

ผลของการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) และเชื้อรา (*Aspergillus niger*)
ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และজনপ্লদসাত্রของการผลิตแก๊ส

Effect of ethanol waste fermented by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and fungi (*Aspergillus niger*) in total mixed ratio on digestibility *In Vitro* of gas production

วรารังคณา แดงสีแก้ว (Warangkana Daenseekaew)* ดร.ฉลอง วชิราภากร (Dr.Chalong Wachirapakorn)**

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์เศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลหรือกากเอทานอล หลังการหมักด้วยยีสต์ (*Sacharomyces cerevisiae*) และเชื้อรา (*Aspergillus niger*) ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ ต่อการย่อยได้และผลผลิตแก๊สจากกระบวนการหมัก โดยใช้เทคนิคผลผลิตแก๊สในหลอดทดลอง วางแผนงานทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ สูตรอาหารทดลองทั้งหมด 7 สูตร ดังนี้ สูตรอาหารไม่เสริมกากเอทานอลหมัก (Control), กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 5 มิลลิลิตร (T_1), กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 25 มิลลิลิตร (T_2), กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 50 มิลลิลิตร (T_3), กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 5 มิลลิลิตร (T_4), กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 25 มิลลิลิตร (T_5), กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 50 มิลลิลิตร (T_6) จากการศึกษาพบว่า การใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ที่ระดับ 50 มิลลิลิตร (T_3) มีผลผลิตแก๊สสะสมสูงที่สุด ($P < 0.01$) กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 25 มิลลิลิตร (T_2) มีค่าการย่อยได้ในชั่วโมงที่ 24 สูงที่สุด แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ของค่าการย่อยได้ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ระหว่างสูตรอาหารทดลอง

ABSTRACT

The Objective of this study was to determine the effect of waste obtained from ethanol manufacturing or ethanol wastes from cassava after fermented by yeast (*Sacharomyces cerevisiae*) and fungi (*Aspergillus niger*) in total mixed ration (TMR) on digestibility and gas production by using in vitro gas production technique. The experiment was designed in complete randomized design. The dietary treatment including dietary treatment fermented without ethanol waste (Control), Ethanol fermented by yeast 5 ml. (T_1), Ethanol fermented by yeast 25 ml. (T_2), Ethanol fermented by yeast 50 ml. (T_3), Ethanol fermented with fungi 5 ml. (T_4), Ethanol fermented by fungi 25 ml. (T_5), Ethanol fermented by fungi 50 ml. (T_6). The result showed that the gas production of diet treatments containing ethanol fermented by yeast at 50 ml (T_3) was the highest ($P < 0.01$). In vitro dry matter digestibility (IVDMD) was the highest but result of digestibility values were no different ($P > 0.05$) in hours 24 and 48 between dietary treatments.

คำสำคัญ: กากเอทานอล ยีสต์ เชื้อรา

Key words: Ethanol wastes, Yeast, Fungi

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ต้นทุนการผลิตสัตว์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นต้นทุนด้านอาหาร ประกอบกับในปัจจุบันวัตถุดิบอาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้นักโภชนาศาสตร์สัตว์ทำการศึกษาค้นคว้าวัตถุดิบอาหารสัตว์มาทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาแพงเพื่อลดต้นทุนในการผลิต กากเอทานอล (Ethanol wastes from cassava) เป็นเศษเหลือทิ้งที่ได้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง โดยกำลังการผลิตเอทานอลในประเทศไทยอยู่ที่ 1.44 ล้านลิตรต่อวัน ซึ่งกระทรวงพลังงานได้วางมาตรการการใช้พลังงานทดแทนแห่งชาติ เพื่อเพิ่มการผลิตพลังงานทดแทนขึ้น 25 เปอร์เซ็นต์ ใน พ.ศ. 2555 – 2559 ส่งผลให้กำลังการผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 6.2 ล้านลิตรต่อวัน และกำลังการผลิตจะเพิ่มขึ้นเป็น 9 ล้านลิตรต่อวัน ภายในปี พ.ศ. 2565 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2554) จากการเพิ่มกำลังการผลิตเอทานอล ส่งผลให้จำนวนกากเอทานอลเพิ่มขึ้นตามไปด้วย กากเอทานอลมีความชื้นสูง เมื่อทิ้งไว้นานจะเกิดการเน่าเสีย และมีกลิ่นเหม็น วราพันธ์ และสุกัญญา (2551) รายงานว่า กากเอทานอลมีคุณค่าทางโภชนาโดยมีความชื้น 74.92 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 35.72 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 7.27 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.07 เปอร์เซ็นต์ pH 4.17 และคาร์โบไฮเดรต 40-45 เปอร์เซ็นต์ กากเอทานอลเหล่านี้ยังมีคุณค่าทางโภชนาและสามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ อย่างไรก็ตามกากเอทานอลยังมีเยื่อใยอยู่สูง ซึ่งอาจส่งผลต่อการกินได้และการย่อยได้ของสัตว์ จึงได้มีการศึกษาการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของกากเอทานอลโดยการหมัก (Fermentation) ด้วยยีสต์และเชื้อรา จากการรายงานของ Boonnop et al. (2009) ที่ทำการหมักหัวมันสำปะหลังด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นเวลา 5 วัน เสริมด้วยยูเรีย 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มันสำปะหลังหมักมีระดับโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้นเป็น 21.1 เปอร์เซ็นต์ แยกเป็นโปรตีนแท้ 18.9 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนแท้ 2.2 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Kaewwongsa et al. (2011) รายงานว่า การหมักกากมันสำปะหลังหมัก

ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* 5 กรัม เสริมด้วยยูเรีย 10 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 1.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 วัน สามารถเพิ่มระดับโปรตีนหยาบจาก 9 เปอร์เซ็นต์ เป็น 26.4 เปอร์เซ็นต์ โดยมีโปรตีนแท้ 24.7 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนแท้ 1.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้น Oboh et al. (2002) ได้ศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับเชื้อรา *A. niger* และสารละลายแอมโมเนียม 730 มิลลิกรัม (urea 80 กรัม; $MgSO_4 \cdot 2H_2O$ 7 กรัม; KH_2PO_4 13 กรัม; และ citric acid 20 กรัม) หมักเป็นเวลา 3 วัน พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีน จาก 4.4 เป็น 12.2 เปอร์เซ็นต์ การนำกากเอทานอลหมักมาเป็นวัตถุดิบในอาหารผสมสำเร็จสำหรับโคเนื้อ ซึ่งเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ใช้อาหารหยาบคุณภาพต่ำได้สูง นอกจากจะเป็นการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบอย่างมีประสิทธิภาพแล้วยังเป็นการกำจัดของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตสัตว์อีกด้วย

ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการทดลองครั้งนี้ เพื่อศึกษาหาแนวทางการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของกากเอทานอลโดยการหมักด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) และเชื้อรา (*A. niger*) และหาระดับที่เหมาะสมของกากเอทานอลหมักในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สและการย่อยได้ในหลอดทดลอง

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาแนวทางการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาของกากเอทานอลโดยการหมักด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) และเชื้อรา (*A. niger*)
2. เพื่อศึกษาระดับยีสต์และเชื้อราที่เหมาะสมในการหมักกากเอทานอลในการประกอบสูตรอาหารผสมสำเร็จ (TMR) ต่อกระบวนการหมักย่อยในหลอดทดลอง
3. เพื่อใช้ประโยชน์จากสิ่งเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและลดต้นทุนในการผลิตสัตว์

วิธีการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการนำกากเอทานอลที่ได้ปรับปรุงคุณค่าทางโปรตีนโดยการหมักด้วยยีสต์และเชื้อรา มาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อศึกษาผลของการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ และเชื้อรา ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และजनพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส ได้กำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของกากเอทานอลจำนวน 3 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของเชื้อ 2 ชนิด คือ ยีสต์ (*S. cerevisiae*) และเชื้อรา (*A. niger*)

ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับการเสริม 3 ระดับ ได้แก่ 5, 25 และ 50 มิลลิลิตร

ปัจจัยที่ 3 คือ ระดับความชื้น (humidity) 2 ระดับ ได้แก่ 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณความเข้มข้นของยีสต์และเชื้อรา 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำการหมัก 7 วัน โดยจะทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 3, 5 และ 7 วัน เพื่อมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีการ Proximate Analysis เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากเอทานอลที่หมักด้วยยีสต์และเชื้อรา แล้วนั้น ได้ทำการเลือกมาเป็นวัตถุดิบอาหารในสูตรอาหารผสมสำเร็จ (TMR) โดยทำการเลือกจากระดับของโปรตีน (ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2)

การศึกษาผลของการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ และเชื้อรา ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และजनพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) กำหนดสูตรอาหารผสมสำเร็จ (TMR) โดยสูตรอาหารจะมีสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้น 30:70 เปอร์เซ็นต์ มีระดับโปรตีนหยาบ 14 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 2.4 McalME/kgDM (NRC, 1988) สูตรอาหารแต่ละสูตรประกอบไปด้วย กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์หรือเชื้อรา 15 กิโลกรัม มันเส้น 20 กิโลกรัม รำอ่อน 9 กิโลกรัม กากน้ำตาล 5 กิโลกรัม กากปาล์มน้ำมัน 4 กิโลกรัม กาก

ถั่วเหลือง 9 กิโลกรัม น้ำมันพืช 4 กิโลกรัม ยูเรีย 1 กิโลกรัม เกลือ 0.5 กิโลกรัม ไคแคลเซียม 0.5 กิโลกรัม ซัลเฟอร์ 0.5 กิโลกรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 1 กิโลกรัม ฟอสฟอรัส 0.5 กิโลกรัม และฟางข้าว 30 กิโลกรัม ประกอบไปด้วยสูตรอาหารทดลอง (dietary treatment) 7 สูตร จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

อาหารทดลองที่ 1 (C) = TMR + ไม่มีการเสริมกากเอทานอลหมัก (Control)

อาหารทดลองที่ 2 (T_1) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 5 มิลลิลิตร ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองที่ 3 (T_2) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 25 มิลลิลิตร ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองที่ 4 (T_3) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ 50 มิลลิลิตร ความชื้น 80 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองที่ 5 (T_4) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 5 มิลลิลิตร ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองที่ 6 (T_5) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 25 มิลลิลิตร ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองที่ 7 (T_6) = TMR + กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา 50 มิลลิลิตร ความชื้น 80 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อราและยีสต์

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* บนอาหาร Potato Dextrose Ager (PDA) ในจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเชื้อราสร้างสปอร์เต็มจานเพาะใช้เวลาประมาณ 7 วัน จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลาย Tween 80 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้วที่ 121°C ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำหลอดเชื้อชุดสปอร์เชื้อราออกจากอาหาร PDA จะทำให้ได้น้ำหัวเชื้อราออกมา นำน้ำหัวเชื้อรามาใช้ในการทดลองต่อไป

เตรียมหัวเชื้อยีสต์ โดยการนำผงยีสต์จำนวน 20 กรัม ผสมร่วมกับน้ำตาล 20 กรัม เติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ โดยใช้กากน้ำตาล 24 กรัม ร่วมกับยูเรีย 48 กรัม เติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ทำการปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วง 3.5 – 5 โดยใช้กรด H_2SO_4 หลังจากนั้น นำหัวเชื้อยีสต์ที่ทำการกระตุ้นไว้ แล้วนำมาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้อากาศโดยใช้เครื่องปั๊มออกซิเจน บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ขั้นตอนการหมักกากเอทานอล

1. นำกากเอทานอลที่มีความชื้นสูงนำไปตากแดดที่อุณหภูมิ 40-50 °C เป็นเวลา 3 วัน เพื่อป้องกันการเน่าเสีย และนำมาบด เพื่อลดขนาดให้เล็กลง
2. นำกากเอทานอลที่เตรียมไว้ลงในถังหมัก ถึงละ 1 กิโลกรัม
3. ใส่ยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์, กากน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์, แป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายแร่ธาตุ ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 7 กรัม และ H_2PO_4 13 กรัม) ในทุกทริทเมนต์ เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน และพลังงานให้กับยีสต์และเชื้อรา
4. เติมน้ำ 657 ml. ในระดับความชื้น 60 % และเติมน้ำ 920 ml. ในระดับความชื้น 80% ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 3.5 – 5 โดยใช้กรด H_2SO_4
5. ปรับระดับความเข้มข้นของจำนวนเชื้อรา และยีสต์ด้วยน้ำกลั่นให้อยู่ระดับ 1×10^8 สปอร์ต่อ มิลลิลิตร จากนั้นใส่น้ำเชื้อราและยีสต์ลงในถังหมักผสมตามทริทเมนต์ที่กำหนดผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน

6. ใช้ผ้าขาวบางชุบแอลกอฮอล์คลุมปากถังแล้วปิดฝาถังให้แน่น หมักไว้เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นนำกากเอทานอลหมักที่ได้มาตากแดดที่อุณหภูมิ 40-50 °C เป็นเวลา 3 วัน

หมายเหตุ : วิธีการหมักคัดแปลงจาก อุษณีย์ภรณ์ (2550): Oboh et al. (2002)

การศึกษาจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊ส

(kinetics of gas production)

ดัดแปลงวิธีจาก Menke and Steingass (1988) โดยการศึกษาการผลิตแก๊สใช้ตัวอย่างอาหาร 0.2 กรัม ใส่ลงในขวดวัดขึ้นขนาด 50 มิลลิลิตร บรรจุสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมนจากโคเนื้อเจาะกระเพาะ

เพศผู้จำนวน 2 ตัว แล้วมาผสมภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนในขวดที่บรรจุสารอาหารทดลองขวดละ 45 มิลลิลิตร พร้อมทั้งปิดจุกยางและฝารอบอะลูมิเนียมให้สนิท แล้วนำเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ทำการจดบันทึกปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น โดยใน 6 ชั่วโมงแรกทำการบันทึกผลทุกๆ ชั่วโมง ต่อมาบันทึกผลทุกๆ 3 ชั่วโมงไปจนถึงชั่วโมงที่ 24 จากนั้นทำการจดบันทึกทุกๆ 6 ชั่วโมงไปจนถึงชั่วโมงที่ 72 และทำการบันทึกผลครั้งสุดท้ายในชั่วโมงที่ 96 นำค่าที่ได้มาคำนวณหาผลผลิตแก๊สและคำนวณหาค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งในชั่วโมงที่ 24 และ 48 การคำนวณหาผลผลิตแก๊สสามารถคำนวณได้ตามวิธีการของ Fievez et al. (2005) โดยนำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาหาค่าคงที่ a, b และ c โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1985) เพื่ออธิบายจลนพลศาสตร์ของการผลิตแก๊สตามแบบจำลองสมการของ Ørskov and McDonald (1979) ดังนี้

$$y = a + b [1 - \exp^{-ct}]$$

เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t
 a = ปริมาณแก๊สที่ผลิตได้จากส่วนที่ละลายน้ำได้ง่าย (มิลลิลิตร)

b = ปริมาณผลผลิตแก๊สที่ผลิตได้จากส่วนที่ละลายน้ำได้ยาก (มิลลิลิตร)

c = ค่าอัตราการผลิตแก๊ส (มิลลิลิตรต่อ ชั่วโมง)

เมื่อค่า a เป็นลบ ให้คำนวณเป็นค่าระยะการปรับตัวของจุลินทรีย์ (lag time) ตามสมการของ McDonald (1981) ดังนี้

$$\text{Lag time} = (1/c) \ln[b/(a+b)]$$

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง โดยการใช้ Proc GLM ของ SAS (SAS, 1985)

ผลการวิจัย

จากการศึกษาจนพบผลผลิตของการผลิตแก๊ส พบว่า สูตรอาหารที่ใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ที่ระดับ 50 มิลลิลิตร (T_3) มีผลต่อปริมาณผลผลิตแก๊สสะสม ภายในหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) (รูปที่ 1) โดยมีค่าปริมาณผลผลิตแก๊สสะสมสูงกว่าการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์และเชื้อราที่ระดับแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และระดับของการใช้พบว่า มีผลต่อปริมาณผลผลิตแก๊สสะสมและค่าการย่อยได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์จะมีค่าปริมาณผลผลิตแก๊สสะสมและค่าการย่อยได้สูงกว่าการใช้กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา แต่พบว่าการเพิ่มระดับของยีสต์และเชื้อรา มีผลต่อค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบทั้งที่ชั่วโมงที่ 24 และ 48 และการเพิ่มระดับยีสต์และเชื้อราเป็น 50 มิลลิลิตร ส่งผลให้ค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบทั้งชั่วโมงที่ 48 ลดลง (ตารางที่ 3) อีกทั้งยังพบว่า การประเมินค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ (*in vitro* digestibility, IVDMD) ในสูตรอาหารทดลอง หลังบ่มที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหารทดลอง โดยในสูตรอาหารที่ใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ที่ระดับ 25 มิลลิลิตร (T_2) มีค่าการย่อยได้สูงที่สุด แต่เมื่อเพิ่มระดับเป็น 50 มิลลิลิตร ส่งผลต่อการย่อยได้ลดลง และค่าการย่อยได้ในชั่วโมงที่ 48 มีค่าลดลง เมื่อเทียบกับค่าการย่อยได้ในชั่วโมงที่ 24

ค่าระยะปรับตัวของจุลินทรีย์ (lag time) ในสูตรอาหารที่มีการใช้กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อราที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ (T_3) ในสูตรอาหารมีค่าต่ำที่สุดในขณะที่สูตรอาหารที่ไม่มีการเสริมกากเอทานอล (Control) มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$) อีกทั้งยังพบว่า สูตรอาหารที่มีการใช้กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา มีค่าอัตราการผลิตแก๊ส (C) สูงกว่า สูตรอาหารที่ใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์และสูตรอาหารที่ไม่มีการเสริมกากเอทานอล แต่พบว่า ปริมาณแก๊สที่ผลิตได้จากส่วนที่ละลายน้ำได้ง่ายและส่วนที่ละลายได้ยาก (D) ในสูตรอาหารที่

มีการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 50 มิลลิลิตร (T_3) มีค่าสูงที่สุด ($P<0.01$)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสูตรอาหารที่มีการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ส่งผลให้มีค่าการย่อยได้ และผลผลิตแก๊สสะสมสูงกว่าการใช้กากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา และการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 50 มิลลิลิตร มีค่าผลผลิตแก๊สสะสมสูงที่สุด แต่กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 25 มิลลิลิตร มีค่าการย่อยได้สูงที่สุด ขณะที่เมื่อเพิ่มระดับของยีสต์และเชื้อราที่ระดับ 50 มิลลิลิตร พบว่าค่าการย่อยได้ลดต่ำลง ทั้งนี้ อาจจะเนื่องจาก กากเอทานอลยังมีเยื่อใยอยู่สูง ซึ่งอาจส่งผลต่อการย่อยได้ สอดคล้องกับรายงานของ Boonnop et al. (2009) ที่รายงานว่า กากเอทานอลยังคงมีการหมักกระบวนการหมักจากยีสต์ ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของอินทรีย์วัตถุ ปริมาณเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง ปริมาณเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด ดังนั้นการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์และเชื้อราในสูตรอาหารผสมสำเร็จ

ในการเลี้ยงโคเนื้อควรจะมีการพัฒนาทดสอบการกินได้และการย่อยได้ในตัวสัตว์ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีภาคต้น ปีการศึกษา 2556 และขอขอบคุณ หมวดโคเนื้อ และห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อำนวยความสะดวกในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน.

2554. ปริมาณการผลิตเอทานอลรายเดือนปี 50-54. กันยายน 28 ธันวาคม 2554. จาก http://www.dede.go.th/bioethanol/12.ethanol_product_graph.pdf

วราพันธุ์ จินตณวิทย์, สุกัญญา จิตตพรพงษ์, และอุทัย กันโธ. 2551. การศึกษาองค์ประกอบเศษเหลือจากการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์และเป็นปุ๋ยสำหรับพืช. ศูนย์ค้นคว้าและ พัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวจากกลกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

อุษณีย์ภรณ์ สร้อยเพชร. 2550. ผลการใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงและเอนไซม์ไฟเตสจากเชื้อรา *Aspergillus niger* ในสูตรอาหารเป็ดเนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

AOAC. 1985. Official Method of Analysis.

Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

Boonnop, K., wanapat, M., ngarmnit, N., and wanapat, S. 2009. Enriching nutritive value of cassava root by yeast fermentation. Dept of animal science, Khon Kaen, 40002 Thailand.

Fievez, V., Babayemi, O.J., and Demeyer, D. 2005.

Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. Anim Feed Sci. and Techno. 123 : 197–210.

Kaewwongsa, W., Traiyakun, S., Yuangklang, C., Wachirapakorn, C., and Paengkoum, P. 2011. Protein enrichment of cassava pulp fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Animal and Veterinary Advances 10: 2434-2440.

McDonald, I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. J. Agric. Sci. 96 : 251-252.

Menke, K., and Steingass, H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28 : 7.

NRC. 1988. Nutrient Requirement of Dairy cattle. National Research Council/National Academy Press, Washington, DC, USA.

Oboh, G., Akindahunsi, A. A., and Oshodi, A. A. 2002. Nutrient and anti-nutrient content of *Aspergillus niger* fermented cassava products (flour and gari). J. Food Composition and Analysis 15: 617-622.

Ørskov, E.R., and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agri. Sci. Cam. 92, 499-50

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของกากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ (*S. cerevisiae*) ที่ระดับแตกต่างกัน

วันที่หมัก	องค์ประกอบทางเคมี (DM % basis)				
	DM	Ash	CP	ADF	NDF
ยีสต์ 5 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	93.09	16.13	17.09	52.02	55.82
วันที่ 5	94.56	16.78	25.21	51.46	50.32
วันที่ 7	91.08	16.94	23.62	54.65	47.03
ยีสต์ 5 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	91.81	16.75	14.60	53.88	53.37
วันที่ 5	83.12	16.41	24.65	61.48	53.57
วันที่ 7	90.81	16.79	19.78	55.17	47.65
ยีสต์ 25 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	91.40	16.40	16.98	54.89	52.00
วันที่ 5	82.08	15.45	26.12	61.13	50.51
วันที่ 7	91.40	16.42	22.06	54.78	44.33
ยีสต์ 25 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	91.50	13.88	17.02	55.39	50.36
วันที่ 5	86.20	15.99	21.68	59.80	55.20
วันที่ 7	91.50	15.95	22.81	58.31	51.23
ยีสต์ 50 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	91.11	15.44	15.12	54.75	51.07
วันที่ 5	93.88	16.46	25.04	54.26	59.27
วันที่ 7	91.11	15.99	22.28	55.89	46.42
ยีสต์ 50 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	90.53	16.35	15.24	56.75	54.69
วันที่ 5	88.11	16.93	26.89	59.23	60.85
วันที่ 7	91.53	16.65	22.14	56.15	50.13

DM % basis= วิเคราะห์ในรูปวัตถุดิบแห้ง, DM = วัตถุดิบแห้ง, Ash = เถ้า, CP = โปรตีนหยาบ, ADF = เชื้อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด, NDF = เชื้อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกลาง

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของกากเอทานอลหมักด้วยเชื้อรา (*A. niger*) ที่ระดับแตกต่างกัน

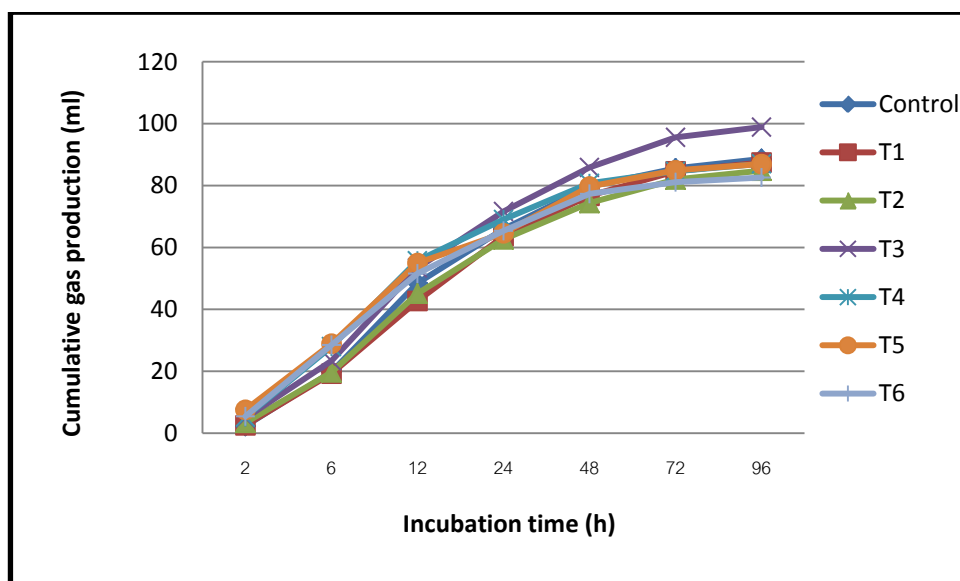
วันที่หมัก	องค์ประกอบทางเคมี (DM % basis)				
	DM	Ash	CP	ADF	NDF
เชื้อรา 5 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	93.69	17.88	14.99	55.08	57.55
วันที่ 5	90.24	16.93	26.21	56.97	61.81
วันที่ 7	93.69	16.44	22.21	54.87	48.70
เชื้อรา 5 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	94.22	15.85	14.90	52.31	53.07
วันที่ 5	81.44	15.80	25.66	63.44	58.45
วันที่ 7	94.22	16.32	21.00	55.89	54.07
เชื้อรา 25 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	91.87	15.81	16.26	55.89	53.89
วันที่ 5	81.42	15.81	26.07	60.32	63.19
วันที่ 7	91.87	15.68	22.19	55.75	48.73
ยีสต์ 25 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	94.07	16.06	16.06	53.22	49.29
วันที่ 5	93.09	16.84	21.24	47.88	53.19
วันที่ 7	94.07	16.43	18.84	48.72	54.10
เชื้อรา 50 มิลลิลิตร ความชื้น 60					
วันที่ 3	93.73	16.97	16.52	54.04	50.00
วันที่ 5	97.79	16.97	20.04	52.91	52.11
วันที่ 7	93.73	16.75	19.35	54.29	50.48
เชื้อรา 50 มิลลิลิตร ความชื้น 80					
วันที่ 3	93.00	17.92	17.06	54.12	51.71
วันที่ 5	93.20	17.17	25.80	53.05	54.72
วันที่ 7	93.00	16.77	22.05	54.19	54.76

DM % basis= วิเคราะห์ในรูปวัตถุดิบแห้ง, DM = วัตถุดิบแห้ง, Ash = เถ้า, CP = โปรตีนหยาบ, ADF = เชื้อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด,
NDF = เชื้อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกลาง

ตารางที่ 3 แสดงผลของการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ (*S. cerevisiae*) และกากเอทานอลหมักเชื้อรา (*A. niger*) ในอาหาร
 ผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และผลผลิตแก๊สจากกระบวนการหมัก โดยใช้เทคนิคผลผลิตแก๊สในหลอดทดลอง

เรื่อง	กลุ่มควบคุม	สูตรอาหารทดลอง						SEM	<i>p</i> - value
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆		
Kinetics of gas production, ml/0.2 gDM									
Lag time, h	0.467 ^a	0.406 ^a	0.408 ^a	0.282 ^b	0.293 ^b	0.156 ^c	0.232 ^b	0.025	<0.01
D, ml/0.2 gDM	97.360 ^{ab}	93.808 ^{bc}	90.818 ^c	101.274 ^a	92.128 ^{ab}	86.813 ^b	87.706 ^b	2.030	<0.01
C, ml/h	0.067 ^b	0.057 ^c	0.064 ^b	0.063 ^b	0.084 ^a	0.080 ^a	0.079 ^a	0.001	<0.01
Total gas production, ml	54.654 ^b	51.989 ^b	52.139 ^b	59.356 ^a	58.410 ^a	58.153 ^a	56.669 ^{ab}	1.050	<0.05
DM digestibility, %									
24, h	45 ^a	45 ^a	57.5 ^a	50 ^a	40 ^a	42.5 ^a	40 ^a	3.650	0.440
48, h	35 ^a	40 ^a	40 ^a	35 ^a	25 ^a	37.5 ^a	32.5 ^a	3.35	0.340

*อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 1 แสดงผลผลิตแก๊สสะสมในหลอดทดลองจากชั่วโมงที่ 0 ถึง 96