การประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ*

Suksombat, W. (1998). **Estimation of Rumen Degradability of Ruminant Feed Proteins with the *in sacco* Technique.** *Suranaree J. Sci. Technol 5:38-50*

บทคัดย่อ

การรวบรวมเนื้อหาเอกสารนี้จะได้มีการกล่าวถึงส่วนประกอบของไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารสัตว์ การย่อยสลายของไนโตรเจนภายในกระเพาะหมัก นอกจากนี้จะได้มีการกล่าวถึงการประเมินคุณค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน (*in sacco, in situ* method หรือ nylon bag technique) และปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการประเมินค่าการย่อยสลายโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน การคำนวณค่า potential degradability และ effective degradability ส่วนการประเมินด้วยวิธีการทดลองในห้องปฏิบัติการ (in vitro) อื่นๆ เช่น การละลาย การวัดผลผลิตสะสมสุดท้ายและการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน จะได้มีการกล่าวถึงโดยย่อ ตอนท้ายจะได้สรุปเปรียบเทียบวิธีการประเมินการย่อยสลายในกระเพาะหมัก ที่แนะนำโดยนักวิจัยและสถาบันต่างๆ

Key words: ***in sacco* techniques, nlyon bag techniques, rumen degradability, feeding, ruminant feeds, ruminant nutrition.**

บทนำ

ระบบการประเมินคุณค่าทางอาหารของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminants) ที่นิยมกันก่อนหน้านี้ใช้ระบบการประเมินโดยใช้ค่าของโปรตีนหยาบ (crude protein) และโปรตีนหยาบที่ย่อยได้ (digestible crude protein) ระบบดังกล่าวมีข้อจำกัดในด้านการย่อยได้ของโปรตีนและการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในตัวสัตว์

ระบบการประเมินคุณค่าทางอาหารของ

* *Ph.D., อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000.*

โปรตีนในปัจจุบันได้พิจารณาเอาการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก (ruminal degradation) และการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein) ด้วย การประเมินปริมาณโปรตีนที่สัตว์จะใช้ประโยชน์ประเมินได้จากปริมาณการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ และโปรตีนจากอาหารที่ไม่ผ่านการย่อยสลายในกระเพาะหมัก (rumen undegradable protein)

การย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักสามารถประเมินได้โดยวิธีการศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์ทดลอง (*in vivo* method) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* method) หรือการใช้ถุงไนล่อน (*in sacco* หรือ *in situ* methods หรือ nylon bag technique) อย่างไรก็ตาม วิธีที่สะดวกและเป็นที่นิยมมากในปัจจุบันคือวิธีการใช้ถุงไนล่อน

บทความนี้จะได้กล่าวถึงโปรตีนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง การย่อยสลายของไนโตรเจนในกระเพาะหมัก และการประเมินค่าการย่อยสลายของไนโตรเจนโดยเน้นวิธีการศึกษาจากการใช้ถุงไนล่อน

ส่วนประกอบของไนโตรเจนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Nitrogen Composition in Ruminant Feeds)

อาหารสัตว์โดยทั่วไปจะประกอบไปด้วยโภชนะต่างๆ ได้แก่ น้ำ คาร์โบไฮเดรท โปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ สำหรับโปรตีนในอาหารสัตว์นั้นสามารถจำแนกออกได้เป็น โปรตีนแท้ (true protein) และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen, NPN) ซึ่งอยู่ในรูปของเปปไทด์ (peptides), กรดอะมิโนอิสระ (free amino acids) และอะมีด (amides), อะมีน (amines), นิวคลีโอไทด์ (nucleotides), ยูรีไอด์ (ureides) และไนโตรเจนที่อยู่ในรูปสารอนินทรีย์ (inorganic nitrogen) ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน สัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อายุของพืชอาหารสัตว์ สายพันธุ์พืชอาหารสัตว์ การให้ปุ๋ย อุณหภูมิ ความเข้มของแสง ช่วงแสงแดด และปริมาณการรับน้ำ (Hegarty and Peterson, 1973) Ferguson และ Terry (1954) พบว่าส่วนประกอบของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในหญ้าไรย์ (rye grass) ถั่วโคลเวอร์ขาว (white clover) และถั่วลูเซิร์น (lucerne) เป็น 37.2-56.7% เปปไทด์ 15.0-17.2% กรดอะมิโนอิสระ 5.0-8.1 % อะมีดและไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย (ammonia nitrogen) 3.9-8.8% ไนโตรเจนในรูปไนเตรท (nitrate nitrogen) และ 4.3-7.6% ไนโตรเจนในรูปพิวรีน (purine nitrogen) โปรตีนในพืชสามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภทหลักๆ คือโปรตีนในใบพืช (leaf proteins) และโปรตีนในเมล็ดพืช (seed proteins) โปรตีนในใบพืชส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึม (metabolic proteins) ซึ่งได้แก่พวกเอนไซม์ต่างๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและมีหน้าที่ทางชีวเคมี (biochemical functions) ของเซลล์ใบ (Lyttleton, 1973; Mangan, 1982) ในทางตรงกันข้ามโปรตีนในเมล็ดพืชจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นอาหารสำรองในเมล็ดเพื่อการเจริญเติบโตของเอมบริโอ (embryo) (Lyttleton, 1973)

พืชอาหารสัตว์ที่ยังสดอยู่จะมีโปรตีนแท้ (true protein) เป็นส่วนประกอบอยู่ระหว่าง 75-85% ของโปรตีนหยาบทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร (Lyttleton, 1973) ประมาณ 75% ของโปรตีนทั้งหมดในใบพืชจะพบในส่วนของคลอโรพลาสต์ (chloroplasts) (Mangan, 1982) โปรตีนในใบพืชประมาณ 50% จะมีคุณสมบัติละลายได้ ส่วนอีก 50% จะไม่สามารถละลายได้ สำหรับโปรตีนในเมล็ดพืชจะ

ประกอบด้วยโปรตีนแท้ประมาณ 75-85% ของโปรตีนทั้งหมด (Ersland *et al.*, 1983; Shewry and Miflin, 1983) ดังนั้นทั้งในใบพืชและเมล็ดพืชจะมีสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนเป็นส่วนประกอบอยู่ระหว่าง 15-25%

การย่อยสลายของโปรตีน/ไนโตรเจนในกระเพาะหมัก (Protein/Nitrogen Decomposition in the Rumen)

โปรตีน/ไนโตรเจนที่ละลายได้ (Soluble Protein/ Nitrogen Fractions)

การย่อยโปรตีนในกระเพาะหมักเกิดจากขบวนการที่เรียกว่าไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ผลของการย่อยจะได้เปปไทด์และกรดอะมิโน ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกใช้ประโยชน์โดยตรงโดยจุลินทรีย์ อีกส่วนหนึ่งจะแตกตัวเป็นแอมโมเนียและสารประกอบคาร์บอน การย่อยสลายของโปรตีนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความสามารถละลายได้ของโปรตีนนั้นๆ (Henderick and Martin, 1963)

การประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก (Estimation of Protein Degradation in the Rumen)

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักนั้นสามารถกระทำได้หลายวิธี อาทิ การศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์ การศึกษาในห้องปฏิบัติการ และการใช้ถุงไนล่อน การวัดโดยวิธีการศึกษาจากตัวสัตว์ จะต้องใช้การผ่าตัดเจาะกระเพาะสัตว์ นอกจากนี้ยังเป็นการสิ้นเปลืองแรงงานมาก เสียเวลาและค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงดูสัตว์สูง ส่วนการศึกษาในห้องปฏิบัติการนั้นมีหลายวิธี อย่างไรก็ตามวิธีการที่นิยมมากในปัจจุบันคือการใช้ถุงไนล่อน

การศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์

การศึกษาค่าการย่อยสลายของโปรตีนโดยวิธีนี้ต้องใช้สัตว์ที่ได้รับการผ่าตัดและติดตั้งท่อแคนูลา (re-entrant cannulae) ในกระเพาะหมักและ/หรือกระเพาะจริง (abomasum) และลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) (Miller, 1982; Lindberg, 1985) โปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก สามารถคำนวณได้จากความแตกต่างระหว่างโปรตีนที่สัตว์กินเข้าไปกับผลบวกของโปรตีนที่สร้างภายในตัวสัตว์ (endogenous protein) และโปรตีนที่สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ที่ผ่านไปยังกระเพาะจริง หรือลำไส้เล็ก การประมาณค่าของโปรตีนที่สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ทำได้โดยใช้สารประกอบที่มีคุณสมบัติจับจุลินทรีย์ (microbial markers) เช่น กรดนิวคลีอิค (nucleic acids) กรดไดอะมิโนไพเมลิค (diaminopimelic acid, DAPA), กรดอะมิโนเอธิลีนฟอสฟอริค (amino-ethylene-phosphoric acid, AEP) หรือธาตุไอโซโทพ (radio isotopes) เช่น ^{35}N, ^{32}P หรือ ^{15}N (Clark, *1977*) ถึงแม้การหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนด้วยวิธีการศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์จะมีความยุ่งยาก ต้องใช้สัตว์ที่ต้องผ่าตัด ต้องใช้แรงงานมาก ใช้เวลามากและเสียค่าใช้จ่ายสูง แต่ก็มีความจำเป็นเพราะเหมาะที่จะได้ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธีการทางเคมีอื่นๆ (Linberg, 1985; National Research Council, 1985)

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนในห้องปฏิบัติการสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

การหาค่าการละลายได้ (Solubility)

หลักการหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีนี้คือการสกัดไนโตรเจนที่ละลายได้จากอาหารด้วยสารละลายในระยะเวลาต่างๆกัน สารละลายที่ใช้มีหลายชนิด เช่น

McDougal's mineral buffer (Crooker *et al.*, 1978), Burroughs mineral buffer (Burroughs *et al.*, 1950; Wohlt *et al.*, 1973; Crooker *et al.*, 1978; Crawford *et al.*, 1978), Durand's buffer (Lindberg *et al.*, 1982), โซเดียมคลอไรด์ (sodiumchloride) (Smith *et al.*, 1959; Little *et al.*, 1963) และน้ำกลั่น (distilled water) (Little *et al.*, 1963) ผลของการหาค่าการละลายได้ของโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารละลาย (pH, ionic strength) และวิธีการสกัด (อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในการสกัด ระดับของการกวนสารละลายขณะปฏิบัติการ และขนาดของตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์)

การวัดปริมาณผลิตภัณฑ์สะสมสุดท้าย (end-product accumulation)

หลักการของวิธีการนี้คือ การวัดปริมาณของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นหลังจากการจุ่มแช่อาหารลงในของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen liquor) แล้วคำนวณหาค่าการย่อยสลายโปรตีนจากปริมาณแอมโมเนีย (Chamberlain and Thomas, 1979)

การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes)

เป็นการใช้เอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติสามารถย่อยสลายโปรตีนให้เป็นแอมโมเนีย แล้วทำการวัดปริมาณแอมโมเนียและคำนวณหาค่าการย่อยสลายโปรตีนเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น

การหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน

เนื่องจากการประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนโดยวิธีศึกษาโดยตรงจากตัวสัตว์เสียเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายมาก ทางเลือกวิธีหนึ่งที่สามารถกระทำได้รวดเร็ว และได้ค่าประมาณการย่อยสลายของโปรตีนที่ค่อนข้างแน่นอน คือวิธี *in sacco* หรือ *in situ* หรือเรียกอย่างง่าย ๆ ว่าเทคนิคการใช้ถุงไนล่อน วิธีการทำง่าย ๆ คือ การใช้ถุงไนล่อนซึ่งบรรจุอาหารที่ต้องการหาค่าการย่อยสลายโปรตีน จุ่มแช่ในกระเพาะหมักของสัตว์ทดลอง โดยสอดใส่ทางแคนูลา ทิ้งไว้ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ กัน (อาหารข้นประมาณ 48 ชั่วโมง ส่วนอาหารหยาบอาจต้องใช้เวลานานถึง 72 ชั่วโมง) ตัวอย่างอาหารหนึ่งชนิดต้องใช้ถุงไนล่อนจำนวน 6 ถุง (จุ่มไว้ที่ 0, 2, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง) นำค่าสัดส่วนโปรตีนที่สูญหายไปในระยะเวลาต่างๆกันมาคำนวณโดยใช้สมการที่แนะนำโดย Orskov และ McDonald (1979):

$$p = a + b(1-\exp^{-ct})$$

เมื่อ p = the degradation at time t.

a = water soluble N extracted by cold water rinsing (0 hr bag)

b = potentially degrade N, other than water soluble N

c = fractional rate of degradation of feed N per hour

จากสมการจะสามารถคำนวณค่า potential rumen degradability ได้จาก $a+b$ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วค่า $a+b$ จะต้องไม่เกิน 100% แต่ถ้านำ fractional outflow rate ของ digesta ที่ไหลผ่าน rumen มาพิจารณาด้วย และคำนวณโดยสมการข้างล่าง ค่าที่คำนวณได้จะเรียกว่า effective rumen degradability

$$dg = a + bc/(c+k)$$

เมื่อ dg = effective protein degradability

k = fractional outflow rate of digesta per hour

ค่า fractional outflow rate (k) จะขึ้นอยู่กับระดับการกินอาหาร (level of feed intake) ของสัตว์ กล่าวคือถ้าสัตว์กินอาหารได้มาก k จะมากด้วย อย่างไรก็ตามในกรณีที่สัตว์ได้รับอาหารผสมระหว่างอาหารข้นและอาหารหยาบและได้รับในระดับเพื่อการดำรงชีพ (maintenance) ค่า k ที่ใช้ควรเป็น 0.046/hr หรือ 0.05/hr (Orskov and McDonald, 1979) แต่ถ้าเป็นสัตว์ที่ได้รับอาหาร

อย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ค่า *k* ควรจะเป็น 0.08/hr.

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อน

มีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องต่อผลการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนที่ได้จากวิธีการใช้ถุงไนล่อนกล่าวคือ ขนาดของรูพรุนของถุงไนล่อน (bag pore size) (Mathers *et al.*,1977; Weakly *et al.*,1983) ขนาดอนุภาคของชิ้นอาหารที่จะทำการหาค่าการย่อยสลาย (sample particle size) (Mohamed and Smith, 1977) ขนาดของตัวอย่างที่บรรจุในถุงไนล่อน (sample size) และขนาดของถุงไนล่อน (bag size) (Mehrez and Orskov, 1977) ช่วงระยะเวลาของการจุ่มแช่ถุงไนล่อน (time of incubation in the rumen) (Orskov *et al.*, 1980) ชนิดของสัตว์ทดลอง (animal species) (Lindberg, 1985) ชนิดของอาหารที่ให้สัตว์ทดลองกิน (basal diet of cannulated animal) (Ganev *et al.*, 1979; Lindberg, 1981a) อัตราการไหลผ่านของอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายจากกระเพาะหมัก (flow rate of undegraded feed) (Mehrez and Orskov, 1977; Orskov *et al.*,1980; 1983).

ขนาดรูพรุนของถุง

การพิจารณาเลือกขนาดรูพรุนของไนล่อนสำหรับทำถุงต้องคำนึงถึงคุณสมบัติในการให้ของเหลวในกระเพาะหมักไหลผ่านเข้าออกได้สะดวก ในขณะเดียวกันต้องป้องกันการไหลออกของชิ้นส่วนอาหารที่ไม่ถูกย่อยเพราะอาหารที่มีอนุภาคเล็กอาจไหลออกจากรูพรุนได้ (Mohamed and Smith, 1977; Playne *et al.*, 1978; Lindberg and Knutsson, 1981) ทำนองเดียวกัน ถ้าขนาดรูพรุนมีขนาดใหญ่ส่วนของอาหารที่ไม่ถูกย่อยก็จะไหลออกจากถุงได้ (Lindberg and Knutsson, 1981) โดยปกติการเตรียมตัวอย่างอาหารที่จะหาค่าการย่อยสลายของโปรตีนต้องทำการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงสิ่งที่ต้องคำนึงถึงคืออาหารแต่ละชนิดมีความเปราะต่างกัน ฉะนั้นในขณะที่ทำการบดตัวอย่างอาหาร การกระจายตัวของขนาดและส่วนประกอบของอาหารที่ผ่านตะแกรง ย่อมแตกต่างกันตามความเปราะของอาหารนั้นๆ

การใช้ถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุนใหญ่อาจทำให้มีการไหลเข้าของอาหารที่ไม่ถูกย่อย การทดลองของ Uden และคณะ (1974) พบว่ามีการไหลเข้าของมวลสารที่ไม่ละลายในสารละลายผงซักฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent (ND) insoluble matter) เมื่อใช้ถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุน 35 μm และพบว่ามวลสารไม่ละลายใน ND ประกอบด้วย 50% lignin และ 2.9% nitrogen (Uden and Van Soest, 1984) Van Helen และ Ellis (1977) พบว่ามีการไหลเข้าของ neutral detergent fibre (NDF) เมื่อใช้ผ้าไนล่อนที่มีขนาดรูพรุน 100-135 μm แต่ถ้าใช้ผ้าที่มีขนาดรูพรุน 75 μm การไหลเข้าของ NDF จะน้อยมาก Playne และคณะ (1978) สรุปว่าเมื่อใช้ถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุน 25 μm การไหลเข้าของอาหารที่ไม่ถูกย่อยมีน้อยมาก และเมื่อใช้ผ้าที่มีขนาดรูพรุน 1.2 μm, 5 μm และ 10 μm Van Hellen และ Ellis (1977) พบว่าการไหลเข้าของอาหารส่วนที่ไม่ถูกย่อยแทบไม่มีเลยหรือเทียบเท่าศูนย์

การศึกษาวิจัยเปรียบเทียบค่าการย่อยสลายของอาหารสัตว์ในถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุนแตกต่างกัน พอสรุปได้ว่าถ้าใช้ถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุนไม่แตกต่างกันมาก เช่น 1.2 μm กับ 5 μm (Van Hellen and Ellis, 1977) หรือ 5 μm กับ 10 μm (Lindberg and Knutsson, 1981) ผลของการหาค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้ง (dry matter, DM) ไนโตรเจน acid detergent fibre (ADF) และ neutral detergent fibre (NDF) ที่ได้จะไม่มีความแตกต่างกันมาก แต่ถ้าใช้ถุงที่มีขนาดรูพรุนแตกต่างกันมาก เช่น 5 μm, 10 μm และ 20 μm (Lindberg and

Knutsson, 1981) หรือ 10 μm และ 36 μm (Lindberg and Varvikko, 1982) ค่าการย่อยสลายที่ประเมินได้จะมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามความแตกต่างนี้จะหมดไปถ้าเวลาที่ใช้จุ่มถุงนานกว่า 24 ชั่วโมง

การศึกษาเรื่องการใช้ถุงที่มีขนาดรูพรุนต่างๆกันเท่าที่ผ่านมาจนกระทั่งปัจจุบันพอสรุปได้ว่าถ้าทำการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงขนาด 1.0-2.0 mm ขนาดของรูพรุนของไนล่อนที่ใช้ทำถุงควรอยู่ระหว่าง 20-40 μm

ปริมาณตัวอย่างอาหาร

ปริมาณของตัวอย่างอาหารที่ใส่ในถุงเพื่อหาค่าการย่อยสลายของโภชนะ (nutrient) ขึ้นอยู่กับความต้องการส่วนของอาหารที่เหลือหลังการย่อยเพื่อนำไปวิเคราะห์ ถ้าต้องการวิเคราะห์หลาย ๆ โภชนะ ปริมาณตัวอย่างอาหารที่ใส่ในถุงควรมีมาก อย่างไรก็ตามถ้าใส่ตัวอย่างอาหารมากไปอาจทำให้ต้องใช้เวลานานในการที่น้ำย่อยในกระเพาะหมักจะซึมเข้าสู่อนุภาคอาหาร ในการศึกษาได้มีความพยายามที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณตัวอย่างอาหารกับพื้นที่ถุงที่เหมาะสม โดยกำหนดเป็นมาตรฐาน ถ้าต้องการใส่ตัวอย่างอาหารมากไม่ว่าจะด้วยเหตุผลใดก็ตาม พื้นที่ของถุงควรเพิ่มขึ้นตามปริมาณตัวอย่างอาหาร

ฉะนั้นการพิจารณาถึงปริมาณตัวอย่างอาหารต้องคำนึงถึงปริมาณอาหารที่เหลือหลังการย่อยว่าจะเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์โภชนะที่ต้องการหรือไม่ โดยปกติควรใช้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารต่อพื้นที่ถุง

Mehrez และ Orskov (1977) พบว่าเมื่อลดปริมาณอาหารต่อพื้นที่ถุงลงจาก 62.5 เป็น 16.3 mg/cm^2 เมื่อใช้รูพรุนขนาด 40 μm การย่อยสลายของวัตถุแห้งจะเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อลดปริมาณอาหารต่อพื้นที่ถุงลงไปอีกเป็น 6.7 mg/cm^2 จะไม่มีผลต่อการย่อยสลาย Uden และ Van Soest (1984) พบผลเช่นเดียวกันเมื่อลดปริมาณอาหารต่อพื้นที่ถุงลงจาก 50 เป็น 6.5 mg/cm^2 เมื่อใช้รูพรุนขนาด 37 μm Van Hellen และ Ellis (1977) ใช้ถุงที่มีขนาดรูพรุน 10 μm ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายผนังเซลล์ (cell wall) ของอาหารหยาบ (roughage) เมื่อใช้ตัวอย่างอาหารตั้งแต่ 0.8 ถึง 5.9 mg/cm^2 แต่ถ้าเพิ่มตัวอย่างอาหารเป็น 9.2 mg/cm^2 การย่อยสลายของผนังเซลล์จะลดลง ทำนองเดียวกัน Lindberg (1981) ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายวัตถุแห้ง ไนโตรเจนและผนังเซลล์ เมื่อใช้ตัวอย่างอาหารระหว่าง 5.0-9.9 mg/cm^2 ในถุงที่มีรูพรุนขนาด 10 μm แต่เมื่อเพิ่มตัวอย่างอาหารเป็น 14.9 mg/cm^2 การย่อยสลายของวัตถุแห้ง ไนโตรเจนและผนังเซลล์จะลดลง อย่างไรก็ตามความแตกต่างทำนองนี้จะไม่เกิดขึ้นที่ระยะเวลา 2 และ 6 ชั่วโมงของการจุ่มแช่ถุงไนล่อน ในทางตรงกันข้าม Setala (1983) ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายวัตถุแห้งของหญ้าแห้ง รำข้าวบาร์เลย์ และกากถั่วเหลือง เมื่อใช้ตัวอย่างอาหาร 35-36 mg/cm^2 ในถุงที่มีรูพรุนขนาด 40 μm

นอกจากปริมาณตัวอย่างอาหารและพื้นที่ผิวของถุงจะมีผลต่อค่าการย่อยสลายแล้ว ขนาดรูพรุนและชนิดของอาหารที่ทำการหาค่าการย่อยสลายยังมีผลต่อค่าการย่อยสลาย ฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าควรใช้ตัวอย่างอาหาร 10-15 mg/cm^2 เมื่อใช้ถุงที่มีรูพรุนขนาด 20-40 μm

ขนาดอนุภาคอาหาร

ในระหว่างขบวนการกินอาหารและการเคี้ยวเอื้องซึ่งมีการนำกลับอาหารไปเคี้ยวใหม่ รวมทั้งการย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะทำให้อนุภาคอาหารที่กินเข้าไปมีขนาดเล็กลงสำหรับการทำ *in sacco* technique อาหารจะไม่ผ่านขบวนการดังกล่าวข้างต้น ฉะนั้นการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ จึงเสมือนเป็นตัวแทนของขบวนการข้างต้น

อย่างไรก็ตามการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงที่มีขนาดต่าง ๆ กันจะมีผลต่อการย่อยสลายของอนุภาคอาหารที่อยู่ภายในถุงไนล่อน

Van Keuren และ Heinemann (1962) ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายวัตถุแห้งของตัวอย่างอาหารหยาบที่บดผ่านตะแกรงขนาด 60, 40 หรือ 20 mesh (0.28 mm, 0.42 mm และ 0.84 mm) อย่างไรก็ตาม Lindberg (1981a) พบว่าการบดตัวอย่างอาหารไม่ว่าจะเป็นพืชหมัก (silage) อาหารข้น (concentrate) หรือข้าวโอ๊ตบด (crushing oats) ผ่านตะแกรงขนาดใหญ่ จะทำให้ค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้งในถุงลดลง งานวิจัยอื่น ๆ ที่ให้ผลทำนองเดียวกัน เมื่อทำการหาค่าการย่อยสลายในอาหารหยาบ (Tomlin *et al.*, 1967), อาหารเสริมโปรตีน (protein supplements) (Mohamed and Smith, 1977), เมล็ดข้าวฟ่าง (Figroid *et al.*, 1972) และในหญ้า (McLeod and Minson, 1969)

ระยะเวลาในการจุ่มแช่ถุงดูเหมือนจะมีอิทธิพลร่วมกับขนาดอนุภาคอาหาร (Lindberg, 1981a) กล่าวคือในระยะเวลาเริ่มแรก (ระหว่าง 0-1 ชั่วโมง) และเวลาที่นานมาก (> 24 hrs) ขนาดอนุภาคอาหารดูจะไม่มีผลต่อการย่อยสลายวัตถุแห้งของพืชหมักหรืออาหารข้น Erwin และ Ellison (1959) ก็พบผลการทดลองเป็นเช่นเดียวกัน ผลของขนาดอนุภาคอาหารต่อการย่อยสลายที่ไม่มีความแตกต่างในระยะสั้น อาจเกิดจากในระยะแรกของการจุ่มถุงยังมีการไหลเข้าของของเหลวในกระเพาะหมักและจุลินทรีย์น้อยทำให้มีการย่อยสลายน้อยมาก (Lindberg, 1984) อย่างไรก็ตาม Freer และ Dove (1984) พบว่าการย่อยสลายของไนโตรเจน ในตัวอย่างเมล็ดลูปิน (lupin seeds) ที่บดละเอียด ปานกลาง และหยาบ จะมีผลถึงความแตกต่างของการย่อยสลายที่ระยะเวลาการจุ่มถุง 2 ชั่วโมง (47 μm) แต่ที่ 24 ชั่วโมงจะไม่มีความแตกต่างเนื่องจากขนาดอนุภาคอาหาร

เพื่อความเป็นมาตรฐานในการหาค่าการย่อยสลายโดยวิธีใช้ถุงไนล่อน ควรเตรียมตัวอย่างไม่ว่าจะเป็นเมล็ดธัญพืช อาหารโปรตีน หญ้าแห้ง หรือตัวอย่างอบแห้งอื่นๆ โดยการบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0-2.0 mm เมื่อใช้ถุงที่มีรูพรุนขนาดระหว่าง 20-40 μm

การวางตำแหน่งของถุงในกระเพาะหมัก

ตั้งแต่ได้เริ่มมีการใช้เทคนิคการใช้ถุงไนล่อน (Quin *et al.*, 1938) นักวิจัยหลายๆท่านได้พยายามศึกษาถึงการวางตำแหน่งของถุงในกระเพาะหมัก ทั้งนี้รวมถึงการผูกถุงกับด้ายไนล่อนโดยไม่ได้ถ่วงน้ำหนัก (Hopson *et al.*, 1963; Mehrez and Orskov (1977) การผูกถุงกับแท่งพลาสติก (McManus *et al.*, 1972) การถ่วงด้วยขวดพลาสติกบรรจุน้ำ (Lowrey *et al.*, 1968) การถ่วงด้วยวงแหวนทำด้วยตะกั่ว (Chenost *et al.*, 1970) หรือใส่ถุงไนล่อนลงไปในถุงตาข่ายถ่วงน้ำหนัก (Uden and Van Soest, 1984) การศึกษาวิจัยดังกล่าวข้างต้นมักจะวางตำแหน่งของถุงให้อยู่บริเวณส่วนกลางของกระเพาะหมัก (Hopson *et al.*, 1963; Chenost *et al.*, 1970) Mehrez และ Orskov (1977) พบว่าการใช้น้ำหนักถ่วงให้ถุงจมอยู่บริเวณส่วนกลางของกระเพาะหมักไม่มีผลต่อการย่อยสลายวัตถุแห้ง ปัจจุบันยอมรับที่จะให้ถุงไนล่อนมีการเคลื่อนไหวอย่างอิสระภายในกระเพาะหมัก เพื่อที่จะให้ของเหลวในกระเพาะหมักจากส่วนต่างๆไหลเข้าออกถุงได้

เพื่อเสนอแนะแนวทางในการศึกษาการย่อยสลายด้วยวิธีการใช้ถุงไนล่อน โดยวิธีการใช้ตัวนำ (carrier) ซึ่งประกอบด้วยสายยางที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 mm ยาว 120 mm ทำการผ่าด้านข้างให้เป็นรอยยาว 15 mm ตรงข้ามสลับไปมา 5 รอย นำเชือกไนล่อนที่ปลายด้านหนึ่งทำเป็นห่วง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งสอดผ่านด้านหนึ่งของสายยาง

และนำไปสอดผ่านรอยผ่าด้านข้างสลับไปมาจนกระทั่งปลายด้านนี้ไปโผล่ที่ปลายสายยางอีกด้านหนึ่ง เวลาจะทำการหาค่าการย่อยสลายโดยวิธีใช้ถุงไนล่อนจะนำถุงไนล่อนที่บรรจุตัวอย่างอาหารแล้วมาผูกติดกับเชือกที่โผล่มาตามรอยผ่าให้แน่น รวมทั้งผูกที่ห่วงปลายเชือกไนล่อนด้วย รวมสายยางเส้นหนึ่งจะผูกถุงตัวอย่างอาหารได้ 6 ถุง เมื่อผูกถุงตัวอย่างอาหารเสร็จจะดึงเชือกไนล่อนให้ส่วนที่ผูกถุงตัวอย่างอาหารกระชับแน่นกับปลายสายยางด้านล่างและรอยผ่า สำหรับปลายเชือกไนล่อนด้านที่อยู่เหนือสายยางด้านบนติดป้ายเพื่อไว้เขียนฉลากสิ่งที่ต้องการ การใช้วิธีการนี้จะทำให้ตำแหน่งของตัวนำอยู่ตรงบริเวณตอนกลางของกระเพาะหมัก ในขณะเดียวกันถุงไนล่อนจะสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระภายในกระเพาะหมัก

การล้างถุง

การล้างถุงหลังจากการจุ่มถุงในกระเพาะหมักมีวัตถุประสงค์หลัก 2 ประการ คือ เพื่อยับยั้งกิจกรรมอันเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ และเพื่อล้างของเหลวในกระเพาะหมักออกจากอาหารส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลาย การล้างด้วยน้ำเย็นที่ไหลจากก๊อกประปาที่แนะนำโดย Quin และคณะ (1938) เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และนิยมใช้จนกระทั่งปัจจุบัน

นักวิจัยหลายท่านพบว่า การล้างถุงไนล่อนทำให้ค่าการย่อยสลายวัตถุแห้งในถุงเพิ่มขึ้น (Van Keuren and Heinemann, 1962; McManus *et al.*, 1972; Mehrez and Orskov, 1977) อย่างไรก็ตามการเพิ่มนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Hennessey และคณะ (1983) พบว่าการย่อยสลายของไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเนื่องจากการล้างและการบีบถุงเช่นกัน Lindberg (1981b) ได้แนะนำให้มีการล้างถุงโดยการบรรจุถุงลงในภาชนะรูปทรงกระบอกที่บรรจุน้ำเย็น และให้มีการไหลเวียนของน้ำตลอดระยะเวลาการล้างประมาณ 15 นาที ในระยะหลังนี้เพื่อความสะดวก รวดเร็วและเหมาะกับการทำงานที่ต้องมีการล้างถุงคราวละมากๆ ได้มีการใช้เครื่องซักผ้าชนิด 2 ถังช่วยในการล้างถุง วิธีการทำง่าย ๆ โดยการบรรจุถุงไนล่อนที่ต้องการล้างลงในถังซักที่มีน้ำอยู่เต็ม เปิดเครื่องซักผ้าที่มีจังหวะการซักที่เบาที่สุด ในขณะที่เครื่องซักผ้าทำงานให้ปล่อยน้ำเข้าเครื่องและให้ล้นออกทางท่อล้นตลอดระยะเวลาของการล้างประมาณ 15 นาที นำถุงที่ผ่านการล้างแล้วลงปั่นในถังปั่น 3-5 นาทีก่อนนำไปอบแห้งเพื่อการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป การใช้วิธีนี้ให้ผลดีเช่นเดียวกับวิธีการล้างอื่นๆแต่สะดวกและรวดเร็วกว่า

อาหารสัตว์ทดลอง

ในสัตว์ที่กินอาหารหยาบจะพบชนิดของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักแตกต่างกันมากกว่าในสัตว์ที่ได้รับอาหารข้น (Eadie and Mann, 1970) ชนิดของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของสัตว์ที่ได้รับอาหารข้นจำนวนมากขึ้นอยู่กับระยะเวลาการปรับตัว และระดับการให้อาหาร ในบางสถานการณ์จุลินทรีย์บางชนิดที่เคยพบในกระเพาะหมักของสัตว์จะหายไปเมื่อสัตว์ได้รับอาหารข้น (Warner, 1965) การที่สัตว์ได้รับอาหารไม่เพียงพอเป็นระยะเวลานาน ๆ จะมีผลทำให้จุลินทรีย์บางชนิดหายไปเช่นเดียวกัน การสูญหายของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งมักจะได้รับการชดเชยโดยการเพิ่มจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ยกตัวอย่างเช่น เมื่อจำนวนโปรโตซัวลดลง มักจะมีการเพิ่มของแบคทีเรีย (Warner, 1965; Eadie and Mann, 1970) จำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลงเป็นวัฏจักร ซึ่งมีความแตกต่างทั้งในด้านชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามถ้ามีการให้อาหารบ่อยครั้งขึ้นจะทำให้ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ไม่เปลี่ยนแปลงมาก (Warner, 1965; Eadie and Mann, 1970)

คาร์โบไฮเดรทที่ใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถจำแนกได้เป็นคาร์โบไฮเดรทที่ละลายได้

(soluble carbohydrates) แป้งและคาร์โบไฮเดรทเส้นใย (hemicellulose และ cellulose) น้ำตาลที่ละลายได้จะถูกหมักย่อยอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมัก ถึงแม้อัตราการหมักย่อยระหว่างน้ำตาลแต่ละชนิดอาจมีความแตกต่างกัน แป้งเพคติน (pectins) และโพลียูโรไนด์ (polyuronides) จะถูกหมักย่อยเร็วกว่าเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส แต่จะช้ากว่าน้ำตาลที่ละลายได้ (Hungate, 1966; Van Soest, 1982) การที่มีน้ำตาลหรือแป้งในอาหารมากจะพบว่าความเป็นกรดด่างในกระเพาะหมัก (rumen pH) ลดลง (Hungate, 1966) เมื่อ pH ในกระเพาะหมักลดลง ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะเปลี่ยนจากแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส (cellulolytic bacteria) ไปเป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายอะมัยโลส (amylolytic bacteria) (Mann and Orskov, 1975; Mould and Orskov, 1983; Mould *et al.*, 1983) และโปรโตซัวชนิดขน (ciliate protozoa) จะลดจำนวนลง (Eadie and Mann, 1970)

การให้สัตว์ได้รับแป้งหรือน้ำตาลจะเป็นผลให้การย่อยได้ของเซลลูโลสหรือเยื่อใยหยาบในสัตว์ทดลอง ในห้องปฏิบัติการ และในถุงไนล่อนลดลง (McManus *et al.*, 1972; Lindberg, 1981b; Setala, 1983; Mould and Orskov, 1983; Mould *et al.*, 1983) เมื่อการย่อยของเซลลูโลส หรือเยื่อใยหยาบลดลง มักเป็นผลให้การย่อยไนโตรเจนลดลงด้วย (Lindberg, 1981b; Lindberg and Varvikko, 1982) ในการศึกษาวิธีการใช้ถุงไนล่อนมักพบว่าการย่อยได้ของไนโตรเจนลดลงเมื่อเปลี่ยนอาหารจากที่มีอาหารหยาบอยู่สูง (high roughage diet) เป็นอาหารที่มีเมล็ดธัญพืชอยู่สูง (high cereal diet) (Mohammed and Smith, 1977; Ganev *et al.*, 1979; Weakly *et al.*, 1983)

จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนหลัก อย่างไรก็ตามแบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถเจริญได้โดยใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว แต่ต้องการกรดอะมิโนด้วย นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดใช้ทั้งเปปไทด์และแอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน (Allison, 1982)

Harris และ Mitchell (1941) พบว่าการย่อยได้วัตถุแห้งและเซลลูโลสของอาหารหยาบที่มีไนโตรเจนต่ำเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมด้วยยูเรียหรือเคซีน (casein) ทำนองเดียวกัน Orskov และคณะ. (1972) พบว่าการย่อยได้อินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมอาหารที่ประกอบด้วยฟางข้าวบาร์เลย์เป็นหลักด้วยยูเรีย การทดลองอื่น ๆ ที่ให้ผลเช่นเดียวกันได้แก่ การเสริมด้วยยูเรีย (Mehrez and Orskov, 1977), กากถั่วเหลือง (Wiedmeier *et al.*, 1983), เคซีน (McManus *et al.*, 1972), ปลาป่น (Mohammed and Smith, 1977)

ในการหาการย่อยสลายของอาหารชนิดใดชนิดหนึ่ง สัตว์ทดลองที่ใช้ควรได้รับอาหารชนิดนั้น ๆ แต่ในแง่ปฏิบัติเป็นไปได้ยาก ฉะนั้นในเชิงปฏิบัติควรประกอบสูตรอาหารสำหรับใช้ทดลองให้ประกอบด้วยชนิดของวัตถุดิบต่าง ๆ ที่จะทำให้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในกระเพาะหมักเจริญเติบโตและรักษาสมดุลย์ในด้านปริมาณอยู่ได้ อาหารสำหรับสัตว์ทดลองที่ใช้หาการย่อยสลายแนะนำโดย Lindberg (1985) ประกอบด้วย 50% วัตถุแห้งของหญ้าแห้ง (10-12 % โปรตีน) และ 50% วัตถุแห้งของอาหารข้น (17-18% โปรตีน) อาหารนี้ให้สัตว์ได้รับที่ระดับความต้องการเพื่อการดำรงชีพ

ชนิดของสัตว์ทดลอง

Siddons และ Paradine (1983) พบว่าการหาการย่อยสลายในกระเพาะหมักโดยวิธีใช้ถุงไนล่อนในแกะจะมีค่าสูงกว่าในโคเนื้อ เมื่อได้รับหญ้าแห้งและหญ้าแห้งเสริมด้วยอาหารข้น Garnsworthy และ Brown (1983) พบว่าการย่อยสลายในแกะสูงกว่าในโคนมเช่นเดียวกัน เมื่อสัตว์ได้รับหญ้าแห้งเสริมด้วยอาหารข้นที่มีข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนผสม แต่ถ้า

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบวิธีการศึกษาการย่อยสลายของอาหารสัตว์

Procedure	Denmark	Finland	Sweden	Nordic	Orskov	Lindberg
Bag pore size (μm)	36	40	20-36	35-40	20-40	20-40
Sample particle size (mm)	2.0	1.5	1.0	1.5	2.5-3.0	1.0-2.0
Sample size (mgDM/cm^2)	10	25-30	10	10-15	25-40	10-15
Animal	Cow	Sheep/steer	Cow	Cow	Sheep	Cow
Basal diet	Hay	Hay	Hay:Conc (50:50)	Hay:Conc (50:50)	-	Hay:Conc (50:50)
Feeding level	Maintenance	Maintenance	Maintenance	Maintenance	Maintenance	Maintenance
Incubation time (hr)						
Cereals, protein suppl.	1,3,5,8,16,24	2,5,9,18,24	2,4,8,16,24	2,4,8,16,24	2,6,12,24,36	2,4,8,16,24
Roughage	As above +48	As above+48	As above+48	As above+48	12,24,48,72	As above+48
Replications	2-4	2-4	3-4	3-4	3	3-4

ที่มา: Linberg (1985)

ใช้ข้าวโพดแทนข้าวบาร์เลย์จะไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายระหว่างแกะกับโคนม Prigge และคณะ (1984) ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายระหว่างแกะกับโคเนื้อที่ได้รับอาหารหยาบ

อย่างไรก็ตามการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้ค่อนข้างซับซ้อน ฉะนั้นในการศึกษาถึงการย่อยสลายของอาหารเพื่อหวังผลนำไปใช้ในสัตว์ชนิดใดก็ควรใช้สัตว์ชนิดนั้นในการศึกษาและพยายามควบคุมปัจจัยอื่นๆให้เป็นไปตามระเบียบวิธีการศึกษา

ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการหาค่าการย่อยสลายในถุงไนล่อน

นอกเหนือจากปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการหาค่าการย่อยสลายของอาหารดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อค่าที่หาได้ เช่น การเกาะตัวของจุลินทรีย์บนอนุภาคอาหารที่ไม่ถูกย่อยในถุงและบนถุง (microbial colonisation of bag residue) จำนวนซ้ำของสัตว์ทดลองและจำนวนซ้ำของถุงไนล่อน เป็นต้น อย่างไรก็ตามอิทธิพลของปัจจัยเหล่านี้ควรที่จะได้มีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม

ตารางที่ 1 ได้เปรียบเทียบระเบียบวิธีการศึกษาค่าการย่อยสลายของอาหารสัตว์ที่นักวิจัยและสถาบันต่างๆได้ให้คำแนะนำไว้ เพื่อให้พิจารณาเป็นแนวทางประกอบการศึกษาการหาค่าการย่อยสลายของอาหารสัตว์ชนิดต่างๆโดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน

สรุป

การทราบถึงการย่อยสลายอาหารโดยเฉพาะโปรตีนในกระเพาะหมักจะเป็นประโยชน์ในการประเมินคุณค่าของโปรตีนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง และรวมถึงการจัดการด้านการให้อาหารที่เหมาะสมกับความต้องการ ปัจจุบันนักวิชาการด้านอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ให้ความสนใจในวิธีการประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมัก ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาโดยใช้สัตว์ทดลอง การศึกษาในห้องปฏิบัติการหรือการศึกษาโดยใช้ถุงไนล่อน ในบางครั้งอาจจะต้องทำหลาย ๆ วิธีเพื่อเปรียบเทียบกันหรือเปรียบเทียบเป็นมาตรฐาน อย่างไรก็ตามวิธีการต่าง ๆ เหล่านี้มีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน แต่ที่นิยมมากใน

ปัจจุบันก็คือวิธีการใช้ถุงไนล่อน ถึงแม้วิธีนี้จะได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง การศึกษาต้องพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆที่อาจมีผลกระทบต่อค่าการย่อยสลายที่หาได้ เพื่อจะได้ดำเนินการศึกษาได้อย่างถูกต้อง ซึ่งรายละเอียดต่างๆได้รวบรวมไว้ในบทความนี้แล้ว

เอกสารอ้างอิง

Allison, M.J. 1982. Nitrogen requirements of ruminal bacteria. In Protein Requirements for Cattle. Owens, F.N. (ed). Symposium at Oklahoma State University. pp.128-132.

Burroughs, W, Frank, N.A., Gerlaug, P. and Bethke, R.M. 1950. Preliminary observations upon factors influencing cellulose digestion by rumen microorganisms. Journal of Nutrition. 40:9-24.

Chamberlain, D.G. and Thomas, P.C. 1979. Prospective laboratory methods for estimating the susceptibility of feed proteins to microbial breakdown in the rumen. Proceedings of Nutrition Society. 138A.

Chenost, M., Grenet, E., Dermaquilly,C. and Jarrige, R. 1970. The use of the nylon bag technique for the study of forage digestion in the rumen and for predicting feed value. Proceedings of the Xith International Grassland Congress. pp.697-701.

Clark, R.T.J. 1977. Methods for studying gut microbes. In Microbial Ecology of the Gut. Clark, R.T.J. and Bauchop, T. (ed). Academic Press, New York. pp.1-33.

Crawford, R.J., Hoover, W.H., Sniffen, C.J. and Crooker, B.A. 1978. Degradation of feedstuff nitrogen in the rumen vs nitrogen solubility in three solvents. Journal of Animal Science. 6:1768-1755.

Crooker, B.A., Sniffen, C.J., Hoover, W.H. and Johnson, L.L. 1978. Solvents for soluble nitrogen measurements in feedstuffs. Journal of Dairy Science. 4:437-447.

Eadie, M.J. and Mann, S.O. 1970. Development of the rumen microbial population: High starch diets and instability. In Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Phillipson, A.T. (ed) Oriel Press. Newcastle Upon Tyne, England. pp.335-347.

Ersland, D.R., Brown, J.W.S., Casey, R. and Hall, T.C. 1983. The sorage proteins of Phaselous vulgaris L., Vicia faba L. and Pisum s ativum L. In Seed Proteins. Biochemistry, genetics, nutritive values. Gottschalk, W. and Muller, H.P. (ed). Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, London. pp.355-375.

Erwin, E.S. and Elliston, N.G. 1959. Rapid method of determining digestibility of concentrates and roughages in cattle. Journal of Animal Science. 18:1518 (Abstract).

Ferguson, W.S. and Terry, R.A. 1954. The fractionation of the non-protein nitrogen of grassland herbage. Journal of Science, Food and Agriculture. 5:515-524.

Figroid, W., Hale, W.H. and Theurer, B. 1972. An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilisation of grains. Journal of Animal Science. 35:113-120.

Freer, M. and Dove, H. 1984. Rumen degradation of protein in sunflower meal, rapeseed meal and lupin seed placed in nylon bags. Animal Feed Science and Technology. 11:87-101. Ganev, G., Orskov, E.R. and Smart, R. 1979. The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. Journal of Agricultural Science (Cambridge). 93:651-656.

Garnsworthy, P.C. and Brown, H.M. 1983. A comparison of dairy cows and sheep for assessing protein degradability. In The IVth Intern ational Symposium on Protein Metabolism and Nutrition. Clermont-Ferrand, France. INRA Publication No.16. pp.247-250.

Harris, L.E. and Mitchell, H.H. 1941. The value of urea in the synthesis of protein in the paunch of the ruminant. Journal of Nutrit ion. 22:167-182.

Hegarty, M.P. and Peterson, P.J. 1973. Free amino acids, bound amino acids, amines and ureides. In Chemistry and Biochemistry of Her bage. Butler, G.W. and Bailey, R.W. (ed). Academic Press, London. pp.2-62.

Henderick, H. and Martin, J. 1963. In vitro study of the nitrogen metabolism in the rumen. IRSIA comptes rendus de recherches 31.

Hennessey, D.W., Lee, G.J. and Williamson, P.J. 1983. Nitrogen loss from protein meals held in terylene bags in the rumen of cattle and the nutritive value of the residue. Australian Journal of Agricultural Research. 34:453-467.

Hopson, J.D., Johnson, R.R. and Dehority, B.A. 1963. Evaluation of the dacron bag technique as a method for measuring cellulose digestibility and

rate of forage digestion. Journal of Animal Science. 22:448-453.

Hungate, R.E. 1966. The Rumen and Its Microbes. Academic Press, New York.

Lindberg, J.E. 1981a. The effect of sample size and sample structure on the degradation of dry matter, nitrogen and cell walls in nylon bags. Swedish Journal of Agricultural Research. 11:71-76.

Lindberg, J.E. 1981b. The effect of basal diet on the ruminal degradation of dry matter, nitrogenous compounds and cell walls in nylon bags. Swedish Journal of Agricultural Research. 11:159-169.

Lindberg, J.E. 1982. Ruminal flow rate of soya-bean meal, rapeseed meal and cotton seed meal in cows fed at maintenance and at three times maintenance. Journal of Agricultural Science. (Cambridge). 98:689-691.

Lindberg, J.E. 1984. Nitrogen metabolism in sheep. 2. A comparison between rumen degradability of nitrogen and organic matter *in sacco* and *in vivo* in sheep fed rations with hay, barley and various protein supplements. Swedish Journal of Agricultural Research. 14:3 7-43.

Lindberg, J.E. 1985. Estimation of rumen degradability of feed proteins. A Review. Acta Agriculturae Scandinavica. Supplement 25:65- 97.

Lindberg, J.E. and Knutsson, P.G. 1981. Effect of bag pore size on the loss of particulate matter and on the degradation of cell wall fibre. Agricultural Environment. 6:171-182.

Lindberg, J.E. and Varvikko, T. 1982. The effect of bag pore size on the ruminal degradation of dry matter, nitrogenous compounds and cell wall in nylon bags. Swedish Journal of Agricultural Research. 12:163-171.

Lindberg, J.E., Clason, C., Ciszuk, P. and Den Braver, E. 1982. Buffer-solution and short-term *in sacco* degradable crude protein in relation to ruminal ammonia concentration in sheep. Swedish Journal of Agricultural Research. 12:77-82.

Little, C.D., Burroughs, W. and Woods, W. 1963. Nutritional significance of soluble nitrogen in dietary proteins for ruminants. Journal of Animal Science. 1:358-363.

Lowrey, R.S., Burton, G.W., Johnson, J.C., Merchant, W.H. and McCormick, M.C. 1968. In vivo studies with coastcross 1 and other bermudas. University of Georgia College of Agricultural Experimental Station, Research Bulletin, No.55.

Lyttleton, J.W. 1973. Proteins and nucleic acids. In Chemistry and Biochemistry of Herbage. Butler, G.W. and Bailey, R.W. (ed). Academic Press, London. pp.63-103.

Mangan, J.L. 1982. The nitrogenous constituents of fresh forages. In Forage Protein in Ruminant Animal Production. Thomson, D.J., Be ever, D.E. and Gunn, R.G. (ed). Occasional Publication No.6. British Society of Animal Production. pp.25-40.

Mann, S.O. and Orskov, E.R. 1975. The effect of feeding whole or pelleted barley to lambs on their rumen bacterial populations and pH. Proceedings of Nutrition Society. 34:63A-64A.

Mathers, J.C., Horton, C.M. and Miller, E.L. 1977. Rate and extent of protein degradation in the rumen. Proceedings of the Nutrition Society. 36:37A.

McLeod, M.N. and Minson, D.J. 1969. Sources of variation in the *in vitro* digestibility of tropical grasses. Journal of British Grass land Society. 24:244-249.

McManus, W.R., Manta, L., McFarlane, J.D. and Gray, A.C. 1972. The effects of diet supplements and gamma irradiation on dissimilation of low-quality roughages by ruminants. I. Studies on the terylene bag technique and effects of supplementation of base ration. Journal of Agricultural Science, (Cambridge) 79:27-40.

Miller,.E.L. 1982. Methods for assessing proteins for ruminants, including laboratory methods. In Protein Contribution of Feedstuffs for Ruminants. Miller, E.L., Pike, I.M. and Van Es, A.J.H. (ed). Butterworths, London. pp.18-35.

Mehrez, A.Z. and Orskov, E.R. 1977. A study of artificial bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. Journal of Agricultural Science. (Cambridge). 88:645-650.

Mohammed, O.E. and Smith, R.H. 1977. Measurement of protein degradation in the rumen. proceedings of Nutrition Society. 36:152A.

Mould, F.L.and Orskov, E.R. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis *in sacco*, dry matter digestion a nd the rumen microflora of sheep offered hay or concentrate. Animal Feed Science and Technology. 10:1-14.

Mould, F.L., Orskov, E.R. and Mann, S.O. 1983. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. Animal Feed Science and Technology. 10:15-30.

National Research Council. 1985. Ruminant Nitrogen Usage. National Academy Press, Washington D.C. USA. 138p.

Orskov, E.R. and McDonald, I. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according

to rate of passage. Journal of Agricultural Science. (Cambridge). 92:499-503.

Orskov, E.R., Fraser, C. and McDonald, I. 1972. Digestion of concentrates in sheep. 4. The effects of urea on digestion, nitrogen re tention and growth in young lambs. British Journal of Nutrition. 27:491-501.

Orskov, E.R., Hughes-Jones, M. and Eliman, M.E. 1983. Studies on degradation and outflow rateof protein supplements in the rumen of sheep and cattle. Livestock Production Science. 10:17-24.

Orskov, E.R., McLeod, N.A. and Grubb, D.A.1980. New concepts of basal N metabolism in ruminants. In Protein Metabolism and Nutrition. Oslage, H.J. and Rohr, K. (ed). EAAP Publication No.27. Braunchweig, F.R. Germany. pp.451-456.

Playne, M.J., Khumnualthong, W. and Echevarria. 1978. Factors affecting the digestion of oesophageal fistula samples and hay samples in nylon bags in the rumen of cattle. Journal of Agricultural Science. (Cambridge). 90:193-204.

Prigge, E.C., Baker, M.J. and Varga, G.A. 1984. Comparative digestion, rumen fermentation and kinetics of forage diets by steers and wethers. Journal of Animal Science. 59:237-245.

Quin, J.I., Van der Wath, J.G. and Myburgh, S. 1938. Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. IV. Description of experimental technique. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry. 11(2):341-360.

Setala, J. 1983. The nylon bag technique in the determination of ruminal feed protein degradation. Journal of Science and Agriculture Society of Finland. 55:1-78.

Shewry, P.R. and Miflin, B.J. 1983. Characterisation and synthesis of barley seed proteins. In Seed Proteins-Biochemistry, Genetics,Nutritive Value. Gottschalk, W. and Muller, H.P. (ed). Marinus Nijholf/Dr W. Junk Publishers, London. pp.143-205.

Siddons, R.C. and Paradine, J. 1983. Protein degradation in the rumen of sheep and cattle. Journal of Science, Food and Agriculture.34:701-708.

Smith, C.R.Jr., Earle, F.R., Wolff, I.A. and Jones,Q. 1959. Comparisons of solubility characteristics of selected seed proteins. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 7:133-136.

Tomlin, D.C., Anderson, M.J. and Harris, L.E. 1967. Refinements in the *in vivo* bag rumen technique. Journal of Animal Science. 26:231. (Abstract).

Uden, P. and Van Soest., P.J. 1984. Investigation of the *in situ* bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. Journal of Animal Science. 58:213-221.

Uden, P., Parra, R. and Van Soest, P.J. 1974. Factors influencing reliability of the nylon bag technique. Journal of Dairy Science. 57:79. (Abstract).

Van Hellen, R.W. and Ellis, W.C. 1977. Sample container porosities for rumen *in situ* Studies. Journal of Animal Science. 44:141-146.

Van Keuren, R.W. and Heinemann, W.W. 1962. Study of a nylon bag technique for *in vivo* estimation of forage digestibility. Journal of Animal Science. 21:340-345.

Van Soest, P.J. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books Inc., Corvallis, Oregon. Warner, A.C. 1965. Factors influencing numbers and kinds of microorganisms in the rumen. In Physiology of Digestion in the Ruminant.Dougherty, R.W. (ed).Butterworths, Washington. pp.346-359.

Weakly, D.C., Stern, M.D. and Satter, L.D. 1983. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. Journal of Animal Science. 56:493-507.

Wiedmeier, R.D., Males, J.R. and Gaskins, C.T. 1983. Effect of dietary crude protein on the dry matter digestibility of wheat straw diets in cattle. Journal of Animal Science. 57:1568-1575.

Wohlt, J.E., C.J. Sniffen and W.H. Hoover. 1973. Measurement of protein solubility in common feedstuffs. Journal of Dairy Science. 8:1052-1057.