลี้ยงด้วยทางปาล์มหมักและฟางข้าว

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสเนื้อโคพื้นเมืองที่ได้รับอาหารหยาบแตกต่างกัน 3 กลุ่ม คือ กลุ่มอาหารควบคุม อาหารหยาบที่ประกอบด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 80:20 และกลุ่มอาหารหยาบที่ประกอบด้วยทางปาล์มหมักผสมฟางข้าวสัดส่วน 70 : 30 และตัวอย่างเนื้อโคสันนอกจากท้องตลาด โดยให้ผู้ทดสอบชิมที่ได้รับการฝึกฝน ทำการทดสอบชิมด้านเนื้อสัมผัสเพื่อประเมินความเหนียวนุ่ม (tenderness) ความชุ่มฉ่ำ (juiciness) กลิ่นของเนื้อ ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนทุกๆด้าน โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังแสดงในภาพ

ที่ 6 พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบด้านสีของเนื้อโคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.70 – 7.30 คะแนน ค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.05 – 7.40 คะแนน รสชาติของเนื้อไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยเนื้อที่ผู้ทดสอบให้คะแนนมากที่สุดคือเนื้อจากท้องตลาด เฉลี่ย 7.70 คะแนน โดยเนื้ออีก 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีคะแนนเฉลี่ย 6.95 – 6.70 คะแนน ผลการทดสอบเนื้อทางสัมผัสของเนื้อ พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนเนื้อจากท้องตลาดมากที่สุดเฉลี่ย 7.70 คะแนน และเนื้ออีก 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกัน เฉลี่ย 6.70 – 7.05 คะแนน ในส่วนการความชอบโดยรวมของเนื้อ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ คะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 6.90 – 7.50 คะแนน



ภาพที่ 6 คะแนนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคพื้นเมืองที่ได้รับทางปาล์มหมักและฟางข้าวในสัดส่วนต่างๆกัน



ก.100 % RS



ข.20 % OPFS



ค.30 % OPFS

ภาพที่ 7 ลักษณะลายกล้ามเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ก.100 % RS

ข.20 % OPFS

ค.30 % OPFS

ภาพที่ 8 ลักษณะเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ก.100 % RS

ข.20 % OPFS

ค.30 % OPFS

ภาพที่ 9 ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ก.100 % RS

ข.20 % OPFS

ค.30 % OPFS

ภาพที่ 10 ลักษณะเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ใบปาล์มหมักร้อยละ 20 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 80 และการเลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน

## บทที่ 4

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลของใช้หัวเชื้อผสม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น สำหรับการหมักใบและทางปาล์ม พบว่า อิทธิพลการใช้หัวเชื้อผสม สามารถเร่งกระบวนการหมักใบ ปาล์มสามารถเพิ่มกรดแลคติก กรดอะซิติก ช่วยในการรักษาคุณภาพและเพิ่มปริมาณโภชนะของใบ และทางปาล์มหมัก ใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ  $13.73 \pm 0.12$  ไขมันร้อยละ  $1.45 \pm 0.611$  เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วันมีจำนวนเซลล์ยีสต์และ เซลล์แลคติกแอซิดแบคทีเรียในทางปาล์มหมักที่มากกว่าการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมใบและ ทางปาล์มหมักมีอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยไม่มีการเสื่อมเสีย ใบและปาล์มหมักด้วย เชื้อผสม *S.cerevisiae* และ *L.plantarum* ร้อยละ 1.0

อิทธิพลการให้อาหารโคพื้นเมืองด้วยใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 20 ร้อยละ 30 และการ เลี้ยงด้วยฟางข้าวร้อยละ 100 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ด้านสัมประสิทธิ์การเจริญ และการย่อย ได้ ของโภชนะ เมื่อศึกษาความหลากหลายทางจุลินทรีย์ในน้ำรูเมนจากกระเพาะโคพบจุลินทรีย์ที่เด่นทั้ง 3 กลุ่ม คือ Bacteroidales, Clostridiales, Bacteroidetes Sphingobacteriales and Desulfovibrionales สำหรับผลการศึกษาคุณภาพเนื้อทางคุณค่าทางโภชนา พบว่า เนื้อโคที่ได้รับ การเลี้ยงด้วยใบและทางปาล์มหมักร้อยละ 30 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 22.28 ปริมาณไขมันร้อยละ 2.58 มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการแช่เย็นร้อยละ 8.10 การสูญเสียน้ำระหว่างการแปรรูปด้วยความ ร้อนร้อยละ 35.15 เนื้อมีค่าแรงตัดผ่าน 5.65 กิโลกรัม ผลการทดสอบเนื้อโคที่ได้จากการเลี้ยงด้วยใบ ปาล์มหมักร้อยละ 20 ร้อยละ 30 ฟางข้าวร้อยละ 100 ทางด้านประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ นับว่าหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรีย มี ศักยภาพสำหรับใช้หมักใบและทางปาล์ม เป็นอาหารหยาบทางเลือกใหม่สำหรับการเลี้ยงโคพื้นเมือง ไทย เป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งจากสวนปาล์มน้ำมัน เป็นการลดต้นทุนเพิ่มรายได้ สร้างความยั่งยืนต่อ เกษตรกรไทย

## บรรณานุกรม

- กฤตพล สมมาตย์. 2558. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีอาหารหมักสำเร็จรูปสู่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคขุน โพนยางคำ. สำนักงานกองทุนวิจัยแห่งชาติ, 61 หน้า.
- เกรียงเดช สำเดซ และสมพร โชคเจริญ.2544. โครงการปรับปรุงคุณภาพโคพันธุ์พื้นเมืองการศึกษา การ เจริญเติบโตและลักษณะซากโคพื้นเมืองภายใต้สภาวะการเลี้ยงขุน.รายงานผลงานวิจัย การปศุสัตว์.กรมปศุสัตว์.14น.
- จินดา สนิทวงศ์ ทิพา บุญยะวิโรจ จีระวัชร เข้มสวัสดิ์ สุมาลี ไหลรุ่งเรือง อภิชาติ สุติตา และแสงอรุณ สมุทรักษ์.2534.การใช้ข้าวเปลือกเป็นอาหารเสริมสำหรับโคพื้นเมือง.รายงานผลงานวิจัยกรม ปศุสัตว์สาขา ปรับปรุงพันธุ์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี พ.ศ. 2534 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 14-25.
- คงปฐม กาญจนเสริม ภูมิพงศ์ บุญแสน อัญชลี คงประดิษฐ์ ชนณภัส หัตถกรรม และสุริยะ สะวา นนท์. 2562. ลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อโคนมเพศผู้ และโคกำแพงแสนเพศผู้ขุน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 37 (2) : 313-323.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ ปิยะชนิต อินทรพรอุดม และปิยะดา ทวีชศรี.2553. คุณภาพเนื้อของโคพื้นเมืองและโคลูกผสมพันธุ์ต่างๆ ภายใต้ระบบการผลิตเนื้อโคและ ระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน.วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.ปีที่ 28 ฉบับที่ 2 (ฉบับพิเศษ) พฤษภาคม-สิงหาคม 2553. 17-25.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล.ม.ป.ป.คุณค่าของเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง.ปศุสัตว์เกษตรศาสตร์.สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- จินดา สนิทวงศ์ ทิพา บุญยะวิโรจ จีระวัชร เข้มสวัสดิ์ สุมาลี ไหลรุ่งเรือง อภิชาติ สุติตา และแสงอรุณ สมุทรักษ์. 2534.การใช้ข้าวเปลือกเป็นอาหารเสริมสำหรับโคพื้นเมือง.รายงานผลงานวิจัย กรมปศุสัตว์ สาขาปรับปรุงพันธุ์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี พ.ศ. 2534 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์กรุงเทพฯ.14-25.
- ชัยณรงค์ คันธนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. 84 น.
- เชษฐชุตตา เชื้อสุวรรณ. 2561. แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี 2561 – 2563 อุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม industry perspectives. แหล่งที่มา:www.krungsv.com/bank/getmedia/578889eo. (4 มกราคม 2562)

- ฐิติพงษ์ นกแก้ว .2562.ผลการใช้อาหารผสมสำเร็จหมักที่เสริมเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของ โคขุน.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต,มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ภูเก็ต. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต,มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ภูเก็ต. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- ทัศนีย์ ตริยรัตน์อภิวัน และรัชกฤษ เลิศภัทรโกมล .ม.ป.ป. เนื้อโคพื้นเมืองไทย: จากผู้ผลิตสู่ผู้บริโภค. โครงการสโมสรวารสาร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร.
- ธันวา ไวยบท.2557.การศึกษาคุณภาพเนื้อโคและการยอมรับของผู้บริโภคต่อสายพันธุ์โคเนื้อในเขต จังหวัดนครสวรรค์. **แก่นเกษตร 42** ฉบับพิเศษ 1.
- ธันวา ไวยบท และ ปิยนุช ภูกันแก้ว.2558.การศึกษาคุณภาพของเนื้อโคสายพันธุ์อินดูบราซิล ลูกผสมบราห์มันและพื้นเมือง. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร**; 13(2): 117-122
- ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ชัยรัตน์ นิลนนท์ ธีระพงศ์ จันทรมิณ ประกิจ ทองคำ และ สมเกียรติ สีสนอง. 2548. การจัดการสวนปาล์มน้ำมัน. ใน เส้นทางสู่ความสำเร็จการผลิตปาล์มน้ำมัน. สงขลา: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- เบญจพร ฤทธิสุทธิ, ประยุทธ์ แซ่ไคว้ และกรรณิการ์ ณ ลำปาง 2561 การตรวจหาปรสิตในเลือดโค พื้นเมืองที่เลี้ยงในจังหวัดเชียงใหม่. **วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 35(2) (พิเศษ): 32-45**
- ประดิษฐ์ อาจชมภู ศิริศักดิ์ บริรักษ์ธนกุล เกียรติศักดิ์ สร้อยสุวรรณ สมจิตร วัฒนวงศ์วัฒน์ และสมพรจันทร์ .2552. การพัฒนาทางไบโपाल์มน้ำมันเป็นแหล่งอาหารหยาดสำหรับเลี้ยงแพะ. **การประชุมวิชาการของเครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษา เรื่องเศรษฐกิจฐานความรู้ วิถีชีวิต จังหวัด นครศรีธรรมราช 2-4 เมษายน 2552** หน้า 35-44.
- ปราณี อานเป็รื่อง. 2547. **เอ็นไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ปิ่น จันจุฬา และ วสันต์ เพชรรัตน์.2559.ผลของ fungal treatment ต่อการย่อยได้ของโภชนะ กระบวนการหมัก และสมรรถภาพการผลิตของแพะขุน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์.ภาควิชา สัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

- พิพัฒน์ เหลืองลาวัลย์ และวิศิษฐพร สุขสมบัติ. 2558. การศึกษาการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อกระบวนการหมักของพืชหมัก. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, 46 หน้า.
- มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, จิรัฏฐวัฒน์ ศรีอ่อนเลิศ, วุฒิกกร สระแก้ว และ วรางคณา กิจพิพิธ. 2557. “การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของกากปาล์มน้ำมันรวมโดยใช้ยีสต์และบาซิลลัสเพื่อเป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับสัตว์”. **แก่นเกษตร 42 (1): 351-357.**
- วิชัย ปานสมุทร วิทยา พงศ์พฤทธิ และชวน อินตะรังสี. 2546. ปาล์มน้ำมัน. สำนักพัฒนาพลังงานกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. กรุงเทพฯ.
- ภัทรภร ทศพงษ์. 2560. **การผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง.** พิษณุโลก: ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร, 279 หน้า.
- วุฒิชัย สีเผือก. 2549. การเพิ่มศักยภาพการเลี้ยงโคเนื้อและแพะโดยใช้ผลพลอยได้จากปาล์มน้ำมันและอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มในพื้นที่ภาคใต้. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ นครศรีธรรมราช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- วิศิษฐพร สุขสมบัติ และสมนึก สอนนอก. 2544. การศึกษากรรมวิธีการผลิตอาหารหยาบหมักและอาหารสำเร็จรูปหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับโคนม. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, 134 หน้า.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์. 2562. แหล่งที่มา ([http://ict.dld.go.th/webnew/images/stories/stat\\_web/yearly/2562/T2-1-cattle.pdf](http://ict.dld.go.th/webnew/images/stories/stat_web/yearly/2562/T2-1-cattle.pdf), 7 เมษายน 2563.
- ศิริพร ทুমมณี ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ สมปอง สรวมศิริ และสกล ไข่คา. 2555. คุณค่าทางอาหารและการย่อยได้ของเปลือก-ซังข้าวโพดที่ปรับปรุงคุณภาพ. **การประชุมวิชาการทางสัตวศาสตร์แห่งชาติครั้งที่1 สัตวศาสตร์เป็นหนึ่งรวมใจมุ่งไป เอเชียัน** วันที่ 14-16 มีนาคม 2555 มหาวิทยาลัย ขอนแก่น จังหวัด ขอนแก่น 549-552.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถิติการเกษตรประเทศไทย. แหล่งที่มา [http://www.oae\\_report/production\\_result.php](http://www.oae_report/production_result.php), 15 กันยายน 2554
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร - ปาล์มน้ำมัน. แหล่งที่มา.

<http://www.oae.go.th/view/1/%E0%B8%AB%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B9%81%E0%B8%A3%E0%B8%81/TH-TH>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 18 สิงหาคม 2563

สันติ หมดหมั่น, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์, วันวิศาข์ งามผ่องใส และ เสาวนิต คูประเสริฐ. 2555. ผลของการหมักทางไบปาล์มน้ำมันร่วมกับกากน้ำตาลระดับต่างๆต่อปริมาณการกินได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโคชนะ ในโคพื้นเมือง. *KHON KAEN AGR. J.*40:79-92 .

สุรลักษณ์ รอดทอง, หนึ่ง เตียอำรุง และพงษฤทธิ์ ครบปริญญา. 2555. ความหลากหลายของสายพันธุ์แลคโตแบซิลัสในหญ้าหมักของไทย รายงานการวิจัย, นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สายัณฑ์ สืบผาง, ศุภชัย อุตชาชน, Makoto Otsuka และ กฤตพล สมมาตร. 2554. สมรรถนะโคพื้นเมืองไทยที่ได้รับหญ้าธัญพืชแห้งหรือฟางข้าวเป็นอาหารหลัก. *แก่นเกษตร*. 39: 43-47.

สายันต์ ทัดศรี. 2542. **ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไซเลจ**. กรุงเทพฯ: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุรลักษณ์ รอดทอง หนึ่ง เตียบำรุง และพงษฤทธิ์ ครบปริญญา. 2545. รายงานวิจัยความหลากหลายของสายพันธุ์แลคโตแบซิลัสในหญ้าหมักของไทย.นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สินีนามู พลโยราช และ เมธา วรรณพัฒน์. 2558. ศักยภาพในการใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรไบโอติกส์ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. *แก่นเกษตร*. 43 : 191-206.

อมรรัตน์ วันอังคาร กลุยาภัสร์ วุฒิจารี ภัทรภร ทศพงษ์ และวันดี ทาตระกูล.2555.คุณภาพของเนื้อโคพันธุ์ลูกผสมของไทยในตลาดค้าปลีก. **การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 10**, มหาวิทยาลัยนเรศวร, หน้า 268-274

อานุกาฬ เสี่ยงสาย ปรัชญา ปรัชญลักษณ์ วิโรจน์ วนาสิตชัยวัฒน์ และสุมน โพร็จจันทร์.2549. น้ำหนักเริ่มขุนที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและลักษณะซากของโคพื้นเมืองเพศผู้ในสภาพการเลี้ยงแบบขังคอก.รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ ประจำปี พ.ศ. 2549 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .กรุงเทพฯ.221-335.

อาคม สังขวรานนท์ .2541.ไขของหนองพยาธิที่พบในสัตว์เลี้ยง. **ปาราสิตวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 412 หน้า.

- โอภาส พิมพา, วุฒิชัย สีเผือก, โสภณ บุญล้ำ, บดี คาสีเขียว และ สาโรจน์ เรืองสุวรรณ. (2549). การผลิตทางใบปาล์มน้ำมันหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน (เอกสารรายงานวิจัย สกอ. ปี 2549)
- โอภาส พิมพา. 2561. การใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ของอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มเพื่อเป็นอาหารโคและแพะ. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษ หัวข้อ “การใช้ผลพลอยได้จากปาล์มน้ำมันเพื่อเป็นอาหารสัตว์” ในการประชุมสัมมนาการพัฒนาอาหารสัตว์ สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ ประจำปีงบประมาณ 2561 ระหว่างวันที่ 15-17 สิงหาคม 2561 7-11 น.
- A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis. 18th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemist.
- Abu Hassan, O. and M. Ishida. 1991. Effect of water, molasses and urea addition on oil palm frond silage quality-Fermentation characteristics and palatability to Kedah-Kelantan bulls. Proc. of the 3rd. Int. **Symp. on the Nutrition of Herbivores**. 25-30th August 1991, Penang, Malaysia.
- Abu Hassan, O., M. Ishida, I. Mohd. Shugri and Z. Ahmud Tajuddin. 2006. **Oil-palm fronds as a roughage feed source for ruminant in Malaysia**. Livestock research division. Malaysia Agriculture Reserch and Development Institute (MARDI). Kuala Lumpur. Malaysia.
- Abu Hassan, O., M. Ishida, S. Oshio and Z. Ahmud Tajuddin. 1995. Utilization of oil palm trunk and fronds as feed for ruminant. Proc. 1<sup>st</sup> **International Symposium on the Integration of Livestock and Oil palm Production**. 25 – 27 May 1995. Kuala Lumpur.
- Arriola, K.G., S.C. Kim and A.T. Adesogan. 2011. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. **J. Dairy. Sci.** 94: 1511-1516.
- Benjamin, M.M. 1978. **Outline of Veterinary Clinical Pathology**. 3rd ed. The Iowa State University Press, Iowa, USA. 345 p.
- Cai, Y. 1999. Identification and characterization of Enterococcus species isolated

- from Forage crops and their influence on silage fermentation. **J dairy Sci.**82: 2466-2471.
- Carvalho, B.F., Ávila, C.L.S.,Pinto, J.C., Neri,J. and Schwan,R.F. ( 2014) Microbiological and chemical profile of sugar cane silage fermentation inoculated with wild strains of lactic acid bacteria. **Animal Feed Science and Technology** 195 : 1–13
- Chaisalee,P Worasing,R Anun,P and Thongnoon,P 2007. Study on Hematological Values and Detection of Fascioliasis Infestation of Native Fighting Bulls. Thai-NIAH eJournal : ISSN 1905-5048, <http://www.dld.go.th/niah>, V2 N1 May – August 2007.
- Comino, L., E. Tabacco, F. Righi, A. Revello-Chion, A. Quarantelli, and G. Borreani. 2014. Effects of an inoculant containing a *Lactobacillus buchneri* that produces ferulate-esterase on fermentation products, aerobic stability, and fibre digestibility of maize silage harvested at different stages of maturity. **Anim. Feed Sci. Technol.** 198: 94–106.
- Dahlan, I., M. Islam and A. M. Rajjon. 2000. Nutrient intake and digestibility of fresh ensiled and pelleted oil palm (*Elaeis guineensis*) frond by goats. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 13:1407-1413.
- Ebrahimi,M., Rajjon,M.A., Goh, Y.M., Farjam,A.Q., Sazili, A.Q. and Schonewille, J.T.2014 .The Effects of Adding Lactic Acid Bacteria and Cellulase in Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Frond Silages on Fermentation Quality, Chemical Composition and in Vitro Digestibility. **Ital J Anim Sci.**13: 557 - 562.
- Guo, X. S., D. J. Undersander, and D. K. Combs. 2013. Effect of lactobacillus inoculants and forage drymatter on the fermentation and aerobic stability of ensiled mixed-crop tall fescue and meadow fescue. **J. DairySci.** 96: 1735-1744.
- Huber, J.T. 1997. Probiotics in cattle. In R. Fuller. Probiotics 2: Application and

- Practical Aspects (pp. 162-186). London, Chapman & Hall.
- Islam, M., I. Dahlan, M. A. Rajion and Z. A. Jelani. 2000. Productivity and nutritive values of different fractions of oil palm (*Elaeis guineensis*) frond. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13:1113-1120.
- Ishida, M. and O. Abu Hassan. 1997. Utilization of oil palm frond as cattle feed. *Japan Agric. Res. Quart.* 31:41-47.
- Jouany, J.P., F. Mathieu, J. Senaud, J. Bohatier, G. Bertin, and M. Mercier. 1999. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the population of rumen microbes and their polysaccharidase activities. *South African J. Anim. Sci.* 29: 63-64.
- Khamseekhiew, B., J. B. Liang, Z. A. Jelani and C. C. Wong. 2002. Fibre degradability of oil palm frond pellet, supplemented with *Arachis pintoi* in cattle. *Songklanakarini J. Sci. Technol.* 24:209-216.
- Oshio, S., O. Abu Hassan, A. Takigawa, D. M. Jafar, A. Abe, I. Dahlan and N. Nakanishi. 1990. **Processing and utilization of oil palm by-products for ruminants.** In MARDI/TARC Collaborative Study Report, pp. 110.
- Paengkoum, P. (2003). Development of dairy goat ration based on local feed resources. Ph. D. Thesis. University Putra Malaysia.
- Playne, M. J. 1972. *Australian Journal of Experimental Agriculture. Animal Husbandry.* 12:378.
- Queiroz, O. C. M., S. C. Kim, and A. T. Adesogan. 2012. Effect of treatment with a mixture of bacteria and fibrolytic enzyme on the quality and safety of corn silage infested with different levels of rust. *J. DairySci.* 95: 5285-5291.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. **Principles and Procedures of Statistics : a Biometrical Approach.** McGraw-Hill., New York.
- Schneider, B. H. and W. P. Flatt. 1975. **The Evaluation of Feeds through Digestibility Experiments.** Univ. Georgia Press, Georgia. U.S.A.

- Thienpont, D., Rochette, F. and Vanparijs, O.F.J. 1979. Worm eggs. In: Diagnosing Helminthiasis Through Coprological Examination. **Janssen Research Foundation**. Beers Belgium.52-53.
- Tong J, Zhang H, Yang D, Zhang Y, Xiong B, Jiang L .2018. Illumina sequencing analysis of the ruminal microbiota in high-yield and low-yield lactating dairy cows. PLoS ONE 13(11): e0198225. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198225>
- Van Keulen, J.and B.A. Young.1977. Evaluation of acid - insoluble ash as a natural marker in ruminants digestibility studies. **J.Anim.Sci**. 44:282-287.
- Warly, S.L., Evitayani. 2013. Palm Leaf Processing as Ruminant Feeds. **Pakistan Journal of Nutrition** 12 (3): 213-218.
- Woolford, M. K. 1984. The silage fermentation.New York Basel. Marcel Dekker.
- Yimin, C.V., M. Ogawa and S. Kumai. 1999. Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Isolated from Forage Crops on Fermentation Characteristics and Aerobic Deterioration of Silage. **J. Dairy Science**. 82: 520–526
- Wanrosli, W. P., Z. Zainuddin and L. K. Lee. 2004. Influence of pulping variables on the properties of *Elaeis guineensis* soda pulp as evaluated by response surface methodology. **Wood Sci. and Technol**. 38:191-2005.
- Wattanachant, C. 2010. **Present roughage status in the lower southern provinces of Thailand**. In : **Proceeding of the 31<sup>st</sup> Annual Conference of Malaysian society of animal production**, Kota Bharu, Kelantan 6-8 June 2010.
- Zahari, M.W., Hssan, A.O., Wong, H.K and Liang,J.B.(2003). Utilization of oil palm Fround - Based Diets for Beef and Dairy Production in Malaysia. **J.Anim.sci**.4:625 - 634.

# ภาคผนวก



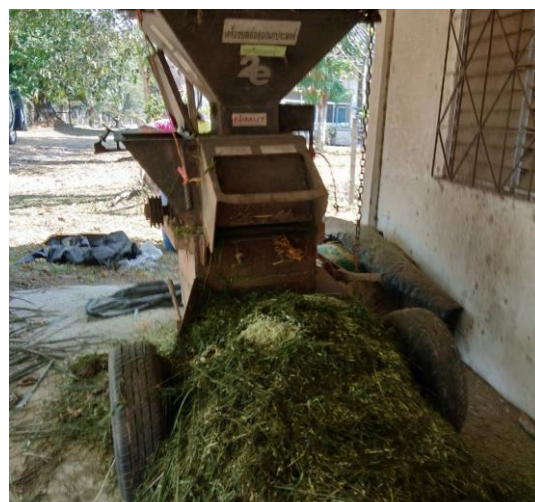
ภาพผนวกที่ 1 แปลงปาล์มน้ำมัน สาขา  
พืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 2 ทางปาล์มที่ตัดแล้วพร้อม  
นำไปห็นสำหรับการปัก



ภาพผนวกที่ 3 เครื่องสับย่อยเนกประสงค์  
ยี่ห้อนิมุต (Nimut)



ภาพผนวกที่ 4 ทางและใบปาล์มที่ผ่านการหั่นด้วยเครื่อง  
สับย่อยเนกประสงค์ยี่ห้อนิมุต (Nimut)



ภาพผนวกที่ 5 หัวเชื้อ *L.plantarum* เลี้ยงในอาหาร MRS



ภาพผนวกที่ 6 ยีสต์แห้งสำเร็จสำหรับผสมหัวเชื้อในการหมัก



ภาพผนวกที่ 7 การผสมหัวเชื้อคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนการหมัก



ภาพผนวกที่ 8 การหมักใบและทางปาล์มในถัง 200 ลิตร



ภาพผนวกที่ 9 การผสมหัวเชื้อ ยีสต์ กากน้ำตาล  
ผสมกัน เพื่อใช้สำหรับหมักใบปาล์ม



ภาพผนวกที่ 10 ใบและทางหมักในถัง 200 ลิตร  
เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษา



ภาพผนวกที่ 11 สีของใบปาล์มหมัก ระยะเวลาหมัก  
30 วัน



ภาพผนวกที่ 12 การวิเคราะห์สีของใบปาล์มหมัก  
ด้วยเครื่อง Mini Scan EZ



ภาพผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่างใบและ  
ทางปาล์มหมัก



ภาพผนวกที่ 14 ตัวอย่างใบและทางปาล์มหมักหลังการอบ



ภาพผนวกที่ 15 การตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-  
ด่างของใบปาล์มหมักเริ่มต้น



ภาพผนวกที่ 16 เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย (Fiber)



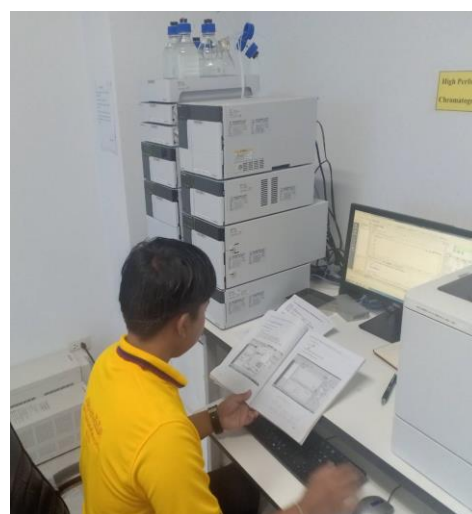
ภาพผนวกที่ 17 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน



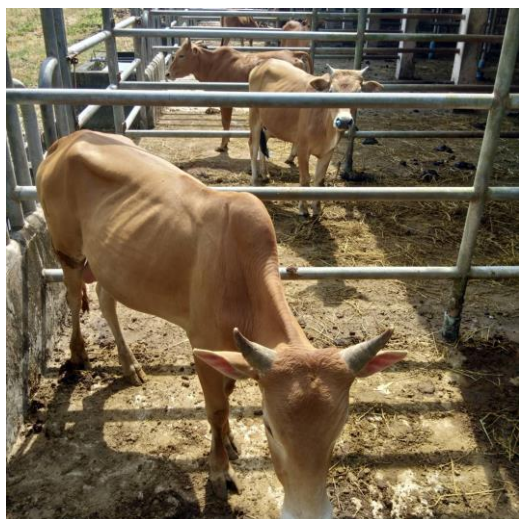
ภาพผนวกที่ 18 เครื่องวิเคราะห์โปรตีน



ภาพผนวกที่ 19 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography สำหรับวิเคราะห์กรดอินทรีย์



ภาพผนวกที่ 20 การตรวจหากรดในตัวอย่างใบและ ทางปาล์มหมัก ด้วยเครื่อง (HPLC)



ภาพผนวกที่ 21 โคพื้นเมืองใช้ในการทดลอง



ภาพผนวกที่ 22 โคพื้นเมืองที่ทดลองกินใบ  
ปาล์มหมัก



ภาพผนวกที่ 23 โคพื้นเมืองหน่วยการ  
ทดลองให้กินใบปาล์มหมัก ร้อยละ 30



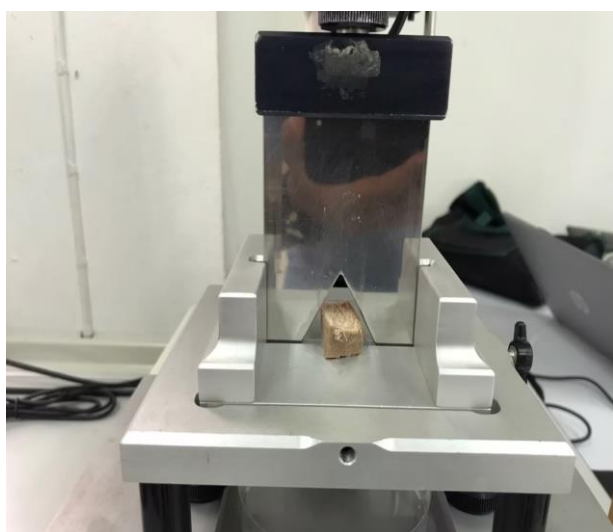
ภาพผนวกที่ 24 โคพื้นเมืองหน่วยการ  
ทดลองให้กินใบปาล์มหมัก ร้อยละ 20



ภาพผนวกที่ 25 การนำเนื้อใส่อ่างควบคุมอุณหภูมิ สำหรับทดสอบ cooking loss



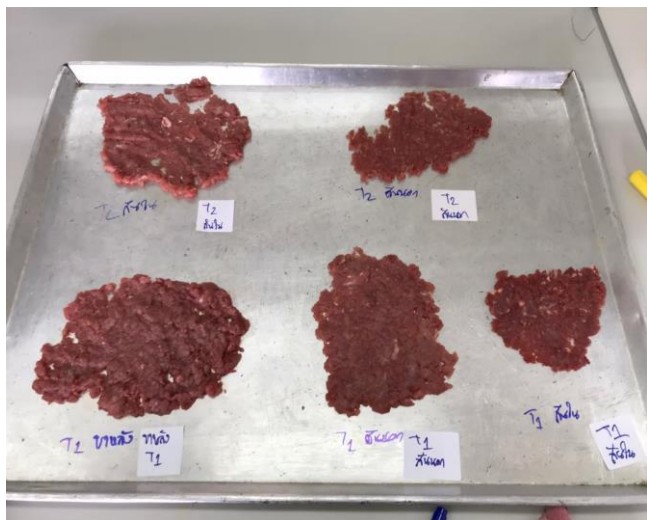
ภาพผนวกที่ 26 เครื่องวัดอุณหภูมิสำหรับทดสอบ cooking loss



ภาพผนวกที่ 27 การวัดแรงตัดผ่านเนื้อด้วย เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)



ภาพผนวกที่ 28 ขั้นตอนการวางชิ้นเนื้อเพื่อวัดแรงตัดผ่านเนื้อด้วยเครื่อง Texture analyzer



ภาพผนวกที่ 29 การเตรียมตัวอย่างเนื้อบั้งเพื่อ  
ใช้วิเคราะห์โปรตีน



ภาพผนวกที่ 30 ขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีนในเนื้อ



ภาพผนวกที่ 31 ขั้นตอนการชั่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์



ภาพผนวกที่ 32 การวิเคราะห์ไขมันในเนื้อ



ภาพผนวกที่ 33 ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน มีระดับคะแนนการแทรกไขมันในเนื้อระดับ 1 (MBS , 1: น้อยที่สุด 5 : สูงสุด)



ภาพผนวกที่ 34 ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าว ร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



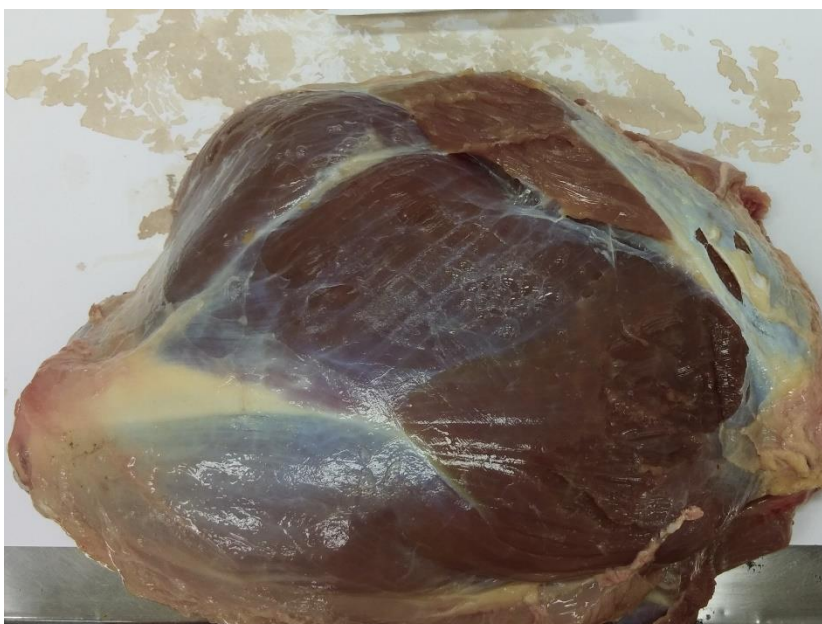
ภาพผนวกที่ 35 ลักษณะกล้ามเนื้อสันในโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 36 ลักษณะกล้ามเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 37 ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟาง  
ข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 38 ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟาง  
ข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 39 ลักษณะกล้ามเนื้อสันในแช่แข็งโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 40 ลักษณะกล้ามเนื้อสะโพกแช่แข็งโคพื้นเมืองที่เลี้ยงด้วยใบปาล์มหมักร้อยละ 30 ผสมกับฟางข้าวร้อยละ 70 ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน



ภาพผนวกที่ 41 การจัดอบรมการผลิตใบและทางปาล์มหมัก ให้กับเกษตรกรเลี้ยงโคและแพะ



# Proceeding Book

# RMUTCON

11<sup>th</sup> Rajamangala University of Technology National Conference  
10<sup>th</sup> Rajamangala University of Technology International Conference

## การประชุม วิชาการ ระดับชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล

“ วิถีราชมงคล  
ขับเคลื่อนนวัตกรรม  
เพื่อสร้างสรรค์  
เศรษฐกิจและสังคม ”

# ครั้งที่ 11 ประจำปี 2562

ภาคบรรยาย/ภาคโปสเตอร์

Session 2 :

เกษตรศาสตร์

วันที่ 24 - 26 กรกฎาคม 2562

ณ ศูนย์ประชุมและแสดงสินค้านานาชาติ  
เฉลิมพระเกียรติ 7 รอบพระชนมพรรษา เชียงใหม่



## สารบัญ

### ภาคบรรยาย

#### Session 2 : เกษตรศาสตร์

| รหัส | ชื่อเรื่อง   | ผู้นำเสนอ/หน่วยงาน   | หน้าที่ |
|------|--|--|---------|
| 30   | อิทธิพลของหัวเชื้อผสมต่อสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของทางปาล์มหมัก   | ณรงค์ชัย ชูพูล<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรี<br>วิชัย    | 1       |
| 235  | ผลของขนาดอนุภาคและวิธีการเคลือบต่อการยึดติดของผงปรุงรส ในผลิตภัณฑ์มะคาเคเมีย และเมล็ดบัวปรุงรส   | ธิดารัตน์ ผาระนันต์<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล<br>ล้านนา | 15      |
| 352  | การศึกษาสารหอมระเหยในชาอู่หลงของโครงการหลวงกับชาอู่หลงทางการค้าที่เป็นที่นิยม<br>Study on Volatile Aroma Compounds in Royal Project Oolong Tea and Popular Brand Commercial Oolong Tea | เอมอร ไชยโรจน์<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล<br>ล้านนา      | 34      |
| 484  | การศึกษาการผลิตต้นกล้าอ่อนจากเมล็ดถั่วลิสงบกพร่องที่ไม่ผ่านมาตรฐาน มกษ. 4702-2557 เพื่อพัฒนาเป็นวัตถุดิบสำหรับอาหารสัตว์   | โยธกา มีฤทธิ์<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล<br>ล้านนา       | 44      |
| 580  | การเจริญและการผลิตสารคอร์ไดเซปินจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง Cordyceps militaris   | วิชุดา กล้าเวช<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน           | 53      |
| 637  | การประยุกต์ใช้ถ่านชีวภาพเป็นสารปรับปรุงดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตของพืชเศรษฐกิจ  | สุดารัตน์ บุชาเลิศวิญญู<br>มหาวิทยาลัยพะเยา                  | 60      |
| 837  | ผลของความเข้มข้นวุ้นในลูกบอลอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของวุ้นนางคัมในชุดไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว  | ศศิกานต์ แซ่ก๊อ<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล<br>ล้านนา     | 68      |



## อิทธิพลของหัวเชื้อผสมต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยาของทางปาล์มหมัก

### Effects of Mixed Culture Inoculants on the Physicochemical and Microbiological Characteristics of Oil Palm Fronds

ณรงค์ชัย ชูพูล<sup>1</sup> สิริณาด ศรีอ่อนนวน<sup>1</sup> น้อมจิตต์ แก้วไทย อันเดร<sup>1</sup> ธีระพงศ์ หมวดศรี<sup>1</sup> กฤตยา หนูสาย<sup>2</sup> และ  
ชำนาญ รัตนมณี<sup>\*1</sup>

Narongchai Chupoon<sup>1</sup>, Sirinat Srionnua<sup>1</sup> Nomchit Kaewthai Andrei<sup>1</sup> Teerapong Muadsri<sup>1</sup> Krittaya Nusai<sup>2</sup> and  
Chamnarn Rattanamancee<sup>1</sup>

#### บทคัดย่อ

ทางปาล์มเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการปลูกปาล์มน้ำมันของภาคใต้ประเทศไทย ซึ่งมีปริมาณมาก มีศักยภาพสำหรับการใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง จุดประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของการเติมและไม่เติมหัวเชื้อเริ่มต้นแบบผสมต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและทางจุลชีววิทยาของทางปาล์มหมัก มีการใช้หัวเชื้อผสม *Lactobacillus plantarum* และ *Saccharomyces cerevisiae* ในสัดส่วนส่วน 1:1 เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักทางปาล์ม ศึกษาอัตราหัวเชื้อเริ่มต้นจำนวน 5 อัตรา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หน่วยทดลองควบคุมใช้น้ำกลั่น มีอัตราการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ทำการตัดทางปาล์มแล้วนำมาหั่นให้มีขนาดความยาวประมาณ 2- 3 ซม. จากนั้นบรรจุลงถังพลาสติกขนาดใหญ่ เติมหัวเชื้อผสมในปริมาณต่างๆ หมักในสภาพไร้อากาศเป็นเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างไปปาล์มหมักที่วันแรก ระยะเวลาการหมัก 30 วัน เพื่อการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนรวม ไขมันรวม เชื้อใยรวม วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ วัดระดับความเป็นกรด - ด่าง ค่าสีฮันเตอร์ แลปส์เกต ตรวจวิเคราะห์จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ ผลการทดลองพบว่า การเติมเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 ทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรดและด่าง และปริมาณโปรตีนมากกว่าหน่วยทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) มีโปรตีนรวมสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ  $13.73 \pm 0.120$  สำหรับการศึกษาอายุการเก็บรักษาทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ไปปาล์มหมักที่เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีสีน้ำตาลอมเหลืองมีกลิ่นที่ดี มีค่าสีฮันเตอร์แลป L\*, a\* และค่า b\* เท่ากับ  $29.57 \pm 0.120$ ,  $4.29 \pm 0.096$  และ  $12.36 \pm 0.672$  ตามลำดับ ทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ด่าง และปริมาณกรดแลคติกที่สูงกว่าหน่วยทดลองควบคุมซึ่งช่วยในการถนอมอาหารสัตว์ นอกจากนี้พบว่า ทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีจำนวน แลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าหน่วยทดลองควบคุม จากการศึกษาสรุปได้ว่าการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมสามารถช่วยเพิ่มปริมาณ โภชนะและยืดอายุการเก็บรักษา ทราบถึงแนวการใช้เชื้อผสมในการผลิตทางปาล์มหมักเป็นแนวทางเลือกใหม่สำหรับการเกษตรแบบอัจฉริยะในอนาคต

คำสำคัญ : หัวเชื้อเริ่มต้นผสม, การหมัก, ทางปาล์ม, แลคติกแอซิดแบคทีเรีย, ยีสต์



## ABSTRACT

Oil palm frond is the one by products from oil palm plantation in the South of Thailand. It may have potential as feedstuff for ruminants. The objective of this study was study on effects of mixed culture inoculants on the physicochemical and microbiological characteristics of oil palm fronds. Mixed cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* at 1:1 ratio were used as starter culture for fermenting of oil palm frond (OPF). The five inoculation rate treatments group with 3 replicates were conducted. The control treatment was ensiled by distilled water, the four other group were inoculated into OPF at rate of 0.5 % , 1.0 %, 1.5% and 2.0% w/w. Harvested date-palm leaves were cut into lengths of about 2-3 cm, then OPF ensiled with different concentration of inoculants and packed into plastic tank under anaerobic fermentation for 30 days. Samples were taken for the determination of the crude protein (CP), crude fiber (CF), crude fat (CF), organic acids, for the evaluation of the populations of lactic acid bacteria, yeasts, and for the determination of pH values and hunterlab colour scale during ensilage and after 30 days of fermentation. It was evidently exhibited that the OPF inoculated with 1% of mixed culture inoculants (MMI) and 2% MMI had lower ( $P < 0.05$ ) pH and higher ( $P < 0.05$ ) protein content than the control. The maximum crude protein content of  $13.49 \pm 0.156$  % was obtained. Shelf life of OPF with and without the 1% MMI rate under fields condition of storage for 3 month were investigated. The resulting of OPF was brown green in color with pleasant odour was detected. The Hunter  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  value were  $29.57 \pm 0.120$ ,  $4.29 \pm 0.096$  and  $12.36 \pm 0.672$  respectively. The OPF were better preserved than the control, with lower pH values and higher contents of lactic acid concentration. The addition of OPF fermented had higher total lactic acid bacteria than control. It can be concluded that the utilization of MMI as a starter culture could effectively increase nutritional value and shelf – life of fermented OPF. The findings indicated that the MMI was feasible for alternative starter for OPFS production for smart farming in the future.

**Keywords:** mixed culture inoculant, fermentation, oil palm frond, lactic acid bacteria, yeast

<sup>1</sup> สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตำบลทุ่งใหญ่ อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240

<sup>1</sup> Department of Biotechnology Faculty of Agro - Industry, University of Technology Srivijaya, Thung Yai Sub-district, Thung Yai District, Nakorn Si Thammarate Province 80240, Thailand

<sup>2</sup> สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตำบลถ้ำใหญ่ อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

<sup>2</sup> Department of Science Faculty of Science and Technology , University of Technology Srivijaya , Thung Song Sub-district, District, Nakorn Si Thammarate Province 80110, Thailand

ผู้พิมพ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail) : maibabyplant31@gmail.com

## บทนำ

สถิติการปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย พ.ศ. 2560 ประมาณ 5.3 ล้านไร่ มีผลผลิตปาล์มน้ำมันประมาณ 13.5 ล้านตัน คิดเป็นเป็นสัดส่วนผลผลิตน้ำมันปาล์มทั่วโลกเพียงร้อยละ 3 จึงไม่มีศักยภาพในการกำหนดราคาจำหน่ายได้ส่งผลทำให้ราคาผลปาล์มสดมีราคาตกต่ำ ราคาปาล์มทะเลายังคงอยู่ระดับต่ำเฉลี่ย 2.30 – 2.50 บาทต่อกิโลกรัม เกษตรกรปลูกปาล์มประสบปัญหาขาดทุน (เชษฐชุตตา, 2561) แนวทางการแก้ปัญหาควรนำผลพลอยได้จากปาล์มน้ำมันมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า ซึ่งใบและทางปาล์มนับว่าเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉพาะอย่างยิ่งโคพื้นเมือง สามารถตอบสนองแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารหยาบสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ได้อย่างยั่งยืน ด้วยการเลี้ยงโคจำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการปลูกหญ้าอาหารสัตว์ประกอบด้วยพื้นที่สาธารณะสำหรับใช้เป็นแหล่งอาหารสัตว์ลดลง การเลี้ยงโคเนื้อในภาคใต้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง ได้แก่ ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส ขณะที่ปริมาณพืชอาหารสัตว์ มีปริมาณลดลงและไม่พอเพียง กับความต้องการของสัตว์เคี้ยวเอื้องในพื้นที่ (Wattanachant, 2010) ทำให้เกิดปัญหาโคเนื้อที่มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ดังนั้น การแสวงหาอาหารหยาบเพื่อทดแทนหญ้าพืชอาหารสัตว์จึงมีความจำเป็นสำหรับการเลี้ยงโคเนื้อในพื้นที่ภาคใต้ อาหารหยาบทดแทนที่สำคัญ คือ ทางใบปาล์มน้ำมัน ซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตปาล์มน้ำมันมีคุณค่าทางโภชนาการที่สามารถนำมาใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ เกษตรกรชาวมาเลเซียได้มีการนำทางปาล์มหมักมาเลี้ยงสัตว์อย่างแพร่หลาย ( Ebrahimi et al., 2014) นัฐฐา (2552) ได้รายงานผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของทางใบปาล์มน้ำมัน พบว่าประกอบด้วยอินทรีย์วัตถุ (organic matter) ร้อยละ 89.2 โปรตีนรวม (crude protein) ร้อยละ 7.86 เส้นใยรวม (crude fiber) ร้อยละ 43.33 Carvalho, et.al. (2014) ได้มีการศึกษาการใช้การทำต้นอ้อยหมัก (sugar cane silage) ด้วยการใส่เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า *Lactobacillus plantarum* เป็นหัวเชื้อในการหมักมีผลทำให้มีการสร้างกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ มากที่สุด และมีผลทำให้ยีสต์มีการเจริญสูงสุดมีจำนวนเซลล์ 5.7 log cfu/g silage

แต่การนำทางปาล์มสดมาใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยตรงมีข้อจำกัดด้านประสิทธิภาพในการย่อยได้ต่ำ และไม่สามารถเก็บรักษาได้นาน ดังนั้นจำเป็นต้องปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ หรือเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการก่อน เช่น สับให้มีขนาดเล็กแล้วนำทางใบปาล์มน้ำมันไปหมักในรูปไซเลจ การหมักทางใบปาล์มน้ำมันร่วมกับยูเรีย หรือร่วมกับกากน้ำตาล หรือนำทางใบปาล์มน้ำมันไปผสมร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์อื่นๆ หรือผสมกับอาหารข้นในรูปอาหารผสมสำเร็จ (total mixed ration; TMR) กระบวนการทำหญ้าหมักโดยทั่วไป คือ การใช้วิธีการหมักตามธรรมชาติ การหมักด้วยวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้น สำหรับหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีการจำหน่ายมีหลากหลายผลิตภัณฑ์ เช่น หัวเชื้อหญ้าหมัก KUB-G หัวเชื้อSYNFERM<sup>TM</sup> Silage ของประเทศไต้หวัน BioAH Enhance<sup>TM</sup> Microbial Silage Inoculant USA ผลิตภัณฑ์หมักหัวเชื้อของประเทศออสเตรเลีย นอกจากนี้ มีการใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผสมในอาหารข้นสำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ผลิตภัณฑ์ LEVUCCELL SC ของ



ประเทศแคนาดา ดังนั้น เพื่อให้ไบและทางปาล์มหมักมีคุณสมบัติเป็นอาหารหยาดที่ดีด้านคุณค่าทางโภชนะสำหรับการเลี้ยงโคพื้นเมือง จึงมีการศึกษาอิทธิพลการใช้หัวเชื้อผสมที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียทำให้ไบและทางปาล์มมีอายุการเก็บรักษาที่นานเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์ มีคุณสมบัติความน่ากินและมีความสามารถในการย่อยได้ ( Palatable and highly digestible ) และการศึกษาอายุการเก็บรักษาทางปาล์มหมักเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. อิทธิพลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักไบและทางปาล์มหมักที่มีผลต่อคุณภาพทางโภชนะ

1.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีการใช้ *Lactobacillus plantarum* 543 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ทำการขยายปริมาณหัวเชื้อด้วยการเลี้ยงเชื้อ *L.plantarum* ในอาหารเหลว MRS ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทำการบ่มเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยวิธีการตกตะกอน และทำแห้งแบบพรีชดรายเก็บตัวอย่างหัวเชื้อในตู้เย็น สำหรับการใช้ทดลองต่อไป

1.2 เซลล์ยีสต์ ในการทดลองครั้งนี้มีการใช้ยีสต์ *Sacharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ผงที่มีความว่องไว (Active Dry Yeats) ยี่ห้อ Saf-Instant ประเทศตุรกี

1.3 การเตรียมสายละลายหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์สำหรับการทดลองเปรียบเทียบปริมาณหัวเชื้อผสมที่ใช้ ร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 w/w ด้วยการเติมหัวเชื้อพรีชดราย *L.plantarum* และเซลล์ยีสต์อย่างละสัดส่วนเท่ากัน ละลายลงในสารละลายกากน้ำตาลที่มีปริมาณกากน้ำตาล 8° Brix สำหรับใช้ผสมกับไบและทางปาล์มหมักเพื่อการปรับความชื้นให้ทางปาล์มหมักมีความชื้นในช่วงร้อยละ 65 - 68

1.4 เตรียมไบและทางปาล์มสำหรับการหมัก โดยทางปาล์มน้ำมันจากแปลงปาล์มของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย พื้นที่ทุ่งใหญ่ จ. นครศรีธรรมราช นำทางและไบปาล์มที่ได้จากการตัดแต่งทางปาล์มในช่วงการตัดทะลายปาล์ม มาสับด้วยเครื่องหัน (Nimut รุ่น 2E ประเทศไทย) ให้มีขนาดความยาว 3 -4 เซนติเมตร

1.5 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นผสมแบคทีเรียกรดแลคติกกับยีสต์ในการหมักและทางปาล์มระดับห้องปฏิบัติการ ปริมาตรร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ด้วยการบรรจุทางและไบปาล์มลงในขวดคูแรน ขนาด 5 ลิตร จำนวนทั้งสิ้น 30 ไบ โดยทำการใส่ปริมาณหัวเชื้อผสมในแต่ละหน่วยการทดลอง จำนวน 6 ไบ สำหรับชุดควบคุมมีการเติมน้ำกลั่นร้อยละ 2 เมื่อทำการเติมหัวเชื้อแล้วทำการผสมให้เข้ากันอัดให้แน่น หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยา ในวันแรกของการหมักและเมื่อทำการบ่มครบ 30 วัน ด้วยการเก็บตัวอย่างของแต่ละหน่วยการทดลองเพื่อการวัดระดับความเป็นกรด -ด่าง ค่าสี ลักษณะทางกายภาพ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ - 40 องศาเซลเซียส เพื่อบรรจุวิเคราะห์ทางเคมีและจุลชีววิทยาต่อไป

## 1.6 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของใบและทางปาล์มหมัก

1.6.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ของใบและทางปาล์มหมัก ซึ่งมีการดูลักษณะปรากฏ สี การดมกลิ่น การวัดระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยการใช้เครื่องวัดระดับความเป็นกรด - ด่าง ยี่ห้อ Metler - Toledo รุ่น Seven Compact<sup>TM</sup> pH/Ion S220 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ วัดสีของใบปาล์ม ด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab รุ่น Mini Scan EZ 4500L ประเทศสหรัฐอเมริกา L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความสว่าง (lightness) จากค่า +L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าสีขาว จนถึง -L<sup>\*</sup> หมายถึงค่าสีเทา a<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง จากค่า -a<sup>\*</sup> ไปยังค่าสีแดง +a<sup>\*</sup> ค่า b<sup>\*</sup> หมายถึงค่าความเป็นสีฟ้าและสีเหลือง -b<sup>\*</sup> คือค่าสีฟ้า ไปยังค่าสีเหลืองคือ +b<sup>\*</sup>

1.6.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (Crude Protein) โดยวิธีของ Kjeldahl ตามวิธีการของ AOAC (1990) คำนวณปริมาณโปรตีน ด้วยการนำค่าปริมาณไนโตรเจนคูณด้วยกับค่าแฟคเตอร์ คือ 6.25 (N x 6.25) การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วยการใช้วิธีการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามวิธีการของ Soxhlet 2050 ; Foss Analytical, Hillered, Denmark การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash) ด้วยวิธีการนำตัวอย่างไปเผาในตู้เผาหาปริมาณเถ้า ควบคุมอุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันใช้วิธีการสกัดด้วยโซลเวนต์ (Solvent Extraction Method)

1.6.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรด ด้วยการใช้เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LC-30AD Nexera X2 ประเทศญี่ปุ่น ประกอบด้วยเครื่องไล่ฟองแก๊ส รุ่น DGU-20A3 On-line ใช้ปั๊มรุ่น LC-30AD Pump ใช้ดีเทคเตอร์แบบ UV เป็นตัวตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร คอลัมน์แบบ Titan<sup>TM</sup> C18 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.1 มิลลิเมตร ความยาว 100 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Sigma Aldrich รุ่น Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา มีการใช้สารละลายเคลื่อนที่เป็นน้ำปราศจากไอออน ปรับระดับความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 4.2 ด้วย KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ควบคุมอัตราการไหลที่อัตรา 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดแลคติก (Lactic acid) กรดบิวทิริก (Butyric acid) เกรดมาตรฐานวิเคราะห์ มีการเตรียมสารละลายมาตรฐานอินทรีย์ตามวิธีการของ Cai (1999)

1.6.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา มีการเตรียมวิเคราะห์จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable lactic acid bacteria) ของใบและทางปาล์มหมัก ด้วยการใช้เทคนิคการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ (pour plate technique) ด้วยอาหารแข็ง MRS Rogosa agar ยี่ห้อ Merck ประเทศสาธารณรัฐเยอรมัน ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม (CFU/g) สำหรับการตรวจนับจำนวนเซลล์ยีสต์ มีการใช้แบบวิเคราะห์หาจำนวนยีสต์ด้วยการเพาะเลี้ยงบนแผ่นฟิล์มอาหารสำเร็จรูปยี่ห้อ Petrifilm<sup>TM</sup> ประเทศสหรัฐอเมริกา บ่มจานเพาะเชื้อที่ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำค่าจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่างใบและทางปาล์มหมัก 1 กรัม (CFU/g) ที่นำไปพล็อตกราฟด้วยค่า Log<sub>10</sub> ของ CFU/g

1.6.5 แผนการทดลอง การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) มีการเปรียบเทียบปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบหน่วยการทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test พิจารณาคัดเลือกใช้ปริมาณการใช้หัวเชื้อ



เริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ ที่มีผลทำให้ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณ โปรตีนที่สูง มีลักษณะทางกายภาพ มีกลิ่นรสที่ดี และพิจารณาค่าเนื้ถึงต้นทุนการผลิตหัวเชื้อ

1.6.6 การศึกษาอายุการเก็บรักษาทางปาล์มหมัก โดยทำการเลือกใช้ปริมาณหัวเชื้อผสมที่เหมาะสม จำนวน 1 อัตรา ในการผลิตกรดแลคติก การลดลงของระดับความเป็นกรด -ต่าง สี กลิ่น คุณค่าทางโภชนะและต้นทุนการค่าผลิตหัวเชื้อผสม โดยทำการทดลองในถังหมักขนาด 200 ลิตร เปรียบเทียบกับการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ทำการหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์ทุกๆ 1 เดือน ทำการทดลองและวิเคราะห์เหมือนกับข้อ 1.5.1 – 1.5.4

**ผลและวิจารณ์ผล**

**1. อิทธิพลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นผสมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักใบและทางปาล์มหมักที่มีผลต่อคุณภาพทางโภชนะ**

**1.1 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ**

ผลการศึกษาลักษณะปรากฏของใบและทางปาล์มหมักที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 มีกลิ่นหอม มากกว่าในทางปาล์มหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมและไม่เติมหัวเชื้อผสมไม่มีกลิ่นเปรี้ยว สีของใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 มีสีเหลืองอมเขียว มีค่าความเป็นสีเหลือง (b\*) สูงสุดเฉลี่ย 18.61±0.655 มีค่าความสว่าง (L\*) สูงสุดเฉลี่ย 36.25±0.649 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05) นอกจากนั้นพบว่าใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 มีค่าความเป็นสีเหลืองสูงสุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.98±0.262 ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1 Snell et.al (2003) ได้รายงานค่าความเป็นสีเหลืองเป็นค่าบ่งบอกถึงคุณภาพการหมักของหญ้าหมัก สำหรับผลการวัดค่าสีจากการทดลองครั้งนี้มีค่าการวัดสีที่ใกล้เคียงกับการทดลองของ Toruk and Gonulol (2011)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ค่าสีของใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 หมักในสภาวะไร้อากาศและบ่มระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

| ปริมาณการเติมหัวเชื้อผสม | ค่าสี สันเตอร์แลป         |                         |                          |
|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                          | L*                        | a*                      | b*                       |
| หน่วยการทดลองควบคุม      | 34.73±2.669 <sup>ab</sup> | 3.83±0.221 <sup>c</sup> | 16.31±1.464 <sup>b</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5    | 33.4±0.602 <sup>b</sup>   | 4.34±0.207 <sup>b</sup> | 16.72±0.209 <sup>b</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0    | 30.25±0.225 <sup>c</sup>  | 3.5±0.117 <sup>c</sup>  | 11.92±0.410 <sup>d</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5    | 36.25±0.649 <sup>a</sup>  | 4.98±0.262 <sup>a</sup> | 18.61±0.655 <sup>a</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0    | 30.07±0.315 <sup>c</sup>  | 4.44±0.210 <sup>b</sup> | 14.84±0.481 <sup>c</sup> |



ภาพที่ 1 ทางปาล์มหมักด้วยหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เมื่อทำการหมักสภาวะไร้อากาศ ระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

## 1.2 ผลการวัดระดับความเป็นกรด - ด่าง

ผลการตรวจวัดระดับความเป็นกรด - ด่าง ของใบและทางปาล์มหมักเมื่อมีการหมัก 30 วัน พบว่า ทางปาล์มหมักการเติมเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีผลทำให้ระดับความเป็นกรด-ด่างลดลงมากที่สุด มีค่าระดับความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 4.13 ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกับการทดลองที่มีการใช้หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 1.5 และ ร้อยละ 2.0 และมีใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของ Ebrahimi et al. (2014) ซึ่งมีการทดลองเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์เซลลูเลสในการหมักทางปาล์ม ทำการหมักเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการหมัก ทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ด่าง เฉลี่ย 4.09 สำหรับการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมใบและทางปาล์มมีระดับความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 5.69 ในช่วงเริ่มต้นการหมัก และหลังจากการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน มีระดับความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 4.55 สำหรับการเติมเชื้อผสมร้อยละ 2 ใบและทางปาล์มหมักมีระดับความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 4.34 ซึ่งระดับความเป็นกรด - ด่าง เริ่มต้นมีค่า เท่ากับ 5.52



ตารางที่ 2 ระดับความเป็นกรด-ด่าง ของใบและทางปาล์มหมักมีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 ในสภาวะไร้อากาศระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

| ปริมาณการเติมหัวเชื้อผสม ( ร้อยละ ) | ระดับความเป็นกรด-ด่าง   |                         |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                     | วันแรกของการหมัก        | ระยะเวลาหมัก 30 วัน     |
| หน่วยการทดลองควบคุม                 | 5.69±0.010 <sup>b</sup> | 4.55±0.006 <sup>a</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5               | 5.33±0.017 <sup>c</sup> | 4.28±0.006 <sup>d</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0               | 5.74±0.015 <sup>a</sup> | 4.13±0.006 <sup>c</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5               | 5.50±0.015 <sup>d</sup> | 4.49±0.006 <sup>b</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0               | 5.52±0.012 <sup>c</sup> | 4.34±0.006 <sup>c</sup> |

### 1.3 ผลการวิเคราะห์ทางโภชนา

#### 1.3.1 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน

เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมแลคติกแอซิกแบคทีเรียและยีสต์ ปริมาณร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 ทำให้ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณ โปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้น ร้อยละ 4.93 และร้อยละ 5.76 จากวันเริ่มต้นในการหมัก ซึ่งการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 ใบและทางปาล์มหมักมี ปริมาณ โปรตีนร้อยละ 7.73±0.362 และเมื่อสิ้นสุดการหมักมีปริมาณ โปรตีน ร้อยละ 13.49±0.156 เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองที่ไม่มีการเติมเชื้อผสมมีปริมาณ โปรตีน ร้อยละ 8.05±0.085 เมื่อสิ้นสุดการหมักซึ่งหน่วยการทดลอง ที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตาม พบว่า อิทธิพลการเติม เชื้อผสมที่ปริมาณร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.5 และหน่วยการทดลองควบคุม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( P < 0.05 ) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณ โปรตีน (ร้อยละ) ของใบและทางปาล์มที่หมักด้วยเชื้อผสมร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ใน สภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

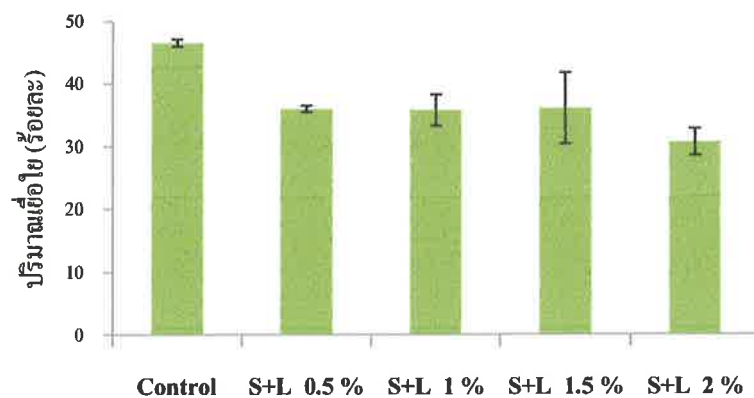
| ปริมาณหัวเชื้อผสม     | ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)   |                          |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
|                       | วันแรกของการหมัก        | ระยะเวลาหมัก 30 วัน      |
| หน่วยการทดลองควบคุม   | 6.63±0.085 <sup>d</sup> | 8.05±0.085 <sup>d</sup>  |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 | 9.68±0.219 <sup>a</sup> | 12.40±0.042 <sup>c</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 | 8.77±0.156 <sup>b</sup> | 13.73±0.120 <sup>a</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 1.5 | 7.33±0.007 <sup>c</sup> | 13.01±0.219 <sup>b</sup> |
| หัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 | 7.73±0.362 <sup>c</sup> | 13.49±0.156 <sup>a</sup> |

สำหรับการหมักทางและใบปาล์มด้วยหัวเชื้อผสม *L. plantarum* และ *S. cerevisiae* ร้อยละ 2.0 มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนสูงกว่า การใช้หัวเชื้อผสม ร้อยละ 0.5 และหน่วยการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม การเพิ่มของโปรตีนในระหว่างการหมัก เกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปคือยีสต์และแบคทีเรีย รวมทั้งจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่อยู่ในกระบวนการหมัก Bzducha-Wrobel, et al. (2014) ได้รายงานเซลล์ยีสต์มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 45 - 55 และสอดคล้องกับการการศึกษาการเติมเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์เซลลูเลสในการหมักใบและทางปาล์ม ซึ่งพบว่าใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5.1 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 4.46 (Ebrahimi et al., 2014)

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิตหัวเชื้อเริ่มต้นผสม ผลการคำนวณหัวเชื้อผสมมีค่าใช้จ่ายในการผลิตกิโลกรัมละ 5,000 บาท ด้วยการเติมปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณมากมีผลทำให้มีค่าใช้จ่ายที่สูง ดังนั้นในการศึกษาขั้นตอนต่อไป จึงมีการเลือกใช้การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 ในการหมักใบและทางปาล์มหมัก

### 1.3.2 ผลการศึกษาปริมาณเชื้อไข

ผลการทดลองพบว่า การเติมหัวเชื้อผสมปริมาณร้อยละ 2.0 มีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อไขมากที่สุด มีปริมาณเชื้อไขร้อยละ  $30.69 \pm 2.154$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับหน่วยการทดลองควบคุม และหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.0 โดยใบและทางปาล์มหมักที่ไม่เติมหัวเชื้อผสมมีปริมาณเชื้อไขร้อยละ  $46.58 \pm 0.607$  เมื่อคิดเป็นร้อยละในการลดลงของปริมาณเชื้อไข พบว่า การหมักด้วยการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 2.0 ทางใบปาล์มหมักมีร้อยละการลดลงของเชื้อไขเท่ากับ ร้อยละ 34.11



ภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อไข (ร้อยละ) ใบและทางปาล์มหมักด้วยเชื้อผสม ร้อยละ 0 0.5 1.5 และ 2.0 สภาพไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30วันที่อุณหภูมิห้อง Control : หน่วยการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ  
 S + L 0.5 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 0.5  
 S + L 1.0 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 1.0  
 S + L 1.5 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 1.5  
 S + L 2.0 % : ปริมาณการเติม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 2.0

### 1.3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน พบว่าการใช้เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณไขมันเฉลี่ยร้อยละ  $1.39 \pm 0.581$  เมื่อทำการหมักครบ 30 วัน มีปริมาณไขมันเริ่มต้นร้อยละ  $1.73 \pm 0.18$  สำหรับทางปาล์มหมักที่หมักโดยไม่เติมหัวเชื้อผสมมีปริมาณไขมันเริ่มต้น  $1.45 \pm 0.611$  และเมื่อหมักครบ 30 วัน มีปริมาณไขมันร้อยละ  $1.21 \pm 0.33$  สำหรับการใส่หัวเชื้อผสม *L.plantarum* และ *S. cerevisiae* ในการหมักทางปาล์มมีผลทำให้มีปริมาณไขมันต่ำกว่า รายงานวิจัยของ Ebrahimi et al. (2014) ซึ่งมีการใช้เติมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์ เซลลูเลสมีปริมาณร้อยละ 2.95

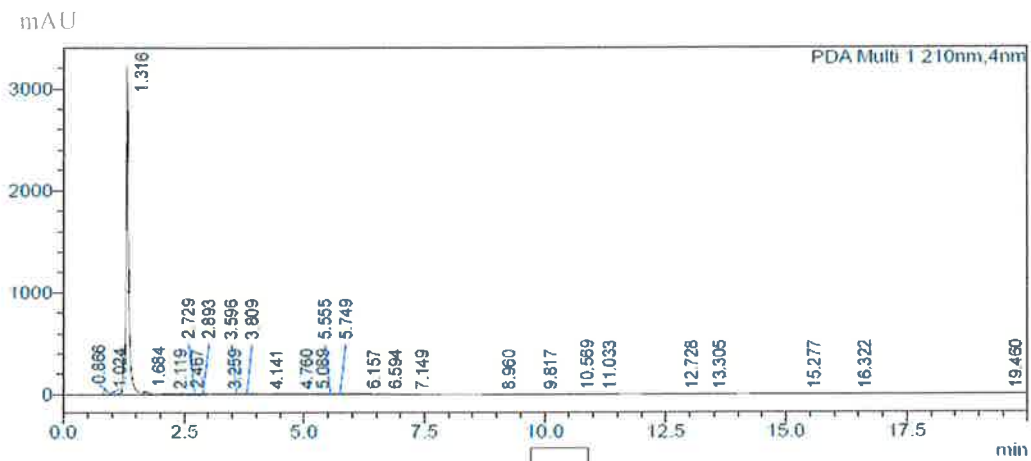
### 1.3.4 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรด ด้วยการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพ

ในการศึกษาหาชนิดและปริมาณกรด มีการสุ่มตัวอย่างจากใบและทางปาล์มจากหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 ผลจากการวิเคราะห์หาค่าเวลาริเทนชัน (retention time, RT ) ของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรด ผลการวิเคราะห์พบว่า สารละลายมาตรฐานกรดแลคติกมีค่าเวลาริเทนชันเฉลี่ย 1.240 นาที สารละลายมาตรฐานกรดอะซิติกมีค่าเวลาริเทนชัน 1.336 นาที และสารละลายมาตรฐานกรดบิวทริกมีค่าเวลาริเทนชัน 5.280 นาที

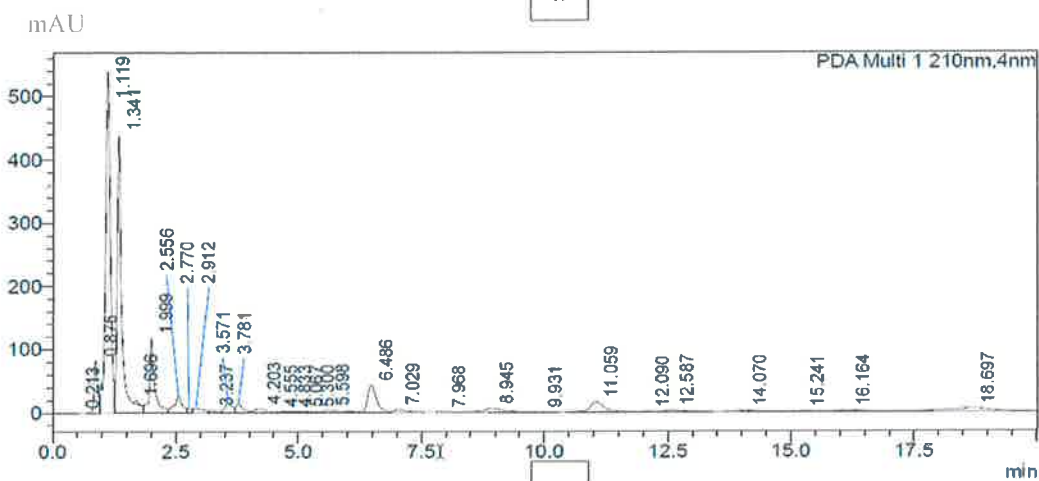
ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 3 พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดแลคติก ซึ่งช่วงเริ่มต้นการหมักตรวจไม่พบกรดแลคติก แต่เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 30 วัน ใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณกรดอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกรดแลคติก ซึ่งมีปริมาณกรดแลคติกปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 1.118 มีการปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 8.263 สำหรับการหมักที่ไม่มี การเติมหัวเชื้อผสมนั้นตรวจไม่พบกรดแลคติก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองวิเคราะห์จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย การใส่ปริมาณหัวเชื้อผสมในปริมาณที่มากมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *L . plantarum* มีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์มีการใช้สารอาหารจากใบและทางปาล์ม รวมทั้งกากน้ำตาลที่เติมในช่วงแรกของการหมัก ทำการเปลี่ยนแปลงเป็นกรดแลคติก มีผลทำให้ระดับความเป็นกรด – ด่าง ลดลงตามระยะเวลาในการหมัก สอดคล้องกับรายงาน Ebrahimi et al.(2014) ที่มีการศึกษาการเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์เซลลูเลสในการหมักทางปาล์ม พบว่า หน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและเอนไซม์ เซลลูเลสมีผลทำให้มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นในทางปาล์มหมัก และมีส่วนช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการหมักด้วย

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติค กรดแลคติก และกรดบิวทิริกของใบปล้ำหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และใบปล้ำหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม ทำการหมักในสภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 30 ที่อุณหภูมิห้อง

| กรดอินทรีย์<br>(g/100 g, % dry basis) | ใบและทางปล้ำหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน | ใบและทางปล้ำหมักเติมหัวเชื้อผสมเป็นระยะเวลา 30 วัน |
|---------------------------------------|---|--|
| กรดอะซิติค                            | 8.393 ± 0.259   | 8.263 ± 0.129                                      |
| กรดแลคติก                             | ND  | 1.118 ± 0.001                                      |
| กรดบิวทิริก                           | 0.746 ± 0.150   | 0.886 ± 0.07                                       |



ก



ข

ภาพที่ 3 พีคโครมาโทแกรมของกรดแลคติก กรดอะซิติค และกรดบิวทิริก ของใบปล้ำหมักที่ทำกรหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ใช้คอลัมน์คอลลัมน์แบบ Titan™ C18 UHPLC, 1.9 μm ใช้สารละลายเคลื่อนที่ 25mM K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ปรับระดับความเป็นกรด- ต่างเท่ากับ 2.5 ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

ก. ใบปล้ำหมักที่ไม่มีการเติมเชื้อผสม ข. ใบปล้ำหมักที่เติมเชื้อผสมร้อยละ 1.0

### 1.3.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ผลการวิเคราะห์จำนวนเซลล์ยีสต์ของใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อ ในปริมาณต่างๆ พบว่า อิทธิพลหัวเชื้อที่ใช้ในปริมาณมาก มีผลทำให้มีจำนวนยีสต์มากกว่าการหมักแบบที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้น โดยหน่วยการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อผสม มีการตรวจวิเคราะห์ไม่พบเซลล์ยีสต์ในช่วงเริ่มต้น แต่เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน ใบและทางปาล์มหมักมีจำนวนเซลล์ยีสต์  $2.17 \log \text{CFU/g}$  สำหรับการเติมหัวเชื้อผสมในปริมาณมากขึ้น มีผลทำให้ตรวจพบเซลล์ยีสต์ในจำนวนมาก การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 พบจำนวนเซลล์ยีสต์เฉลี่ยเท่ากับ  $\log 2.9 \text{CFU/g}$  และ  $\log 3.39 \text{CFU/g}$  เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน มีจำนวนเซลล์ยีสต์เฉลี่ยเท่ากับ  $\log 4.92 \text{CFU/g}$  และเฉลี่ยเท่ากับ  $\log 5.05 \text{CFU/g}$  เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ เซลล์ยีสต์มีองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในช่วงร้อยละ 45 -49 ( Onofre และคณะ, 2017 ) ซึ่งในระหว่างการหมักมีเซลล์ยีสต์เจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น มีผลเพิ่มปริมาณโปรตีนในใบและทางปาล์มหมัก

### 1.3.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

ผลการเติมปริมาณหัวเชื้อผสมสำหรับการหมักใบและทางปาล์มหมัก พบว่าการใช้ *L. plantarum* ในปริมาณที่มากมีผลทำให้มีจำนวนเซลล์ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เพิ่มขึ้นตามปริมาณหัวเชื้อผสมที่ใช้ พบว่าการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 0.5 ตรวจวิเคราะห์พบแลคติกแอซิดแบคทีเรียเฉลี่ย  $4.95 \log \text{CFU/g}$  สำหรับใบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และร้อยละ 2.0 มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเฉลี่ย  $5.25 \log \text{CFU/g}$  และ  $5.91 \log \text{CFU/g}$  ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอิทธิพลการเพิ่มปริมาณการเติมหัวเชื้อผสมมีผลต่อการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในใบและทางปาล์มหมัก การสร้างกรดแลคติก มีผลทำให้มีระดับความเป็นกรด - ต่างลดลงช่วยในการสร้างสภาวะที่เป็นกรด ช่วยรักษาคุณภาพของทางปาล์มหมักไม่ให้เกิดการเน่าเสีย

## 2. ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาของทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีนของใบปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1 เป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณ โปรตีนร้อยละ  $12.31 \pm 0.014$  โดยในวันแรกของการเก็บรักษามีปริมาณ โปรตีนร้อยละ  $13.11 \pm 0.049$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่เมื่อทำการเก็บรักษาใบและทางปาล์มหมักเป็นระยะเวลา 90 วัน นั้นใบและทางปาล์มหมักมีปริมาณ โปรตีนที่ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับใบและทางปาล์มหมักที่มีอายุการเก็บรักษา 30 วัน และ 60 วัน ซึ่งการเกิดลดลงของปริมาณ โปรตีนอาจเกิดจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อยีส พบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 อายุการเก็บรักษา มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเชื้อยีสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) กับใบและทางปาล์มหมักที่มีอายุการเก็บรักษา 30 วัน และ 60 วัน ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีนและเชื้อไข (ร้อยละ) ของใบปล้ำหมักที่เติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และไม่เติมเชื้อผสม เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน

| อายุการเก็บรักษา | ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)   |                          | ปริมาณเชื้อไข (ร้อยละ)   |                          |
|------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                  | หน่วยทดลองควบคุม        | เติมเชื้อร้อยละ 1.0      | ชุดควบคุม                | เติมเชื้อร้อยละ 1.0      |
| 0 วัน            | 6.13±0.015 <sup>c</sup> | 13.11±0.049 <sup>a</sup> | 27.40±0.407 <sup>c</sup> | 23.79±0.545 <sup>d</sup> |
| 30 วัน           | 7.25±0.015 <sup>b</sup> | 12.31±0.014 <sup>b</sup> | 27.13±0.410 <sup>c</sup> | 31.97±0.378 <sup>c</sup> |
| 60 วัน           | 7.74±0.016 <sup>a</sup> | 6.91±0.021 <sup>d</sup>  | 37.48±0.556 <sup>a</sup> | 38.91±0.312 <sup>b</sup> |
| 90 วัน           | 7.71±0.012 <sup>a</sup> | 7.74±0.023 <sup>c</sup>  | 30.06±0.363 <sup>b</sup> | 40.49±0.679 <sup>a</sup> |

ตารางที่ 6 ปริมาณไขมันและเถ้า (ร้อยละ) ของทางและใบปล้ำหมักที่เติมและไม่เติมเชื้อผสม เมื่อเก็บที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน

| อายุการเก็บรักษา | ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)     |                         | ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)     |                         |
|------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                  | ชุดควบคุม                | เติมเชื้อ               | ชุดควบคุม               | เติมเชื้อ               |
| 0 วัน            | 1.45±0.611 <sup>ns</sup> | 1.73±0.18 <sup>bc</sup> | 10.03±0.08 <sup>c</sup> | 9.02±0.22 <sup>c</sup>  |
| 30 วัน           | 1.21±0.33 <sup>ns</sup>  | 1.39±0.58 <sup>c</sup>  | 10.94±0.16 <sup>b</sup> | 8.50±0.09 <sup>d</sup>  |
| 60 วัน           | 1.52±0.57 <sup>ns</sup>  | 2.26±0.52 <sup>ab</sup> | 12.53±0.30 <sup>a</sup> | 11.31±0.38 <sup>a</sup> |
| 90 วัน           | 2.20±0.39 <sup>ns</sup>  | 2.64±0.26 <sup>a</sup>  | 12.21±0.09 <sup>a</sup> | 9.74±0.31 <sup>b</sup>  |

สำหรับผลการศึกษการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและเถ้า พบว่าการเก็บรักษามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมัน พบว่า ใบและทางปล้ำหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีปริมาณไขมันร้อยละ 2.64±0.26 เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยเริ่มต้นการหมักมีปริมาณไขมันร้อยละ 1.73±0.18 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเถ้าใบและทางปล้ำหมักพบว่า การเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 และไม่มีการเติมหัวเชื้อผสม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 6 ใบและทางปล้ำหมักที่เติมเชื้อร้อยละ 1.0 มีปริมาณเถ้าร้อยละ 9.02±0.22 ในวันเริ่มต้นการเก็บรักษา และเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน มีปริมาณเถ้าร้อยละ 9.74±0.31

## สรุปผลการวิจัย

ผลของใช้หัวเชื้อผสม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักไบและทางปาล์ม พบว่า อิทธิพลการใช้หัวเชื้อผสม สามารถเร่งกระบวนการหมักไบปาล์มสามารถเพิ่มกรดแลคติก กรดอะซิติก ช่วยในการรักษาคุณภาพและเพิ่มปริมาณ โภชนะของไบปาล์มหมัก ไบและทางปาล์มหมักที่มีการเติมหัวเชื้อผสมร้อยละ 1.0 มีปริมาณ โปรตีนร้อยละ  $13.73 \pm 0.12$  ไขมันร้อยละ  $1.45 \pm 0.611$  เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน มีจำนวนเซลล์ยีสต์และเซลล์แลคติกแอซิดแบคทีเรียในทางปาล์มหมักที่มากกว่าการหมักแบบไม่มีการเติมหัวเชื้อผสมไบและทางปาล์มหมักมีอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยไม่มีการเสื่อมเสีย ไบและปาล์มหมักด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* และ *L. plantarum* ร้อยละ 1.0 มีศักยภาพสำหรับการใช้เป็นหัวเชื้อผสมสำหรับการหมักไบปาล์ม สำหรับใช้ทอดลงเลี้ยงโคและสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องนี้ได้ทุนสนับสนุนงบประมาณ โครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2561 รหัสโครงการ 72436 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อดำเนินการวิจัยให้สอดคล้องตามเป้าหมายที่ 2 การวิจัยและนวัตกรรมเพื่อการพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม ในโอกาสที่ทีมผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ให้สนับสนุนเครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์ รวมทั้งไบปาล์มจากแปลงปาล์มน้ำมัน โรงเรือนทดลองเลี้ยงโครวมทั้งขอขอบคุณสำนักงานวิจัยและพัฒนา ที่ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยบรรลุตามแผนงานที่กำหนดไว้ เพื่อการสร้างนวัตกรรมด้านการปศุสัตว์สำหรับการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์สร้างมูลค่าเพิ่มให้ภาคการเกษตรต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

เชษฐชดา เชื้อสุวรรณ. 2561. แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรมปี 2561 – 2563 อุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม industry perspectives . (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: [www.krungsv.com/bank/getmedia/578889eo](http://www.krungsv.com/bank/getmedia/578889eo).

(4 มกราคม 2562)

ณัฐฐา รัตนโกศล. 2552. การใช้ทางไบปาล์มน้ำมันเป็นอาหารสำหรับการเลี้ยงแพะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ประดิษฐ์ อาจขมภู ศิริศักดิ์ บริรักษ์ธนกุล เกียรติศักดิ์ สร้อยสุวรรณ สมจิตร ถนอมวงศ์วัฒน์ และสมพรจันทร์. 2552. การพัฒนาทางไบปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงแพะ. การประชุมวิชาการของ

เครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษา เรื่องเศรษฐกิจฐานความรู้ภูมิภาคชาติ จังหวัดนครศรีธรรมราช 2-4 เมษายน 2552 หน้า 35-44.

สันติ หมัดหมั่น, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์, วันวิสาข์ งามส่องใส และ เสาวนิต คูประเสริฐ. 2555. ผลของการหมักทางไบปาล์มน้ำมันร่วมกับกากน้ำตาลระดับต่างๆต่อปริมาณการกินได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในโคพื้นเมือง. KHON KAEN AGR. J. 40 : 79-92.



- AOAC,1990. **Official methods of analysis**. 15<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA,USA.
- Bzducha-Wróbel.A.,Blazejak., S., Kawarska. S., Stasiak-Rozanska.,L., Gientka.,I. and Majewska. E. 2014. Evaluation of the Efficiency of Different Disruption Methods on Yeast Cell Wall Preparation for  $\beta$  - Glucan Isolation. *Molecules*. 19: 20941-20961.
- Carvalho, B.F., Ávila, C.L.S.,Pinto, J.C., Neri,J. and Schwan,R.F. 2014. Microbiological and chemical profile of sugar cane silage fermentation inoculated with wild strains of lactic acid bacteria. *Animal Feed Science and Technology* 195 :1–13.
- Cai, Y. 1999. Identification and characterization of Enterococcus species isolated from Forage crops and their influence on silage fermentation. *J dairy Sci*.82: 2466-2471.
- Ebrahimi,M., Rajion,M.A., Goh, Y.M., Farjam, A.Q., Sazili, A.Q. and Schonewille, J.T.2014 . The Effects of Adding Lactic Acid Bacteria and Cellulase in Oil Palm (*Elais Guineensis* Jacq.) Frond Silages on Fermentation Quality, Chemical Composition and in Vitro Digestibility. *Ital J Anim Sc.i* 13: 557 - 562.
- Onofre, S.B., Bertoldo, I.C., Abatti, D. and Refosco, D. 2017. **Chemical Composition of the Biomass of *Saccharomyces cerevisiae* - (Meyen ex E. C. Hansen, 1883) Yeast obtained from the Beer Manufacturing Process**. Available Source: <https://www.ijeab.com>, March 27, 2019  
*Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)* 2:558 – 562.
- Snell, H. G. J., Oberndorfer, C.,Lucke, W. and van den Weghe. H.F.A. 2003. Effects of Polyethylene Color and Thickness on Grass Silage Quality. *Gras and Forage Science*, 58: 239-248.
- Toruk, F. and Gonulol, E. 2011. Effects of Particle Length on Alfalfa Baled Silage Quality and Color under Different Storage Conditions. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17:451-455.
- Wattanachant, C. 2010. **Present roughage status in the lower southern provinces of Thailand**. In : Proceeding of the 31<sup>st</sup> Annual Conference of Malaysian society of animal production, Kota Bharu, Kelantan 6-8 June 2010.