บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

โปรตีน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญทั้งในพืชและสัตว์ พบอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เป็นสารประกอบที่ซับซ้อน ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า "กรดอะมิโน" (amino acid) ซึ่งจับกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) โปรตีนสามารถแบ่งออกได้ตามองค์ประกอบ ดังนี้

1. โปรตีนรวม (crude protein, CP) หมายถึง ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอาหาร คูณกับ 6.25 ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่มีในโปรตีน ปริมาณโปรตีนดังกล่าวสัตว์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดเนื่องจาก ไนโตรเจนที่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ตัวสัตว์ไม่สามารถนำไปใช้ในการสร้างเป็นกรดอะมิโนได้
2. โปรตีนแท้ (true protein, TP) หมายถึง โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนจับกันเป็นโมเลกุลใหญ่ สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างโปรตีนในร่างกายหรือในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ได้
3. สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen, NPN) ได้แก่ ยูเรีย ไบยูเรต และไนเตรท เป็นต้น สาร 2 ชนิดแรก สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ถ้าการใช้อย่างถูกวิธี แต่ไม่ควรใช้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว

โปรตีนมีความสำคัญต่อการสร้างน้ำนม เพราะนมมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 3.5% ของน้ำหนักสด (NRC, 1988) Oldham (1984) กล่าวว่า ประมาณ 35 ถึง 75% ของผลผลิตน้ำนมที่ได้เป็นผลจากโปรตีนโดยตรง โดยมีความสัมพันธ์กับพลังงานดังนี้คือ

1. ถ้ากรดอะมิโนที่ได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการ จะทำให้มีการผลิตน้ำนมต่ำกว่าปกติและพลังงานที่มีมากเกินพอซึ่งไม่สมดุลกับกรดอะมิโนนั้นจะสะสมในรูปของไขมันหรือเกิดการออกซิไดซ์ไป ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของพลังงานมีประสิทธิภาพลดลง

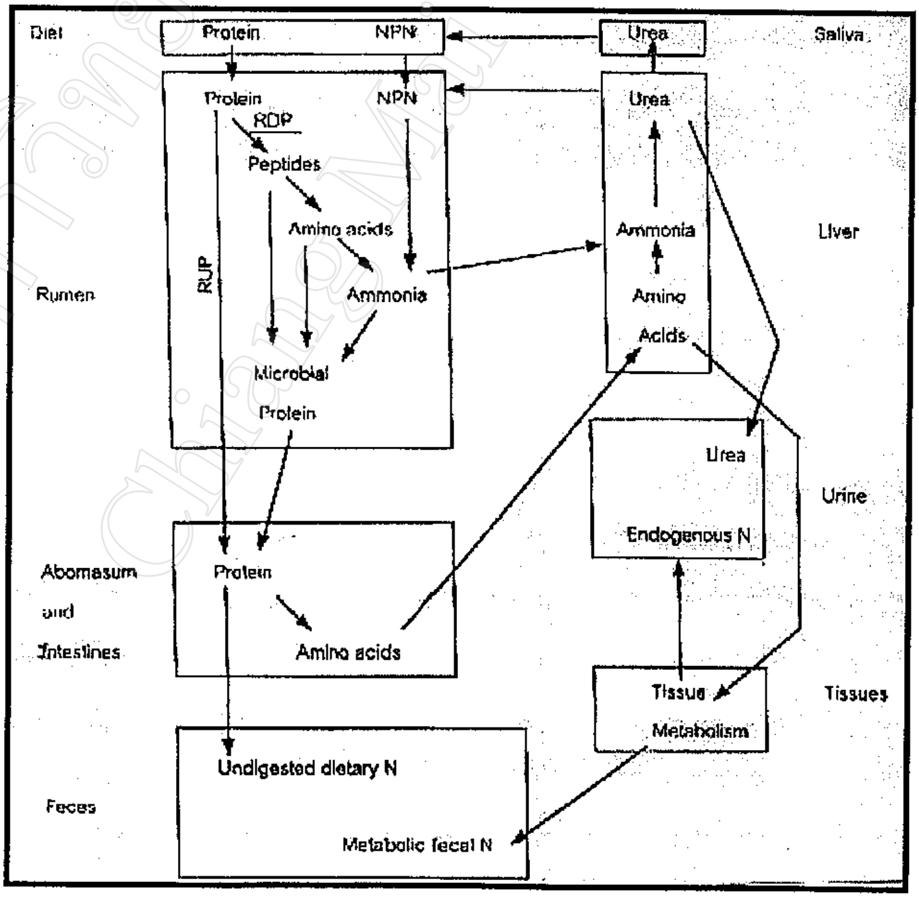
2. ถ้ากรดอะมิโนที่ได้รับเพียงพอกับความต้องการ จะทำให้เกิดสมดุลกับการใช้ประโยชน์ของพลังงาน อีกทั้งกรดอะมิโนยังช่วยเพิ่มการผลิตน้ำนมโดยตรงด้วย

3. หากได้รับกรดอะมิโนสูงเกินความต้องการกรดอะมิโนจะถูกนำไปใช้ในการผลิตน้ำนมส่วนหนึ่ง ส่วนที่เหลือจะถูก deaminate ทำให้มีการสูญเสียพลังงาน ทั้งในขั้นตอนการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่มากเกินพอและการถูกขับออกในรูปของยูเรีย

การย่อยสลายโปรตีนในรูเมนและการนำไปใช้ประโยชน์ในโคนม

โดยทั่วไปโปรตีนในอาหารโคนมสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่ย่อยสลายได้ดีในกระเพาะหมัก (ruminal degradable protein : RDP หรือ degradable intake protein : DIP) ประกอบด้วยโปรตีนที่ละลายได้ในกระเพาะหมัก (soluble protein) และที่ไม่ละลายบางส่วน
2. กลุ่มที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (ruminal undegradable protein : RUP หรือ undegradable intake protein : UIP) หรือที่เรียกว่า โปรตีนไหลผ่าน (by pass protein ; escape protein) ประกอบด้วยโปรตีนที่ไม่ละลายในกระเพาะหมัก (Insoluble protein) เป็นส่วนใหญ่



ภาพ 2.1 การย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจนในรูเมน การเปลี่ยนแปลงในร่างกายและขับออก

ที่มา : ดัดแปลงจาก Lewis and Hill (1983) อ้างโดย บุญล้อม (2541).

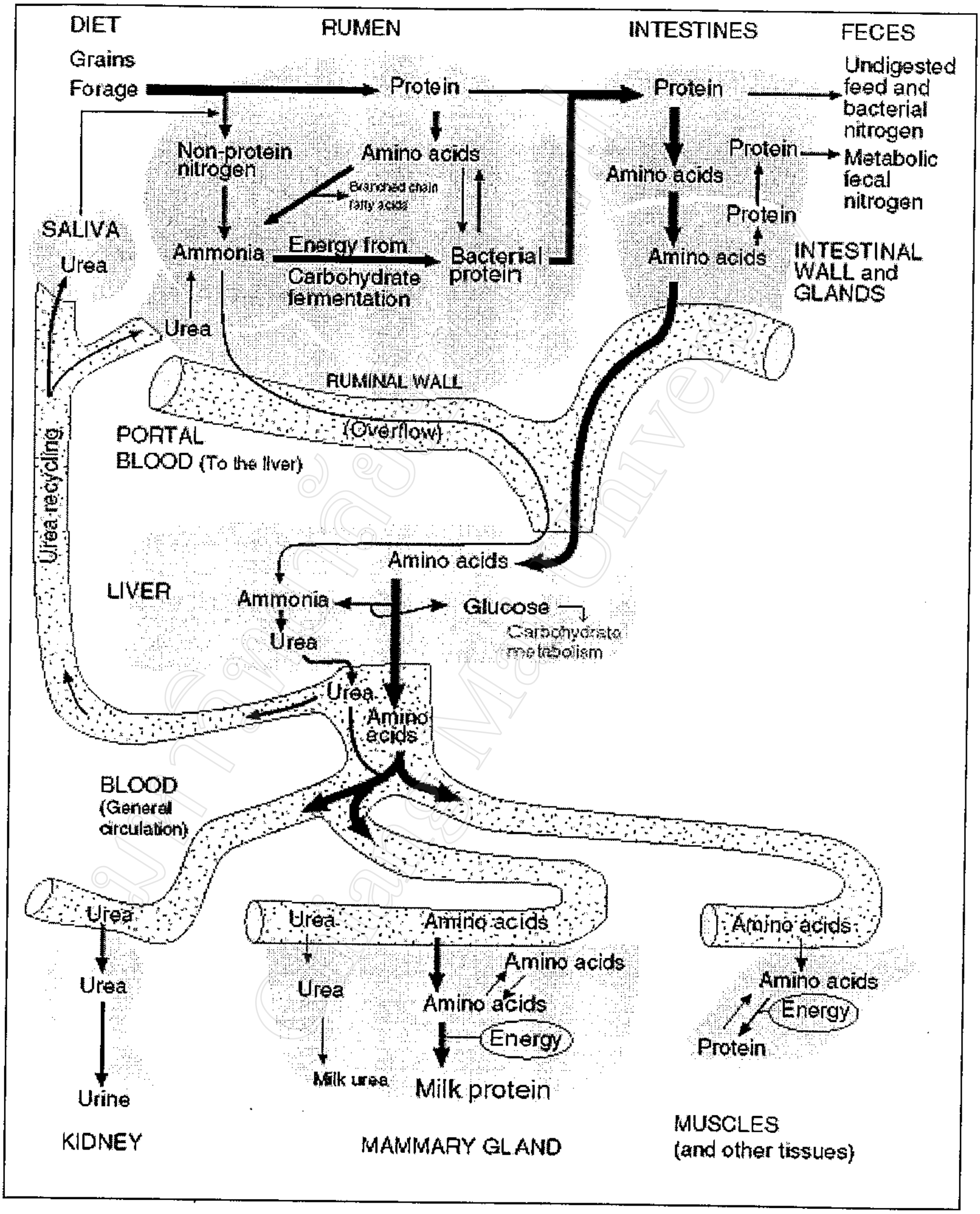


Figure 2.2 Protein metabolism in dairy cows (Wattiaux, no date)

โปรตีนที่โคนมได้รับจากอาหารเมื่อเข้าสู่กระเพาะหมัก โปรตีนกลุ่มที่ถูกย่อยสลายได้จะถูกย่อยให้เป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ก่อนด้วยน้ำย่อยจากจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียให้ได้เป็นกรดอะมิโน แล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งจะถูกแบคทีเรียนำไปสร้างเป็นโปรตีนในตัวมันเอง (microbial protein) ต่อไป ส่วนโปรตีนในกลุ่มที่ไม่ถูกย่อย รวมทั้งแบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่น ๆ ในกระเพาะหมักจะผ่านลงสู่ทางเดินอาหารส่วนล่างซึ่งจะถูกย่อยที่ลำไส้เล็กโดยน้ำย่อยจากตัวสัตว์เองได้เป็นกรดอะมิโนและถูกดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป การย่อยสลายโปรตีนในทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ ของโคนม แสดงในภาพ 2.1 โปรตีนส่วนที่ย่อยไม่ได้จะถูกขับออกมาทางมูล ส่วนกรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมเข้าไปและแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมน ซึ่งถูกเปลี่ยนให้เป็นยูเรียที่ตับ ส่วนหนึ่งจะถูกขับออกทางปัสสาวะ (บุญล้อม, 2541) กรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมเข้าไปนี้ส่วนใหญ่จะถูกส่งไปยังต่อมน้ำนมเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในน้ำนม ดังแสดงในภาพ 2.2

ข้อดีข้อเสียของการย่อยสลายโปรตีนในรูเมน

บุญล้อม (2527) ได้กล่าวถึงข้อดีข้อเสียของการย่อยสลายโปรตีนที่มีคุณภาพต่างกันในกระเพาะรูเมนไว้ดังนี้คือ

ข้อดี ถ้าโปรตีนที่สัตว์กินเข้าไปมีคุณภาพต่ำ มีสัดส่วนของกรดอะมิโนไม่เหมาะสมกับความต้องการของสัตว์ หรือขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) เป็นจำนวนมาก การถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน แล้วสร้างเป็นโปรตีนของจุลินทรีย์ก็นับว่าได้กำไร ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นได้ในขณะที่ตัวสัตว์เองสังเคราะห์ไม่ได้ เมื่อจุลินทรีย์เดินทางออกจากกระเพาะรูเมนไปกับอาหารจนถึงลำไส้เล็ก จะถูกย่อยโดยเอนไซม์จากตัวสัตว์ได้เป็นกรดอะมิโนที่เหมาะสมกับความต้องการของร่างกายยิ่งขึ้น

ข้อเสีย ถ้าโปรตีนที่สัตว์กินเข้าไปมีคุณภาพดีอยู่แล้ว คือมีสัดส่วนของกรดอะมิโนเหมาะสมกับความต้องการของสัตว์ การถูกย่อยสลายให้เป็นแอมโมเนียแล้วนำไปสร้างเป็นโปรตีนของจุลินทรีย์นับว่าขาดทุน ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนในตัวจุลินทรีย์อยู่ในรูปของกรดนิวเคลอิคเป็นจำนวนมาก (ประมาณ 20% ของไนโตรเจนทั้งหมด) ซึ่งสัตว์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อีกทั้งสัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นในโปรตีนของจุลินทรีย์อาจเลวกว่าโปรตีนเดิมที่กินเข้าไปก็ได้ นอกจากนี้การย่อยสลายของโปรตีนให้กลายเป็นแอมโมเนียนั้น จุลินทรีย์อาจจะนำแอมโมเนียไปใช้ได้ไม่หมดหรือใช้ไม่ทันทำให้เกิดการสูญเสีย

เมื่อพิจารณาจากภาพ 2.3 จะพบว่าการนำแอมโมเนียไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนอย่างมีประสิทธิภาพนั้น จำเป็นต้องมีคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่ายอย่างเพียงพอ แต่เนื่องจากอาหารหยาบในบ้านเรามีคุณภาพไม่ดี พลังงานที่จุลินทรีย์นำมาใช้ในการเปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นโปรตีนจึงมีไม่เพียงพอ ทำให้มีแอมโมเนียในกระเพาะหมักสูง ซึ่งจะซึมผ่านผนังกระเพาะหมักเข้าสู่กระแสเลือดและถูกเปลี่ยนเป็น **"ยูเรีย"** ที่ตับ แล้วถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะ ซึ่งเป็นการสูญเสียโปรตีนไปโดยไม่เกิดประโยชน์ นอกจากนี้ถ้าความเข้มข้นของแอมโมเนียมีสูงเกินไปจนร่างกายขับออกไม่ทันจะเกิดความเป็นพิษขึ้น

Protein ⟶ NH_3, CO_2

Carbohydrate ⟶ Keto acid + VFA

NH_3 + Keto acid ⟶ Microbial protein

Microbial protein ⟶ Free amino acid ⟶ Absorbed

***ภาพ* 2.3** กระบวนการย่อยสลายโปรตีนในอาหารของโคนม (ดัดแปลงจาก NRC, 1988)

การที่โปรตีนจะสลายตัวในรูเมนได้มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับ การละลายได้ (solubility) ของโปรตีนนั้นเป็นสำคัญ อย่างไรก็ดี อัตราการไหลผ่านทางเดินอาหาร (flow rate) ปริมาณอาหารที่กิน องค์ประกอบของอาหาร pH ในรูเมน และ structure ของโปรตีนก็มีส่วนเกี่ยวข้องด้วย (บุญล้อม, 2527)

Satter (1986) สรุปว่าปัจจัยที่มีผลต่อการแตกตัวของโปรตีนในรูเมน คือ พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) ในโมเลกุลของโปรตีน ระยะเวลาที่อยู่ในรูเมน (retention time) การละลายของโปรตีน กรรมวิธีการเก็บรักษา Chalupa (1974) รายงานว่า ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมน ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กิน ความถ่วงจำเพาะ ขนาดของชิ้นอาหาร อัตราส่วนระหว่างอาหารหยาบกับอาหารข้นและอัตราการย่อยสลายในรูเมน

โปรตีนไหลผ่าน (By pass protein)

เป็นโปรตีนที่ย่อยสลายได้น้อยในกระเพาะหมัก ซึ่งจะผ่านกระเพาะหมักไปถูกย่อยสลายที่ลำไส้เล็ก โดยโปรตีนที่ผ่านไปถึงลำไส้เล็กมาจาก 2 แหล่ง คือ

1. โปรตีนจากอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน
2. โปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ถูกสร้างในกระเพาะหมัก

โปรตีนจาก 2 แหล่งนี้รวมกันเรียกว่า Metabolizable protein (MP) ดังภาพ 2.4 ซึ่งเมื่อไปถึงลำไส้เล็กจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากตัวสัตว์ได้เป็นกรดอะมิโนซึ่งจะถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์ได้โดยตรง และมีความสำคัญมากโดยเฉพาะโคนมที่อยู่ในช่วงต้นของการให้นมมีความต้องการโปรตีนสูงมาก

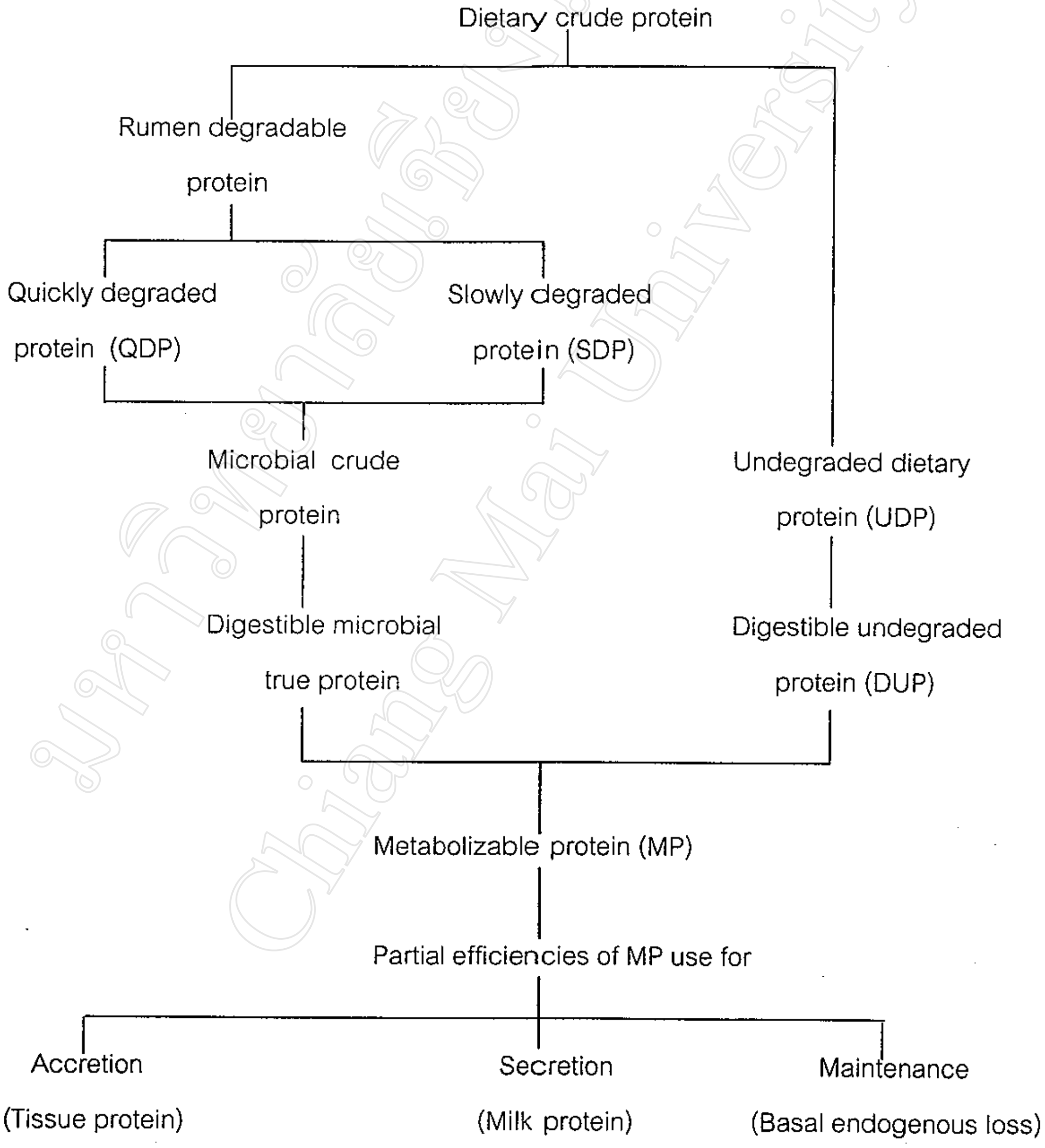


Figure 2.4 Flow diagram to represent the broad relationships linking dietary (crude) protein intake to metabolizable protein yield and its partition between various animal functions (Oldham, 1994)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ในปัจจุบันเนื่องจากมีการปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมของโคนม ทำให้มีแม่โคที่ให้นมสูงคือมากกว่า 30 กิโลกรัมต่อวันเพิ่มขึ้น ซึ่งโคเหล่านี้มักจะเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากเมแทโบลิซึมสูงทำให้เกิดโรค (metabolic disorder) เช่น ketosis, acidosis และมีสมรรถภาพการสืบพันธุ์ที่เลวลง

ปัญหาของโคที่ให้นมสูงมักเกิดรุนแรงในช่วงต้น (ประมาณ 100 วันแรกของการให้นม) เพราะโคได้รับโภชนะโดยเฉพาะอย่างยิ่งพลังงานและโปรตีนไม่เพียงพอต่อความต้องการเพื่อการดำรงชีพและการสร้างน้ำนม Beever and Thomson (1981) พบว่าโคน้ำหนัก 640 กิโลกรัมจะสูญเสียน้ำหนักตัวในช่วง 6 สัปดาห์แรกหลังคลอดมากถึง 1 กิโลกรัมต่อวัน หลังจากนั้นน้ำหนักตัวจะเพิ่มขึ้นจนสัปดาห์ที่ 44 จะมีน้ำหนัก 672 กิโลกรัม ในกรณีของการขาดพลังงานมีการแนะนำให้เสริมไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันไหลผ่าน เพื่อจะได้ไม่เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน สำหรับกรณีของโปรตีน ควรทำให้โปรตีนคุณภาพดีถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนลดลง เพื่อให้มีโปรตีนไหลผ่านเพิ่มขึ้น อีกทั้งการลดการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมน ทำให้มีพลังงานถูกดูดซึมในทางเดินอาหารสูงขึ้น และลดการสูญเสียโปรตีนในรูปของแอมโมเนียอีกทางหนึ่งด้วย (Beever and Thomson, 1981) แต่การที่โปรตีนไหลผ่านจะใช้ประโยชน์ได้ดีเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการย่อยสลายและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ที่ลำไส้เล็ก ถ้าโปรตีนไหลผ่านถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากตัวสัตว์ได้มาก ก็จะมีกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์มาก อย่างไรก็ดีจากการศึกษาหลายรายพบว่าถ้าอาหารมีโปรตีนไหลผ่านเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณน้ำนมและเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนมสูงขึ้นด้วย ดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 ผลของอาหารที่มีโปรตีนไหลผ่านสูง (HUP) เปรียบเทียบกับโปรตีนไหลผ่านต่ำ (LUP) ที่มีต่อผลผลิตและเปอร์เซ็นต์โปรตีนน้ำนม

ผลผลิตน้ำนม (กิโลกรัม)		โปรตีนในน้ำนม (%)		**Source**
LUP	HUP	LUP	HUP	
26.5	28.7	3.1	3.1	Higginbotham *et al.* (1989)
8.3	9.5	3.6	4.1	พิทยา (2536)
12.3	13.1	3.7	4.8	เกรียงศักดิ์ (2539)
35.7	34.1	2.9	3.1	Winsryg *et al.* (1991)
29.1	29.6	3.1	3.0	Taylor *et al.* (1991)
31.5	31.5	3.0	3.1	Robinson and Kennelly (1988)

LUP = low undegradable protein, HUP = high undegradable protein

พิทยา (2536) ได้ทำการทดลองประกอบสูตรอาหารที่มีระดับของโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์ โดยมีโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (UDP) แตกต่างกันคือ 34, 38 และ 42 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม พบว่าน้ำนมที่ปรับให้มีไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ (4% FCM) มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามปริมาณ UDP คือ 7.6, 8.2 และ 8.5 กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ ส่วนองค์ประกอบของน้ำนมพบว่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนักคือมีไขมันนม 3.3, 3.3 และ 3.4% มีโปรตีน 8.6, 8.85 และ 8.82% ตามลำดับ เมื่อประเมินผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ พบว่าอาหารสูตร 42% UDP ให้ผลตอบแทนสูงสุด ซึ่งการทดลองนี้สรุปได้ว่า อาหารโคนมควรมีโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักในระดับ 38-42%

ทรงศักดิ์และคณะ (2541) ได้ให้อาหารที่มีโปรตีนรวม 2 ระดับ (16% และ 20%) โดยมีโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก 3 ระดับ คือ 35%, 40% และ 45% พบว่าเมื่อเพิ่มโปรตีนในสูตรอาหารขึ้นปริมาณการกินได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุและโปรตีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ดีพบว่าปริมาณนมที่ปรับไขมัน 3.5% แล้ว (9.77, 9.98 และ 11.7 กก.) และปริมาณไขมันรวมทั้งโปรตีนที่ผลิตได้ต่อวันสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักและ/หรือโปรตีนในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจพบว่าอาหารที่มีโปรตีนต่ำ (16%) แต่มีโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายสูง (45%) ให้ผลตอบแทนที่สูงกว่าและโคมีความคงทนในการให้น้ำนมดีกว่า ดังนั้นการประกอบสูตรอาหารโคนมจึงมีความจำเป็นที่จะต้องพิจารณาถึงระดับของโปรตีนและโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักด้วย

เป็นที่น่าสังเกตุว่า การทดลองข้างต้นที่ศึกษาในประเทศไทยนั้น พบผลการตอบสนองในเชิงบวกต่อการเพิ่มระดับโปรตีนไหลผ่าน แม้ว่าโคจะให้นมเพียงประมาณ 10 กิโลกรัม/วัน เท่านั้น ซึ่งขัดแย้งกับ Atwal *et al* (1995) ที่กล่าวว่าการให้ RUP นั้นจะได้ผลดีกับโคนมที่ให้นมมากกว่า 30 กิโลกรัม ขึ้นไป นอกจากนี้ NRC (2001) ยังได้แนะนำว่าโคนมที่มีน้ำหนักตัว 454 กิโลกรัมและให้นม 30 กิโลกรัม ที่มีไขมันนม 4% ในช่วงแรกของการให้นม มีความต้องการ RUP เท่ากับ 45.5% ของ crude protein ซึ่งใกล้เคียงกับ Anonymous (1998) ที่ระบุว่าโคที่ให้นมสูงต้องการ RUP ประมาณ 37- 42% ของ crude protein ส่วนการให้ RUP กับโคที่ให้นมต่ำจะไม่มีผลและไม่คุ้มค่าในทางเศษฐกิจด้วย สอดคล้องกับ Dunlap *et al* (2000) ที่พบว่าการให้ RUP จะไม่มีผลต่อโคที่อยู่ในช่วงท้ายของการให้นม

โปรตีนของกากถั่วเหลืองเทียบกับปลาป่น

แหล่งโปรตีนคุณภาพดีสำหรับสัตว์ที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางได้แก่ กากถั่วเหลืองและปลาป่น กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมใช้กันมากในอาหารสัตว์ ในสหรัฐใช้มากกว่า 92% ของกากพืชน้ำมันทั้งหมด โดยประมาณ 85% ใช้ในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Smith, 1998) ดังตาราง 2.2

Table 2.2 Soybean meal used by livestock in USA.

Poultry	52%	Pet Foods	2%
Swine	29%	Food & Industrial Use	2%
Beef	7%	Other	2%
Dairy	6%	Total	100%

Source : Smith. (1998)

Ensminger and Olentine (1978) รายงานว่า กากถั่วเหลืองมีโปรตีนสูงกว่าและมีเยื่อใยต่ำกว่ากากพืชน้ำมันชนิดอื่น เช่น กากฝ้าย กากลินซีด กากเรปซีดและกากทานตะวัน เป็นต้น (ตาราง 2.3) โปรตีนในกากถั่วเหลืองจัดว่ามีคุณภาพดี เพราะมีสัดส่วนของกรดอะมิโนค่อนข้างสมดุล มีไลซีนค่อนข้างสูง (ตาราง 2.4) อย่างไรก็ดีเมื่อเทียบกับปลาป่นแล้ว พบว่ากากถั่วเหลืองมีปริมาณและคุณภาพของโปรตีนต่ำกว่าปลาป่น เพราะมีเมทไธโอนีนต่ำกว่า (ตาราง 2.5) อีกทั้งยังเป็นแหล่งของไวตามินบี (NRC, 2001) แต่เนื่องจากสัตว์เคี้ยวเอื้องที่โตแล้วสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น และไวตามินบีได้โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ปลาป่นจึงมีความสำคัญน้อยลง ประกอบกับปลาป่นมีราคาสูงจึงไม่นิยมใช้ในอาหารสัตว์สัตว์เคี้ยวเอื้องทั่วไป อย่างไรก็ดีอาจมีการเสริมปลาป่นให้แก่สัตว์เคี้ยวเอื้องที่ให้ผลผลิตสูงบ้าง เพราะสัตว์ดังกล่าวต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง (Charles, 2000) แต่ระดับที่เสริมปลาป่นมักไม่เกิน 5% ของอาหาร สำหรับสัดส่วนของ RUP ในกากถั่วเหลืองเมื่อเทียบกับปลาป่น พบว่าชนิดที่สกัดน้ำมันด้วยสารเคมี มีค่า RUP ต่ำกว่าปลาป่นประมาณครึ่งหนึ่ง แต่ชนิดที่อัดน้ำมันด้วยวิธีอัดเกลียว (expeller process) มีค่า RUP ใกล้เคียงกันกับปลาป่น (ตาราง 2.5) ทั้งนี้เนื่องจากการอัดน้ำมันดังกล่าวต้องใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 270-300 °C

Table 2.3 Comparative composition (%) of various oilseed meal.[a]

Oilseed Meal[1]	Crude protein	Ether extract	Crude fiber
Soybean meal	44.0	0.5	7.0
Soybean meal [b]	48.5	1.0	3.0
Canola meal	38.0	3.8	11.1
Cottonseed meal	41.0	0.8	12.7
Linseed meal	33.0	0.5	9.5
Peanut meal	48.0	1.5	6.8
Rapeseed meal	36.0	2.6	13.2
Safflower meal	42.0	1.3	15.1
Sesame meal	42.0	7.0	6.5
Sunflower meal	42.0	2.3	21.0

[a] As- fed basis, [b] Dehulled, [1]NRC Ref. No.

Source : Smith. (1998)

Table 2.4 Comparative amino acid composition of oilseed meal.[a]

Amino acid	Soybean	Dehulled soybean	Cotton Seed	Peanut	Rapeseed	Sunflower
Arginine	3.4	3.8	4.6	4.6	2.0	3.5
Lysine	2.9	3.2	1.7	1.8	1.7	1.7
Methionine	0.65	0.75	0.52	0.42	1.5	1.5
Cystine	0.67	0.74	0.64	0.73	0.7	0.7
Tryptophan	0.6	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5
Histidine	1.1	1.3	1.1	1.0	1.0	1.0
Leucine	3.4	3.8	2.4	3.7	2.6	2.6
Isoleucine	2.5	2.6	1.3	1.8	2.1	2.1
Phenylalanine	2.2	2.7	2.2	2.0	2.2	2.2
Threonine	1.7	2.0	1.3	1.2	1.5	1.5

[a] As- fed basis

Source : Smith. (1998)

Table 2.5 Nutrient composition and variability of some feedstuffs commonly fed to dairy cattle (all values on a dry basis)

Feed	CP %	RUP	Lys %CP	Met
Fish meal, Menhaden, mech	68.5	59.2-65.8	7.65	2.81
Soybean meal				
Expellers,45%CP	46.3	58-69	6.27	1.45
Solvent,44%CP	49.9	24.3-34.6	6.28	1.45
Solvent,48%CP	53.8	30.8-42.6	6.29	1.44

Source : NRC. (2001)

วิธีเพิ่มโปรตีนไหลผ่านหรือเพิ่มกรดอะมิโนเพื่อใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์

จากการที่ปลาป่นมีราคาแพงดังได้กล่าวมาแล้ว อีกทั้งการใช้ในปริมาณสูงในอาหารโคนม อาจทำให้น้ำนมมีกลิ่นคาวปลาได้ ดังนั้นจึงพยายามเพิ่มโปรตีนไหลผ่านในกากถั่วเหลืองและ/หรือ กากพืชน้ำมันชนิดอื่น โดยใช้ความร้อน เช่น การอบ การคั่ว หรือการใช้สารเคมี เช่น formaldehyde, tannin หรือกรดอะซิติก เป็นต้น

การใช้ความร้อน (heat treatment)

ความร้อนที่ให้แก่อาหารไม่ว่าจะโดยทางตรงหรือทางอ้อม เช่นการอัดเม็ด การสกัดน้ำมัน การคั่ว การอบ นึ่ง ต้ม ฯลฯ มีผลทำให้โปรตีนสลายตัวในรูเมนได้น้อยลงทั้งนั้น แต่การให้ความร้อนนี้ต้องคำนึงถึงอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมด้วย เพราะถ้าให้ความร้อนมากเกินไปก็จะทำให้เกิดกระบวนการที่เรียกว่า Maillard reaction คือ aldehyde group ของน้ำตาลจะไปจับกับ free amino group ของโปรตีน ได้เป็น amino-sugar complex ซึ่งทนต่อการย่อยของเอนไซม์มากกว่าเปปไทด์บอนด์ตามปกติ ถึงแม้ว่าจะไม่มีน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรต การให้ความร้อนสูงเกินไปก็อาจทำให้ amino group ของไลซีนทำปฏิกิริยากับ free amino group หรือ carbonyl group ของโปรตีนอื่น เกิดเป็น amide bond ขึ้น ทำให้โปรตีนนั้นไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน แต่ถ้าให้ความร้อนในระดับที่พอเหมาะจะทำให้โปรตีนทนต่อการย่อยสลายในรูเมน แต่ไปถูกย่อยในลำไส้เล็กได้เป็นกรดอะมิโนซึ่งสัตว์สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง ทำให้มีการสะสมโปรตีนหรือไนโตรเจนในร่างกายสูงขึ้น (บุญล้อม, 2527)

Kaufmann and Luepping. (1982) ได้เปรียบเทียบผลของการใช้ความร้อนแห้งและความร้อนเปียก (autoclave) ในการทรีตกากถั่วเหลืองพบว่า autoclave จะให้ผลดีกว่าคือใช้เวลาสั้นกว่าเพียง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 120 – 130°C ก็จะทำให้การละลายได้ลดลงอย่างมาก (ดูจากค่าแอมโมเนียที่ถูกปล่อยออกมาดังในภาพ 2.5 นอกจากนี้การ autoclave ที่อุณหภูมิดังกล่าวยังไม่ทำให้การย่อยได้ลดลงเท่าใดนัก (ภาพ 2.6) การใช้ความร้อนแห้งจะต้องใช้เวลานานกว่าและอุณหภูมิสูงกว่าจึงจะทำให้การละลายได้ลดลง ซึ่งนับว่าเป็นการเสี่ยง เพราะอาจทำให้เกิด over protection อันเนื่องมาจากปฏิกิริยา Maillard หรือ Browning reaction ดังได้กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ดีการ autoclave ไม่ได้ทำให้การสลายตัวของโปรตีนทุกชนิดลดลงเท่ากัน (วัดจากค่าแอมโมเนียที่เกิดขึ้นดังในภาพ 2.7) ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากโครงสร้างของโปรตีนในอาหารแต่ละชนิดต่างกัน และอาหารแต่ละชนิดอาจได้รับ treatment ที่ไม่เหมือนกันมาก่อน

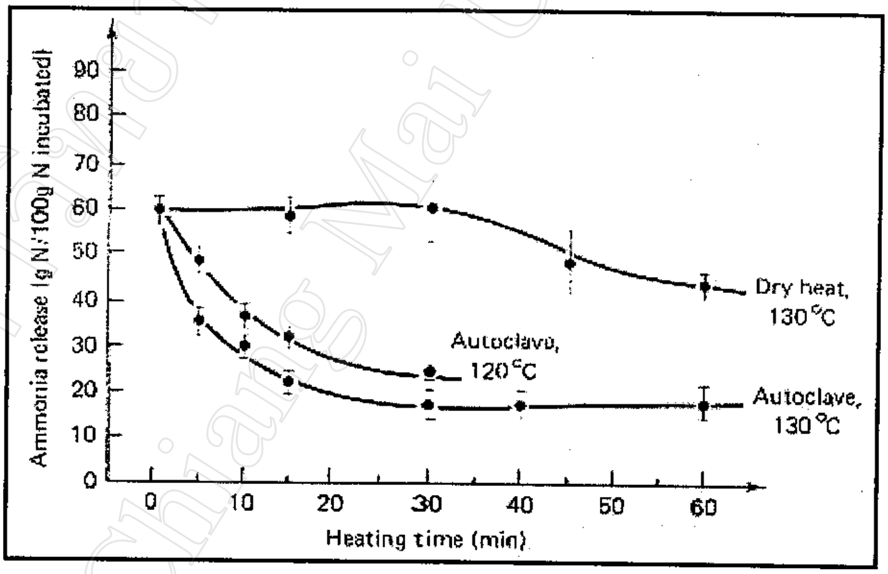


Figure 2.5 Effect of heat treatment of soya-protein on the release of ammonia during incubation with rumen fluid *in vitro*. (Kaufmann and Luepping, 1982)

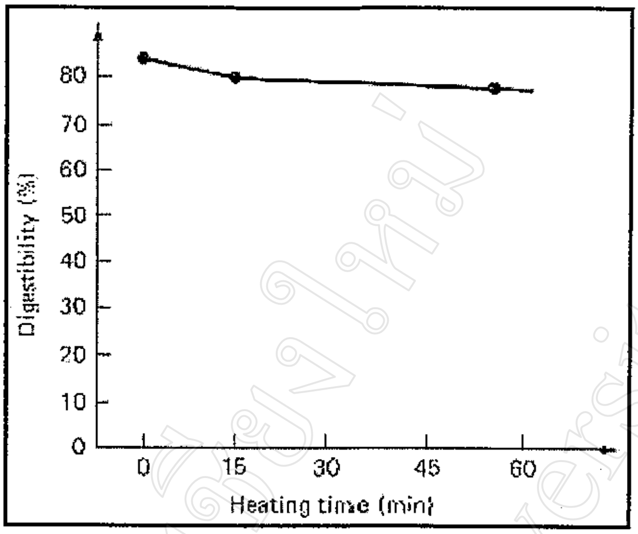


Figure 2.6 Effect of autoclaving soya protein at 130°C on its digestion in the intestines after infusion into abomasum (Kaufmann and Luepping, 1982)

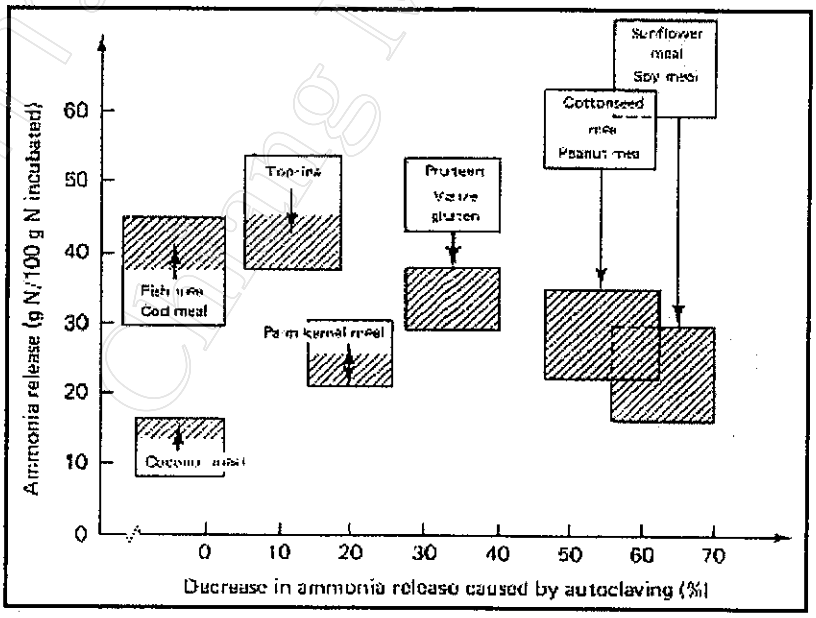


Figure 2.7 Effect of autoclaving various protein concentrates at 130°C for 30 min on ammonia release during incubation with rumen fluid (*in vitro*) : open, untreated; hatched, autoclaved (Kaufmann and Luepping, 1982)

Chiang Mai University

ในการศึกษาโดยใช้ความร้อนสกัดน้ำมันออก (defatted) จากกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 250, 250, 215 และ 180°C เป็นเวลา 30, 20, 20 และ 25 นาที พบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าโปรตีนรวมที่เหลืออยู่ในถุง nylon เพิ่มขึ้น แสดงว่ามีการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลง ดังตาราง 2.6

Table 2.6 Proportions of dry matter and crude protein remaining in polyester bags after 12 hours of rumen incubation.

Feed[1]	% Remaining in bag	
	Dry matter	Crude protein
USBM	30.8	43.0
WSBM	41.5	52.7
XSBM	35.8	51.0
YSBM	30.8	35.5
ZSBM	10.0	7.7

[1] Untreated soybean meal (USBM) and defatted soy flakes (WSBM, XSBM, YSBM and ZSBM) heated at 250°C for 30 min, 250°C for 20 min, 215°C for 20 min, or 180°C for 25 min, respectively.

Source : Crooker *et al.* (1986)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* method) พบว่าการอบ (roasting) ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดที่อุณหภูมิ 143 °C และ 146 °C ทำให้มีโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนประมาณ 50-60% และเอนไซม์ lipase ทำงานได้ลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 163°C จะเกิดการไหม้ของกากถั่วเหลืองทำให้โปรตีนย่อยได้ลดลงและเอนไซม์ lipase หยุดการทำงานดังตาราง 2.7 และพบว่าการใช้อุณหภูมิไม่เกิน 146°C ทำให้น้ำหนักตัวของลูกโคนมเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญดังตาราง 2.8 (Reddy *et al.*,1993) ผลเหล่านี้สอดคล้องกับ Hillman (1999) ที่ให้ความร้อนแห้งแก่กากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 120-140 °C เทียบกับการใช้ formaldehyde (ตาราง 2.9) พบว่าการให้ความร้อนแก่กากถั่วเหลืองทำให้โปรตีนคงทนต่อการย่อยสลายเพิ่มขึ้นตามลำดับ และสูงกว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านความร้อนหลายเท่า โดยการให้ความร้อนแก่กากถั่วเหลือง 140°C ทำให้โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายใกล้เคียงกับการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ และสูงกว่าปลาป่นปกติด้วย

Table 2.7 Results of laboratory analyses of roasted soybeans.

Item	Roasting temperature (°C)					
	99	127	132	143	146	163
Undegradable intake protein (UIP), %	43	48	53	58	60	69
Lipase activity	High	High	Medium	Trace	Trace	None

Source : Reddy *et al.* (1993).

Table 2.8 Average daily gain (ADG) and least squares means of BW gain.

Trial	Diets	ADG (kg)	BW gain (kg)
Trial 1	99°C	$.55^{b}$	30.0^{b}
(6 to 10 wk)	127°C	$.61^{a}$	33.8^{ab}
	143°C	$.69^{a}$	39.2^{a}
Trial 2	132°C	$.49^{b}$	23.3^{b}
(6 to 8 wk)	146°C	$.60^{a}$	27.7^{a}
	163°C	$.40^{c}$	20.1^{c}

Source : Reddy *et al.* (1993).

ตาราง 2.9 สัดส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของโปรตีนบางชนิด และกรรมวิธีที่ใช้ในการลดการย่อยสลาย

ชนิดวัตถุดิบ	สัดส่วนของโปรตีนรวมที่ไม่ถูกย่อยสลาย (%)
ปลาป่น	60
กากถั่วเหลืองไม่ผ่านความร้อน	14
กากถั่วเหลืองผ่านความร้อนแห้ง	
- 120°C	59
- 130°C	71
- 140°C	82
กากถั่วเหลืองที่ผ่านการป้องกันการย่อยสลายด้วย formaldehyde	80

ที่มา : Hillman. (1999) อ้างโดย บุญล้อม (2545).

จากการศึกษาการย่อยสลายของกากเรปซีดที่ผ่านความร้อนชื้น (heat-moisture ; HM) ซึ่งมีจำหน่ายเชิงการค้า (Öpex®) 2 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับกากเรปซีดปกติ พันธุ์ที่ 1 คือ RSM1 กับ RSM2 (HM) และพันธุ์ที่ 2 คือ RSM3 และ RSM4 (HM) พบว่าการใช้ความร้อนชื้นมีผลทำให้ค่าการละลายได้ทันทีของโปรตีน (A), อัตราการย่อยสลายของโปรตีนที่ไม่ละลาย (c) และค่าประสิทธิภาพของการย่อยสลายของโปรตีน (EPD) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทำให้ส่วนของโปรตีนที่ไม่ละลายแต่สามารถหมักย่อยได้ (B) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญดังตาราง 2.10 ผลนี้สอดคล้องกับการให้ความร้อนแห้ง (oven) แก่กากถั่วเหลืองและกากเรปซีดที่อุณหภูมิ 133, 143 และ 153°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงในแกะ พบว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ค่า A และ c ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ค่า B มีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งยังพบว่าทำให้ค่าไนโตรเจนที่ไม่ละลายในกรด (ADIN) และ phytate phosphorus ลดลงทั้งในกากถั่วเหลืองและกากเรปซีด (Konishi *et al.*, 1999)

Table 2.10 Rumen degradation characteristics (g kg^{-1}) of feed protein.

	Feed				Statistical
	RSM1	RSM2 (HM)	RSM3	RSM4 (HM)	significance of HM
A	249	140	317	177	***
B	654	756	602	724	***
c	0.180	0.105	0.157	0.118	***
EPD	700	570	712	605	***

*** P<0.001

Source : Vanhatalo *et al.*(1995).

จากการทดลองเปรียบเทียบ canola ทั้งเมล็ด (WCS), กาก canola (CM), extruded CM (ECM), extruded WCS (EWCS), Jet-Sploded WCS (JWCS) ซึ่งใช้ความร้อนประมาณ 121°C, Protec® (WCS และ CM ที่ผ่านการป้องกันการย่อยสลายด้วยฟอร์มัลดีไฮด์), กากถั่วเหลือง (SBM) และ extruded SBM (ESBM) พบว่าการใช้ความร้อนมีผลทำให้โปรตีนถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (RDP) ลดลงและมีการย่อยสลายในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น โดย JWCS และ Protec® มีค่า RDP ต่ำที่สุดแต่มีค่า D-UDP สูงที่สุดดังภาพ 2.8 และจากการทดลองใช้กระบวนการ Jet-Sploding กับ canola ทั้งเมล็ดที่อุณหภูมิระหว่าง 116-177°C พบว่าทำให้การย่อยสลายของวัตถุแห้งลดลงจาก 80.5 เป็น 35.9 และการย่อยสลายของโปรตีนรวมลดลงจาก 83.5 เป็น 43.2 ที่อัตราการไหลผ่านจากกระเพาะรูเมน .08 h^{-1} (Deacon *et al.*, 1988)

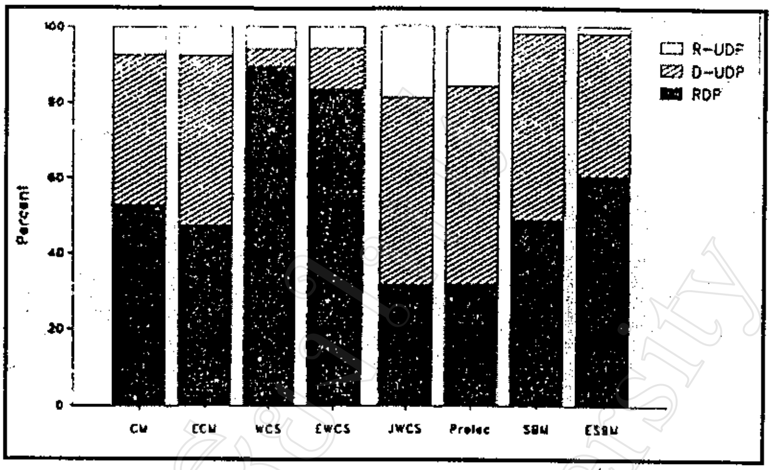


Figure 2.8 Relative proportion of rumen degradation crude protein (RDP), rumen undegradable crude protein (UDP) disappearing in the intestine (D-UDP) and residual UDP (R-UDP) for canola meal (CM),extruded CM (ECM), whole canola seed (WCS), extruded WCS (EWCS), Jet-Sploded WCS (JWCS), Protec®, soybean meal (SBM), and extruded SBM samples incubated in the rumen for 8 h (Deacon *et al.*, 1988)

การทดลองโดยใช้ pressure toasting กับ whole horse beans ที่อุณหภูมิ 100, 118 และ 136°C เป็นเวลา 3, 7, 15 และ 30 นาที พบว่าทำให้การย่อยสลายของโปรตีนรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้อุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยค่าการละลายลดลงจาก 64.2% ในกลุ่มควบคุมเป็น 31.3% ในกลุ่มที่ใช้อุณหภูมิ 136°C เป็นเวลา 15 นาที ส่วนอัตราการย่อยสลายของทั้ง 2 กลุ่มลดลงจาก 7.37% เป็น 1.7% ซึ่งมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ bypass crude protein เพิ่มขึ้นจาก 17.3% (47.2 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็น 53.4% (147.8 กรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับประสิทธิภาพการย่อยสลายได้เพิ่มขึ้นจาก 34.0% เป็น 69.0% ดังภาพ 2.9

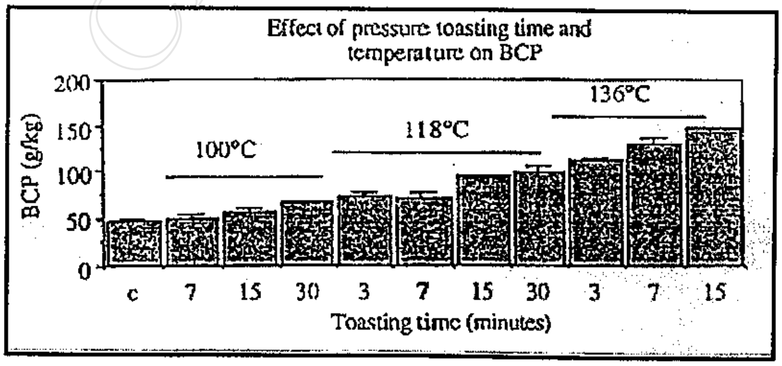


Figure 2.9 Effect of pressure toasting on bypass crude protein (BCP, g/kg) of whole horse beans (Yu *et al.*, 1996)

การทดลองให้ความร้อนแก่เมล็ดฝ้ายที่อุณหภูมิ 140, 160 และ 180°C เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าทำให้การละลายได้ของไนโตรเจนลดลง และมีไนโตรเจนที่ไม่ละลายในกรดเพิ่มขึ้นตามการใช้อุณหภูมิสูงขึ้นดังตาราง 2.11 นอกจากนี้ยังทำให้การย่อยสลายในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น (Arieli *et al.*, 1989)

Table 2.11 Effect of temperature and duration of heat treatment on nitrogen solubility and detergent insoluble nitrogen of whole cottonseed nitrogen.

Treatment temperature and duration	N Solubility	ADIN
	%	
Control	38.3[a]	8.3[a]
140°C/1 h	15.0[b]	9.2[a]
140°C/2 h	9.4[c]	11.6[ab]
160°C/1 h	8.4[cd]	15.1[b]
160°C/2 h	7.2[cde]	26.5[c]
180°C/1 h	8.5[cd]	28.9[c]
180°C/2 h	11.3[c]	42.2[d]

[a,b,c,d,e]Means in columns with different superscripts differ (P<.05).

Source : Arieli *et al.* (1989).

การใช้สารเคมี (chemical treatment) หรือใช้สารบางอย่างช่วยในการเคลือบโปรตีน

สารเคมีที่ใช้ป้องกันการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมนมีหลายชนิดเช่น formaldehyde, tannin, formic, glyoxal, glutaraldehyde (Ortega-Cerrilla *et al.*, 1999), volatile fatty acid, alcohol, lignosulfonate (heated with sulfite liquor and xylose) NaOH (Santos *et al.*, 1998) cation เช่น zinc, reducing sugar และ bentonite clay เป็นต้น ส่วนสารอื่น ๆ ที่ช่วยเคลือบโปรตีนไว้ ได้แก่ fat (Rossi *et al.*, 1999), blood, albumin, Ca-soap, wood molasses, egg white หรือ whey protein ฯลฯ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้โดยการ spray (Atwal *et al.*, 1995) แต่สารที่นิยมใช้กันมากคือ formaldehyde และ tannin โดย Ferguson *et al.* (1967) ได้รายงานว่าการใช้สารเคมีในกลุ่มของ aldehydes เช่น acetaldehyde, glutaraldehyde, glyoxal และ formaldehyde พบว่า formaldehyde มีประสิทธิภาพในการป้องกันโปรตีนจากการย่อยสลายในรูเมนได้ดีที่สุด

สารเคมีที่ใช้ป้องกันโปรตีนไม่ให้ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนนั้น จะไปสร้างพันธะ (cross-linkages) กับกรดอะมิโนและกลุ่มเอไมด์ (amide) ของโปรตีนจึงทำให้การละลายของโปรตีนภายใต้สภาวะ pH ในกระเพาะรูเมนลดลง แต่เนื่องจากปฏิกิริยานี้ย้อนกลับได้ พันธะดังกล่าวจึงถูกทำลายที่สภาวะเป็นกรดในกระเพาะแท้ของสัตว์ ทำให้โปรตีนถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Chalupa, 1974)

ฟอร์มัลดีไฮด์ เป็นสารประกอบอัลดีไฮด์ที่มีสูตรทางเคมี คือ HCHO มีสถานะเป็นก๊าซ ไม่มีสี มีน้ำหนักโมเลกุล 30.03 กรัมต่อโมล ละลายได้ดีในน้ำที่อุณหภูมิห้อง ฟอร์มัลดีไฮด์ที่อยู่ในรูปสารละลาย เรียกว่า ฟอร์มาลิน มีฟอร์มัลดีไฮด์อยู่ 37 - 50% โดยน้ำหนัก มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และสามารถลดการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมนได้ โดยฟอร์มัลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยากับโปรตีนกลายเป็นสารประกอบ methylol compound ซึ่งเป็นการจับกันแบบ methylene cross-linkages ภายในสายโซ่ของโปรตีน (protein chain) ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าไปย่อยโปรตีนเหล่านี้ได้ แต่การจับกันระหว่างฟอร์มัลดีไฮด์กับโปรตีนสามารถแยกออกจากกันได้ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะแท้ (abomasum) ทำให้เอนไซม์จากตัวสัตว์สามารถย่อยโปรตีนเหล่านี้ได้ (Barry, 1976) ซึ่งเหตุผลนี้สอดคล้องกับ Metcalf (2001) ที่พบว่าเอนไซม์ peptidase ไม่สามารถย่อย methylene bridge ของฟอร์มัลดีไฮด์กับโปรตีนได้ดังภาพ 2.10 แต่เมื่อผ่านไปถึงที่กระเพาะแท้ซึ่งมีสภาพเป็นกรด (pH 2.2) เส้นสายโมเลกุลของโปรตีนจะคลายออก ทำให้เอนไซม์ protease เข้าย่อยได้อย่างสมบูรณ์ ดังภาพ 2.11

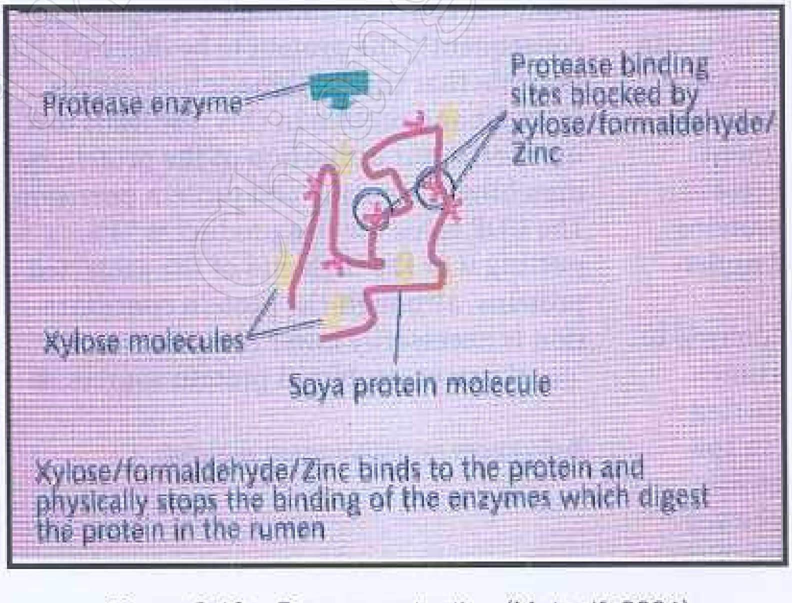


Figure 2.10 – Rumen protection (Metcalf, 2001)

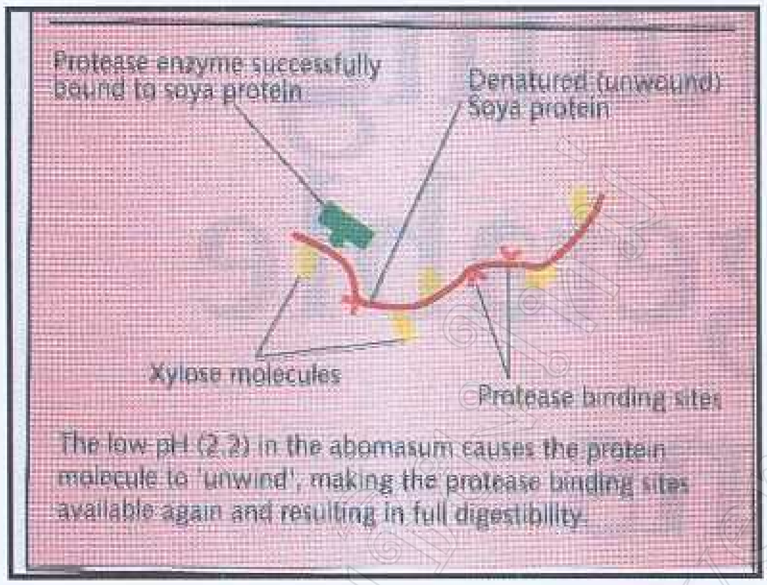


Figure 2.11 – After the rumen (Metcalf, 2001)

Nitchman *et al.* (1943 อ้างโดย Ørskov,1992) ได้เริ่มศึกษาวิธีการป้องกันไม่ให้โปรตีนย่อยสลายในกระเพาะรูเมนโดยใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ ซึ่งต่อมาได้นิยมกันอย่างแพร่หลาย

Kaufmann and Luepping (1982) ทดลองใช้ฟอร์มัลดีไฮด์กับกากถั่วเหลืองในระดับ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง พบว่าระดับที่เหมาะสมคือ 2 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง เพราะถ้าใช้เกินนี้ก็ไม่ทำให้การละลายได้หรือปริมาณแอมโมเนียลดลงมากกว่านั้น แต่จะทำให้การย่อยได้ในลำไส้เล็กลดลง ดังแสดงในภาพ 2.12, 2.13 และ 2.14 แต่ถ้าใช้ในปริมาณต่ำกว่านี้จะทำให้มีโปรตีนจากอาหารไปถึงลำไส้เล็กลดลง ดังในภาพ 2.15

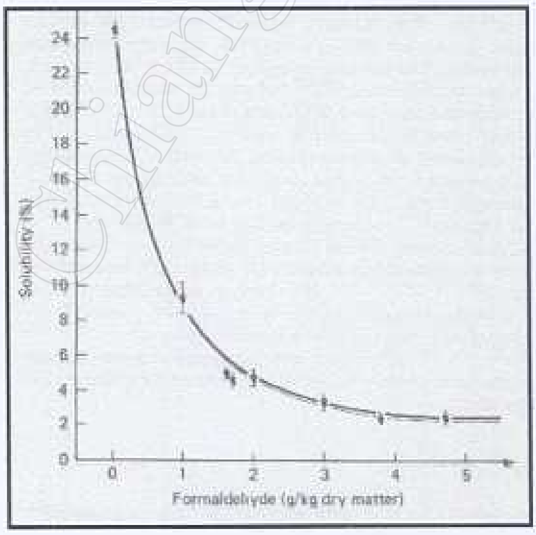


Figure 2.12 Effect of formaldehyde on the solubility of soya protein in phosphate buffer (Kaufmann and Luepping, 1982)

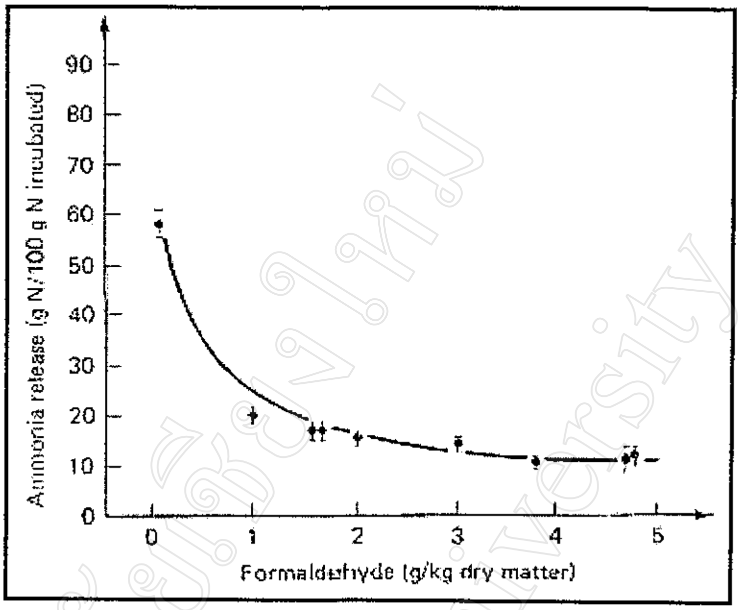


Figure 2.13 Effect of formaldehyde treatment of soya protein on the release of ammonia during incubation with rumen fluid *in vitro* (Kaufmann and Luepping, 1982)

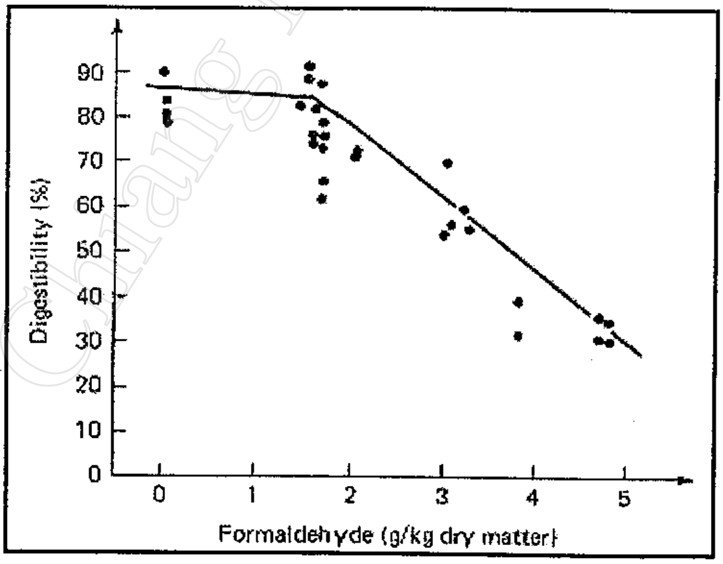


Figure 2.14 Effect of formaldehyde treatment of soya protein on its digestion in the intestines after infusion into the abomasum (Kaufmann and Luepping, 1982)

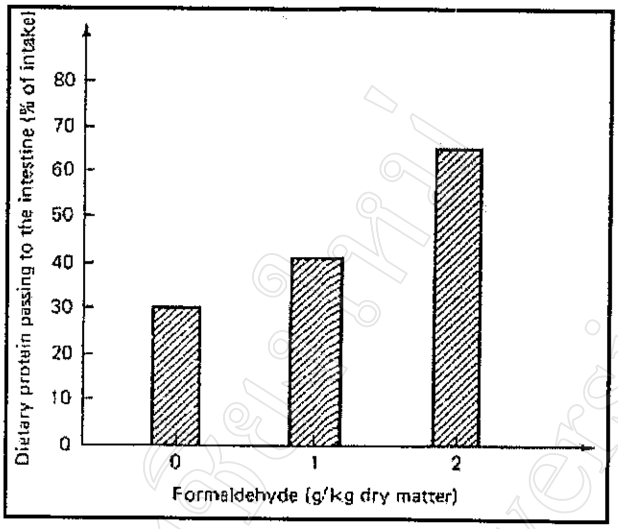


Figure 2.15 Effect of formaldehyde treatment of soya protein on the percentage of soya protein passing to the intestines (Kaufmann and Luepping, 1982)

การศึกษาการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ระดับ 1.1% ของกากถั่วเหลืองและกากเมล็ดทานตะวัน พบว่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนและเซลลูโลสในกากถั่วเหลืองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังตาราง 2.12 ส่วนการใช้ในระดับ 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 % กับกากถั่วเหลือง และกากเมล็ดทานตะวันโดยใช้เทคนิค *In vitro rumen microbial and enzymatic degradation studies* พบว่าเมื่อระดับฟอร์มัลดีไฮด์สูงขึ้นทำให้การละลายได้ของโปรตีนและการปลดปล่อยแอมโมเนียลดลง ดังภาพ 2.16 และ 2.17 เป็นผลให้ไนโตรเจนในปัสสาวะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยการทรีตกากถั่วเหลืองจะได้ผลดีกว่ากากทานตะวัน

Table 2.12 Apparent digestion coefficients from weathers receiving untreated and formaldehyde treated sunflower meal and soybean meal supplemented diets.

Component	Protein treatment			
	Untreated SBM	Formaldehyde-treated SBM	Untreated SFM	Formaldehyde-treated SFM
Crude protein	56.9^c	37.8^d	59.2^c	58.8^c
Cellulose	35.3^c	31.9^d	44.2^c	39.2^c
Dry matter	66.2	59.9	66.2	64.8

^{c,d}Means on same line with different superscripts are significantly different (P<.05).

Source : Amos *et al.* (1974)

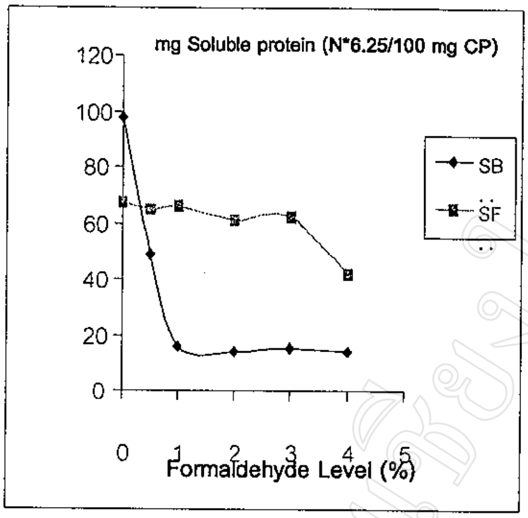


Figure 2.16 Changes in enzyme soluble crude protein with increasing levels of formaldehyde treatment (Amos *et al.*, 1974)

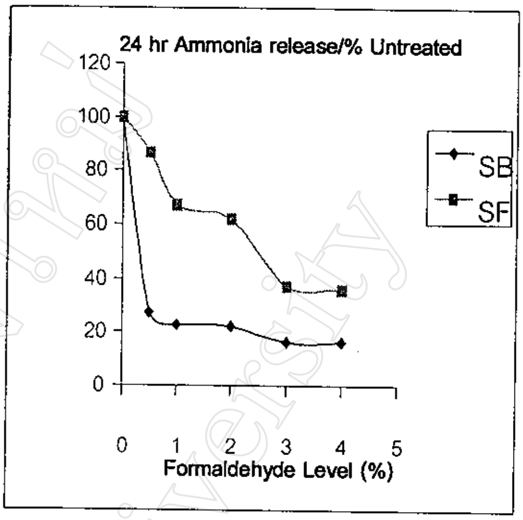


Figure 2.17 Changes in microbial NH_3 release with increasing level of formaldehyde treatment.

ในการศึกษาการใช้ formaldehyde ที่ 0, 0.3, 0.6 และ 0.9% ของน้ำหนักกากถั่วเหลือง พบว่าเมื่อใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ระดับสูงขึ้นจะทำให้ค่าโปรตีนรวมที่เหลืออยู่ในถุง nylon เพิ่มขึ้นแสดงว่ามีการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลงดังตาราง 2.13 ผลนี้ที่สอดคล้องกับการใช้ formaldehyde กับกากถั่วเหลืองและกากเรปซีดระดับ 0.6% ของโปรตีนรวม (Jian-Xin *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (air dry) มีผลทำให้ค่า A คือส่วนที่ละลายได้ทันทีมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<.05) และทำให้การย่อยได้ของไฟเตท (phytate) ในกระเพาะรูเมนลดลงด้วย ทั้งในกากถั่วเหลืองและกากเรปซีด (Park *et al.*, 1999)

Table 2.13 Proportions of dry matter and crude protein remaining in polyester bags after 12 hours of rumen incubation.

Soybean meal	%Remaining in bag	
	Dry matter	Crude protein
0F[1/]	34.8	51.8
0.3F[1/]	65.2	92.7
0.6F[1/]	68.0	90.6
0.9F[1/]	70.3	94.2

[1/] g formaldehyde/100 g SBM **Source :** Crooker *et al.* (1986)

Folman *et al.* (อ้างโดย Harris, 1992) ได้ศึกษาผลการใช้กากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ในสูตรอาหารข้นที่มีโปรตีน 16% และ 20.3% โดยสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ให้เท่ากับ 22:78 พบว่าการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ทำให้มีโปรตีนไหลผ่านสูงขึ้น ส่งผลให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นและทำให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ดีขึ้นดังตาราง 2.14

Table 2.14 The effect of formaldehyde treatment and two levels of protein on certain reproductive parameters.

Measurement	**Ration crude protein (%)**		
	16.0-F	**16.0**	**20.3**
Days Open	84	98	102
Days to first standing estrus	37	40	38
Service/conception	1.45	1.79	2.25
Conception rate (%)	69.0	56.0	44.0
Milk production (lb)	89.0	85.6	84.5

Source : Harris. (1983)

ในกรณีของพืชชนิดอื่น เช่น lupines, peas, rapeseed meal และ field beans พบว่าการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ระดับ 30 และ 40 กรัมต่อกิโลกรัมของโปรตีน ทำให้การย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลงอย่างมาก และทำให้การย่อยได้ของโปรตีนในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Antoniewicz *et al.*, 1992) สำหรับการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์กับกากมัสตาร์ด กากถั่วลิสง กากงา และกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีนรวมเมื่อบ่มกับสารละลายน้ำลายเทียม (artificial saliva) พบว่าทำให้การละลายของไนโตรเจนมีค่าลดลงเป็น 57, 68, 35 และ 42% ตามลำดับ (Gupta, 1985) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้กับ casein และกากถั่วลิสง ทำให้มีกรดอะมิโนไปถึงลำไส้เล็กมากขึ้นและมีระดับกรดอะมิโนในพลาสมาสูงขึ้น ส่งผลให้น้ำหนักตัวของแกะเพิ่มขึ้นด้วย (Faichney, 1974)

Tewatia *et al* (1995) รายงานว่าการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์กับ faba beans ที่ระดับ 0.43 และ 0.54 กรัมต่อ 100 กิโลกรัมของโปรตีนรวม ช่วยเพิ่มการผลิตน้ำนมของแพะนมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการใช้ฟอร์มาลิน 175 มิลลิลิตรต่อ 50 กิโลกรัมของ cotton seed cake พบว่าทำให้ความเข้มข้น

ของแอมโมเนีย และการย่อยสลายของวัตถุแห้งและโปรตีนรวมในรูเมนลดลง (Kimambo *et al.*, No date) การใช้ formaldehyde กับข้าวบาเล่ย์ ที่ระดับ 10, 20 และ 30 กรัมต่อกิโลกรัมของโปรตีนรวม พบว่าทำให้การย่อยสลายของวัตถุแห้ง แป้งและไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนลดลงตามระดับการใช้ที่เพิ่มขึ้น (Ortega – Cerrilla *et al.*, 1999) จากรายงานที่รวบรวมมาจะเห็นได้ว่าระดับฟอร์มัลดีไฮด์ที่ใช้ได้ผลในการทดลองต่าง ๆ นั้น มีค่าแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ เช่น วิธีการใช้ สถานะที่ใช้ว่าอยู่ในรูปแก๊สหรือของเหลว ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในอาหาร ขนาดของชิ้นอาหาร เป็นต้น ถ้าใช้ในระดับสูงเกินไป อาจเกิดกระบวนการ overprotection คือโปรตีนไม่สามารถละลายได้เลยไม่ว่าในส่วนไหนของทางเดินอาหาร ทำให้สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้

สำหรับกรณีของกากถั่วเหลืองมีแนวโน้มว่าการใช้ formaldehyde ที่ระดับต่ำกว่า 0.3% ของโปรตีนรวม ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำนมและปริมาณโปรตีนในนม ส่วนการใช้ 0.3-1.2% ให้ผลเป็นไปในทางบวก (positive) โดยการใช้ที่ระดับ 0.4% ของโปรตีนรวมในกากถั่วเหลืองได้ผลดีที่สุด แต่ถ้าใช้มากกว่า 1.2% จะให้ผลในทางลบ (negative) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฟอร์มัลดีไฮด์ส่วนที่เหลือจากการสร้างพันธะกับโปรตีน อาจไปรบกวนกระบวนการหมักของแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนและเกิดปฏิกิริยาที่เรียกว่า over-protection ดังได้กล่าวมาแล้ว (Kaufmann, 1979)

จากการทดลองใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ทรีตโปรตีนจากสัตว์ เช่น casein หรือ whey protein ก็พบว่าได้ผลดีเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแง่การสร้างขน (Chalupa, 1974) โดยมีอัตราการสร้างขนสูงกว่ากลุ่มควบคุม 62% (Reis and Tunks, 1969)

นอกจากการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ทรีตวัตถุดิบอาหารข้นแล้ว ยังมีการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์กับพืชหมักโดยเฉพาะหญ้าและถั่ว ที่ไม่ได้ผึ่งให้เหี่ยวด้วย (little or no wilting) เนื่องจากมีประโยชน์ 2 ประการ คือ 1. ยับยั้งกระบวนการย่อยโปรตีน (proteolysis) ในระหว่างการหมัก และ 2. ป้องกันโปรตีนของพืชหมักจากการย่อยสลายในรูเมน (Siddon *et al.*, 1979; Tamminga, 1979) การใช้ฟอร์มัลดีไฮด์กับพืชหมักนี้อาจใช้ร่วมกับกรดฟอร์มิก เพราะมีฤทธิ์ส่งเสริมกัน (Siddon *et al.*, 1979) ในการลด pH ของพืชหมัก ช่วยควบคุมสภาพการหมัก และยับยั้งกระบวนการ autolysis ของโปรตีนด้วย

อย่างไรก็ดีเนื่องจากฟอร์มัลดีไฮด์มีความเป็นพิษ เมื่อสูดดมเข้าไปจะทำให้ระคายเคืองตา, โพรงจมูก และลำคอ ในคนถ้าได้รับเข้าไปในระดับสูงจะทำให้เกิดอาการไอ หายใจลำบาก เจ็บหน้าอก และหลอดลมอักเสบ แต่ถ้าได้รับโดยการกินจะทำให้เกิดการกัดกร่อนและอักเสบของทางเดินอาหาร เกิดบาดแผลในช่องปาก หลอดอาหาร และกระเพาะอาหาร ดังนั้นการใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ควรต้องทำด้วยความระมัดระวัง

สำหรับ tannin นั้น พบว่าพืชที่มี tannin สูงจะทนทานต่อการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน เพราะ tannin มี phenolic-hydroxy groups ซึ่งสามารถทำให้เกิดพันธะ (cross-linkages) ระหว่างโปรตีนกับโมเลกุลอื่น ๆ โดยปฏิกิริยาดังกล่าวมี 2 แบบ คือ hydrolysis ซึ่งสามารถเกิดย้อนกลับได้ในสภาพเป็นกรดของกระเพาะแท้ และ condensation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ อย่างไรก็ดีการใช้ tannin ป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนพบว่าได้ผลน้อยมาก (Ørskov, 1992) มีรายงานว่า การเสริมสาร ionophores เช่น Bovatec (lasalocid) และ Rumensin (monensin) มีผลทำให้การย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลง และเพิ่มโปรตีนไหลผ่านได้ถึง 25% (Ensminger *et al.*, 1990)

การป้องกันกรดอะมิโนไม่ให้ถูกย่อยสลายในรูเมน

นอกจากจะพยายามหาวิธีป้องกันไม่ให้โปรตีนถูกย่อยสลายในรูเมนเกินความจำเป็น เพื่อให้การใช้ประโยชน์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดแล้ว ในต่างประเทศยังได้มีการทดลองเสริมกรดอะมิโนลงในอาหารด้วย ทั้งนี้เพราะในโคที่ให้ผลผลิตสูงมาก ๆ นั้น ความต้องการโปรตีนมีมากทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ จึงอาจทำให้ขาดกรดอะมิโน เช่น methionine, lysine, histidine, phenylalanine และ branch-chain amino acids ได้ แต่ถ้าจะใช้กรดอะมิโนเหล่านี้เสริมลงในอาหารตามปกติ ก็อาจจะเกิดการสลายตัวไปในกระเพาะรูเมน เป็นเหตุให้ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นจึงต้องทำการป้องกันไม่ให้มันสลายตัวในกระเพาะส่วนหน้าเสียก่อน (บุญล้อม, 2527) ซึ่งอาจทำได้โดย

1. ทางวิธีกล (mechanical process) โดยการเคลือบหรือผสมกับสารที่มีไขมันหรือกรดไขมันเป็นองค์ประกอบ และอาจเติม carbonates, kaolin, lecithin, glucose ฯลฯ ลงไปด้วยก็ได้

2. โดยทางเคมี (chemical process) ซึ่งทำให้โครงสร้างของกรดอะมิโนเปลี่ยนไปเล็กน้อย เช่นเติม hydroxy methyl group เข้ามา (โดยทำปฏิกิริยากับ formaldehyde) หรือโดยการ esterification และ polymerization ก็ได้

Methionine และ lysine เป็นกรดอะมิโนที่มักมีปริมาณต่ำในพืชอาหารสัตว์ โดย methionine เป็นกรดอะมิโนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องมักแสดงอาการขาดเป็นอันดับแรก (first-limiting amino acid) และเป็นตัวให้ CH_3 (methyl group) ในปฏิกิริยา transmethylation ของการสังเคราะห์ไขมันนม ส่วน lysine เป็นกรดอะมิโนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องมักแสดงอาการขาดเป็นอันดับที่สอง (second-limiting amino acid) และยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในน้ำนม ดังนั้น methionine จึงเป็นกรดอะมิโนที่นิยมนำมาผ่านกระบวนการป้องกันการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในรูเมน (ruminally protected methionine) ซึ่งในปัจจุบันมีการผลิตออกมาจำหน่ายในทางการค้าแล้ว

การทดลองโดยใช้ methionine ที่ถูก protected ทั้งโดยวิธีการทางเคมีและทางวิธีกลให้แก่โคนม 46 ตัว และโคสาว 40 ตัว ที่อยู่ในช่วง 3-4 เดือนแรกของการให้นม โดยให้โคได้รับ DL-methionine 13-15 กรัมต่อวัน พบว่าโคจะให้นมเพิ่มขึ้นประมาณ 8% แต่เปอร์เซ็นต์โปรตีนในนมไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังตาราง 2.15 และภาพ 2.18 ส่วนในกรณีของโคขุนพบว่าการให้ protected methionine จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการกักเก็บไนโตรเจนไว้ในร่างกายดีขึ้น ดังผลการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่านที่รวบรวมไว้โดย Kaufmann and Lüpping (1982) ดังตาราง 2.16

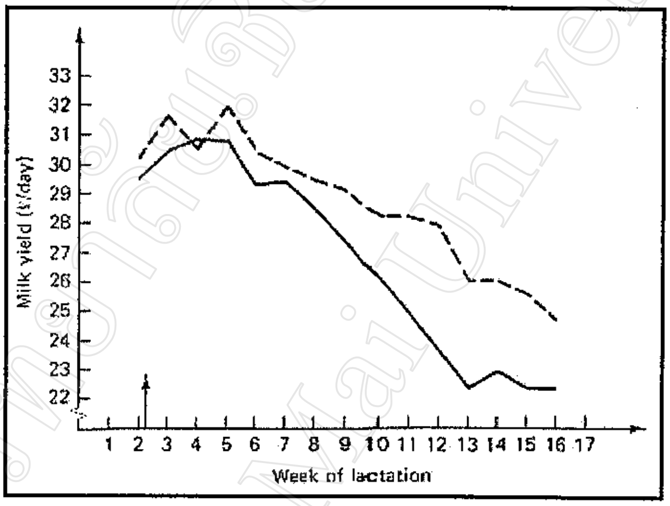


Figure 2.18 Effect of protected methionine (Loprotin) on the milk yield of cows:——, (control diet) ;------ , (protected methionine);↑, commencement of feeding protected methionine (Kaufmann and Lüpping, 1982)

จากการทดลองเสริม ruminally protected lysine and methionine (RPLM) 50 กรัมต่อวันในรูป capsule (Protected L-Lys•HCl 19 กรัมต่อวันและ DL-Met 6.5 กรัมต่อวัน) พบว่ามีผลทำให้โปรตีนในนม ไขมันนม พลังงานในน้ำนม และ body condition score ของโคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Robinson *et al.*, 1995) ซึ่งสอดคล้องกับการเสริม ruminally protected methionine (RPM) 20 กรัมต่อวัน ที่ทำให้ผลผลิตน้ำนมและปริมาณน้ำนมที่ปรับให้มีไขมัน 3.5% เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Overton *et al.*, 1997) แต่ขัดแย้งกับการเสริม ruminally protected lysine (RPL) 21 กรัมต่อวัน และ RPLM ที่มี lysine 22 กรัมต่อวันและ methionine 6 กรัมต่อวัน ซึ่งพบว่าทำให้การกิน NDF เพิ่มขึ้น แต่การกินโปรตีนรวมลดลงและไม่มีผลต่อการผลิตน้ำนม (Robinson *et al.*, 1998) นอกจากนี้ Bateman *et al.* (1999) ยังพบว่าการใช้ protected DL-met และ lys-HCl ที่ระดับ 10 และ 25 กรัมต่อวันไม่มีผลต่อการผลิตน้ำนมเช่นกัน

Table 2.15 Effect of protected methionine on the milk yield and the milk composition.

	No. of animals	Milk yield (kg/day)	Milk protein (g/day)	Protein content (%)
Cows				
Trial I – Control	9	25.4	780	3.13
- HMM-Ca	17	27.3	870	3.23
Trial II - Control	10	26.5	880	3.35
- Loprotin	10	28.5	937	3.30
Heifers				
Trial I - Control	13	18.1	590	3.30
- HMM-Ca	7	19.9	630	3.20
Trial II – Control	10	22.4	735	3.30
- Loprotin	10	23.8	765	3.25

I: 3^{rd}-14^{th} lactation week. II: 3^{rd}- 16^{th} lactation week.

HMM-Ca: Hydroxymethylmethionine calcium;Degussa, Hanau, West Germany.

Loprotin: Physically protected methionine;Lohmann, Cuxhaven, West Germany.

Source : Kaufmann and Lüpping. (1982).

Table 2.16 Results of feeding trials using protected methionine for the growth of cattle.

No. of animals	Daily gains (g)		N retention		Weight Range (kg)
	Control	Protected	Control	Protected	
24 bulls	1182	1333	31.6	40.5	150-400
100 heifers	740	900			250
6 steers			27.3	30.0	200
8 steers			30.0	32.1	180
10 steers	1084	1180			300-400

Source : Kaufmann and Lüpping. (1982).

การเสริม methionine ในรูป capsule (encapsulated) ให้แก่แกะที่ระดับ 2, 4 และ 6 กรัมต่อวัน พบว่าที่ระดับ 2 และ 6 กรัมต่อวันทำให้ไนโตรเจนที่กักเก็บไว้ (N retained) และ methionine ในพลาสมาสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอีกการทดลองใช้ methionine ที่ระดับ 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.2% ของน้ำหนักอาหาร พบว่าที่ระดับ 0.8 และ 1.2% ทำให้มี methionine ในพลาสมาสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Chalupa, 1974)

การใช้ protected methionine and lysine ทดแทนโปรตีนในสูตรอาหารทำให้การกินไนโตรเจนลดลง 35% และ ทำให้ไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะลดลง 48% (Kohn, 1999) ทั้งยังใช้ในปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้แหล่งของ methionine จากวัตถุดิบอื่น เช่น ถ้าต้องการ bypass methionine 10 กรัมต่อโค 1 ตัว จะใช้ผลิตภัณฑ์ protected amino acid 14 กรัม ในขณะที่ต้องใช้ corn gluten meal ถึง 1.13 กิโลกรัม (RPAAs, 2001) อีกทั้งพบว่าการใช้ methionine hydroxy analog ทำให้เพิ่มเปอร์เซ็นต์ไขมันในนมจาก 3.7% เป็น 4.0% โดยมีปริมาณไขมันนมเพิ่มจาก 1.16 กิโลกรัมเป็น 1.36 กิโลกรัม (Rode and Koenig, No date)

วิธีประเมินค่าการย่อยสลายในลำไส้เล็ก

การทราบตำแหน่งการย่อยได้ของวัตถุดิบอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ถือว่าเป็นข้อมูลสำคัญในการตัดสินใจเลือกชนิดของวัตถุดิบ เพื่อประกอบสูตรอาหาร การศึกษาการย่อยได้ในรูเมนนิยมใช้วิธี nylon bag (*in situ* ; *in sacco*) technique ซึ่งริเริ่มโดย Mehrez and Ørskov (1977, อ้างโดย Ørskov, 1992) Cone *et al.* (2002) ได้ศึกษาการย่อยสลายของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในกระเพาะรูเมนด้วยวิธี nylon bag และการย่อยด้วยเอนไซม์ protease (*S. griseas*) ที่ 24 ชั่วโมงของกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ พบว่ามีค่าของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein) 81% และ 82.1% ตามลำดับ ต่อมาวิธีการ nylon bag ได้พัฒนาดัดแปลงมาใช้ประเมินการย่อยได้ในลำไส้เล็กของโคนมโดย Antoniewicz *et al.* (1992) เรียกว่า mobile nylon bag (MNG) หรือ combined bag (Vanhatalo *et al.*, 1995 ; Sauer *et al.*, 1989; de Bore *et al.*, 1987) มีข้อดีในแง่ที่สามารถประเมินวัตถุดิบจำนวนมาก ๆ แต่ข้อเสียคือต้องมีโคที่เจาะลำไส้เล็กส่วนต้นและใส่ T-type proximal duodenal cannula การวัดการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะแท้และลำไส้เล็กอีกวิธีหนึ่งที่กำลังนิยมกันมากคือ *in vitro* enzymatic technique (three-step procedure) หรือ pancreatin method ซึ่งพัฒนาโดย Calsamiglia and Stern (1995) จากการศึกษากับวัตถุดิบอาหารสัตว์ต่าง ๆ พบว่าการย่อยได้ที่ลำไส้เล็กของกากถั่วเหลืองมีค่า 90% ในขณะที่ Kopecny *et al.* (1998) ได้ค่าที่สูงกว่าคือ 96.74% ซึ่งในวิธีเดียวกันนี้ Huyler

and Kincaid (1999) ศึกษาโปรตีนในสูตรอาหาร และใน by product protein เช่น meat and bone meal, hydrolyzed feather meal, ring dried blood meal และ batch dried blood meal (Howie *et al*., 1996) Mustafa *et al*. (1999) ได้ทำการศึกษากากมัสตาร์ดที่ผ่านความร้อนชื้น พบว่ามีค่าการย่อยได้ของโปรตีนที่ลำไส้เล็ก 51.81% ในขณะที่กากมัสตาร์ดธรรมดามีค่าดังกล่าวเพียง 7.57% เท่านั้น Chiou *et al*. (1999) ได้ประเมินค่าการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลือง, ปลาป่น และกากเมล็ดฝ้าย โดยวิธี *in vitro* enzymatic technique หลังจากการแช่ในกระเพาะรูเมนระยะเวลาต่าง ๆ ดังตาราง 2.17

Table 2.17 The *in vitro* digestibility of undegradable protein from soybean, fish and cottonseed incubated in the rumen for different intervals.

Incubation interval	Soybean meal (%)	Fish meal (%)	Cottonseed meal (%)
0 h	66.18	77.72	96.34
8 h	82.65	74.03	64.87
12 h	95.22	83.77	46.79
24 h	97.83	92.15	45.82

Source : Chiou *et al*. (1999)

Antoniewicz *et al*. (1992) ได้เปรียบเทียบวิธีหาการย่อยได้ในลำไส้เล็กด้วยวิธี mobile bag กับวิธี *in vitro* pepsin pancreatin โดยทำการทดลองกับวัตถุดิบหลายชนิด เช่น ถั่วลูปิน (lupines) ถั่วเมล็ดกลม (pea) กากเรปซีด และ field bean ที่ได้รับการทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ระดับ 10, 20, 30 และ 40 g/kg CP พบว่าวิธีการทั้งสองมีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.001$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่น (r^2) = 0.90 และสามารถทำนายค่าการย่อยได้ (y, %) โดยวิธี nylon bag จากค่าการละลายของวิธี in vitro enzyme (X, %) ได้ดังสมการ $y = 1.01 (\pm0.08)X-0.66(\pm2.69)$, df=18 แสดงว่าวิธีใช้เอนไซม์สามารถประเมินค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กได้ใกล้เคียงกับวิธี mobile bag โดยวิธีใช้เอนไซม์มีข้อดีกว่าในแง่ที่ไม่ต้องใช้โคที่เจาะลำไส้เล็ก ประหยัดค่าใช้จ่ายและแรงงาน และสามารถทำกับตัวอย่างอาหารได้ทีละมาก ๆ

Table 2.18 Degradation rates in the rumen for dry matter and crude protein from untreated, acetic acid, and formaldehyde treated soybean meals.

	Untreated	Acetic acid	Formaldehyde	SE
Dry matter (%/h)	6.5[b]	4.7[c]	1.7[d]	0.2
Crude protein (%/h)	8.7[b]	4.0[c]	0.7[d]	0.6

[b,c,d]Means within a given column with different superscripts differ (P<.01)

Source : Vicini *et al.* (1983)

Table 2.19 Nitrogen content and nitrogen fractions in untreated, acetic acid, and formaldehyde treated soybean meals.

Parameter	Untreated	Acetic acid	Formaldehyde
Nitrogen[a]	7.8	8.5	8.0
Soluble nitrogen[b]	13.1	7.9	2.9
Acid detergent insoluble nitrogen[b]	4.6	2.4	3.0
Available insoluble nitrogen[b,c]	82.3	89.7	94.1

[a]Percent of dry matter. [b]Percent of total nitrogen.

[c]Available insoluble nitrogen = total N – soluble N - ADIN

Source : Vicini *et al.* (1983)

Vicini *et al* . (1983) ได้ทำการศึกษาอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้งและโปรตีนในกระเพาะรูเมนของกากถั่วเหลืองที่ทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ 0.3% หรือกรด acetic 8% พบว่าการทรีตด้วยสารเคมีทั้ง 2 ชนิด ทำให้กากถั่วเหลืองมีอัตราการย่อยสลายในรูเมนต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ทรีต โดยฟอร์มัลดีไฮด์ให้ผลดีกว่ากรดอะซิติก (ตาราง 2.18) เมื่อนำกากถั่วเหลืองที่เหลือจากการบ่มหมักในรูเมนไปย่อยด้วยเอนไซม์ pepsin and pancreatin พบว่ากลุ่มที่ทรีตด้วยสารเคมี มีไนโตรเจนที่ละลายได้และไนโตรเจนที่ทนต่อการย่อยสลายด้วยสารละลาย acid detergent น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ทรีต แต่มีไนโตรเจนที่ไม่ละลายแต่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์สูงกว่า (ตาราง 2.19) โดยกลุ่มที่ทรีตด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ให้ผลดีกว่ากลุ่มที่ทรีตด้วยกรดอะซิติก แสดงว่ากรดอะซิติกสามารถใช้เป็นสารเคมีในการป้องกันการย่อยสลายได้ระดับหนึ่ง แต่ยังให้ผลดีน้อยกว่าฟอร์มัลดีไฮด์ ดังได้กล่าวมาแล้ว