

ผลของการหมักฟางข้าวด้วยยูเรียร่วมกับฝักจามจูรีบดหมักต่อการเพิ่มคุณภาพฟางข้าวและลดระดับของอะฟลาทอกซิน B1 (AFB1) โดยวิธี *In vitro* Gas Production Technique

Effect of Urea Treated Rice Straw in Combination with Fermented Ground *Samanea Saman* Pods on Quality of Rice Straw and a Reduction of Aflatoxin B1 (AFB1) Level Using *In vitro* Gas Production Technique

อรอนงค์ พวงชมพู¹ จุฬาสินี แมนสทธิ¹ มิ่งขวัญ อุ่นสำโรง¹ สุริรัตน์ ศรีริม¹ ชัยณรงค์ ขาวทอง¹ และพิลาสลักษณ์ ปานประเสริฐ^{1*}

Onanong Pongchompu¹ Julasinee Mansatith¹ Mingquan Unsumrong¹ Sureerat Sririmoh¹ Chainarong Kaowthong¹ and Pilasrak Panprasert^{1*}

Received: June 4, 2018; Revised: October 22, 2018; Accepted: October 23, 2018

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเพิ่มคุณภาพของฟางข้าวปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B1 (AFB1) ด้วยยูเรียและฝักจามจูรีบดหมัก (GSSF) ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนโดยวิธี *In vitro* Gas Technique จากการศึกษาพบว่า เมื่อทำการหมักฝักจามจูรีบดร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มแล็กติกที่ได้จากนมเปรี้ยวพร้อมดื่มทำการหมักเป็นระยะเวลา 0 3 5 7 และ 14 วัน พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธีนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก ($P < 0.05$) และองค์ประกอบทางเคมีของฝักจามจูรีบดหมักพบว่า ปริมาณ DM อยู่ในช่วง 48-49 % ($P > 0.05$) และโปรตีนหยาบ เพิ่มขึ้นตามจำนวนวันหมัก ($P < 0.05$) ส่วนปริมาณของอะฟลาทอกซิน (ppb) หลังการหมักฟางข้าวร่วมกับฝักจามจูรีบดหมักอย่างเดียว มีค่าลดลงตามจำนวนวันหมักที่เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) นอกจากนั้นค่าโปรตีนหยาบในฟางที่หมักด้วยยูเรียและฝักจามจูรีบดหมัก ในวันที่ 5 และ 7 มีค่าสูงกว่า ฟางหมักด้วยฝักจามจูรีบดหมักอย่างเดียว ($P < 0.05$) สำหรับความสามารถในการย่อยได้ในโคเนื้อโดยใช้วิธี *In vitro* Gas Technique ของฟางข้าว

¹ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

¹ Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

* Corresponding Author E - mail Address: pilasrak.ao@gmail.com

ที่หมักด้วยยูเรียและฝักจามจุรีคั้นหมัก มีความสามารถในการย่อยได้มากกว่าฟางที่หมักด้วยฝักจามจุรีคั้นหมักอย่างเดียว ($P < 0.05$) รวมทั้งปริมาณของอะฟลาทอกซิน (ppb) ในน้ำรูเมนหลังการบ่มที่ 0 5 16 และ 24 ชั่วโมง มีค่าลดลงตามชั่วโมงการบ่มที่เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) และความแปรปรวนของการลดลงของอะฟลาทอกซินภายในทรีทเมนต์ เมื่อเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : ฟางข้าว; ยูเรีย; ฝักจามจุรี; อะฟลาทอกซิน

Abstract

This experiment aims to determine the effect of enhancement quality of rice straw contaminated with aflatoxin B1 (AFB1) by treated with urea and ground *Samanea saman* pods fermented (GSSF) on rumen degradability using in vitro gas technique. The results showed that when fermented ground *Samanea saman* pods with lactic acid bacteria from yogurt drink, 0, 3, 5, 7 and 14 days, the number of total bacteria by microscopic count increased over the period of fermentation ($P < 0.05$). The dry matter content as in the range 48 - 49 % ($P > 0.05$) and protein were increased by the number of days fermentation ($P < 0.05$). The amount of aflatoxin (ppb) after fermented rice straw with 5 % GSSF only was decreased with the number of days of fermentation ($P < 0.05$). The crude protein content in rice straw fermented with 2.5 % urea and 2.5 % GSSF of 5 and 7 days of fermentation were higher than 5 % GSSF ($P < 0.05$). The rumen degradability in beef cattle using in vitro gas technique of rice straw fermented with 2.5 % urea and 2.5 % GSSF were higher than fermented with 5 % GSSF ($P < 0.05$). The amount of aflatoxin (ppb) in rumen fluid after incubation at 0, 5, 16 and 24 h decreased with increasing incubation time ($P < 0.05$) and variability reduction of Aflatoxin in treatment when the incubation time increases.

Keywords: Rice Straw; Urea; *Samanea saman* pods; Aflatoxin

บทนำ

การพัฒนาปรับปรุงคุณภาพของฟางข้าวให้ดีขึ้นสามารถทำได้ในหลาย ๆ วิธี เช่น การใช้วิธีทางกายภาพ โดยการสับ การใช้วิธีทางเคมีโดยการหมักด้วย สารอัลคาไลน์ ยูเรีย หรือวิธีทางชีวภาพ เช่น การใช้น้ำหมักชีวภาพ น้ำหมักยีสต์ [1] - [3] สัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นสัตว์กลุ่มหนึ่งที่มีความเกี่ยวข้องต่อภาวะเสี่ยงเนื่องจากสารพิษที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ และสามารถส่งผ่านสารพิษเหล่านั้นผ่านทางน้ำนมหรือเนื้อได้รวมถึงผลต่อสุขภาพของสัตว์ และผลเสียทางเศรษฐกิจ [4] - [5] ถึงแม้ว่าสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีศักยภาพในการกำจัดพิษหรือลดพิษจากสารพิษ โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักก็ตาม [6] - [7] แต่ในบรรดาสารพิษต่าง ๆ aflatoxin ก็ยังเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการผลิตน้ำนม โดยเกิดการเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ aflatoxin M1 (AFM1)

ในน้ำมัน [8] และสามารถส่งผลเสียไปถึงผู้บริโภคน้ำมันที่มีการปนเปื้อนของ aflatoxin นอกจากนั้นแล้ว aflatoxin สามารถพบได้ในหลาย ๆ รูปแบบในอาหารสัตว์ ได้แก่ aflatoxin B1, B2, G1 และ G2 ซึ่ง aflatoxin B1 (AFB1) เป็นตัวที่มีบทบาททางชีวภาพและความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะการเป็นสารก่อมะเร็ง [9] - [10] สารพิษอะฟลาทอกซินสามารถทำลายระบบภูมิคุ้มกันทำให้ความต้านทานโรคต่ำเกิดโรคแทรกซ้อนได้ง่าย เช่น โรคเต้านมอักเสบในแม่โค แม้จะได้รับวัคซีนก็ไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้เต็มที่ [11] ดังนั้นถ้ามีการจัดการอาหารที่ดี ก็จะสามารถช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนเนื่องจากการสร้าง aflatoxin จากเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* [12] ในอาหารสัตว์ จากแนวทางการนำน้ำหมักชีวภาพมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพอาหารสัตว์ ซึ่งเป็นแหล่งวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักนั้นมีความหลากหลาย จามจุรี (*Samanea saman*) เป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นไม้ขนาดใหญ่ที่ขึ้นอยู่ทั่วไปในประเทศไทย และประเทศเขตร้อน ออกดอกและติดฝักในช่วงฤดูแล้ง โดยในฝักจามจุรีมีองค์ประกอบที่เป็นน้ำตาลสูง รวมถึงมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่ระดับ 18.1 % [13] - [14] และได้มีการนำมาใช้เป็นแหล่งของพลังงานและโปรตีนในอาหารสัตว์อย่างแพร่หลาย รวมทั้งเกษตรกรโดยทั่วไปก็มีการเก็บฝักจามจุรี มาให้โคกินเป็นเวลานานแล้ว การนำฝักจามจุรีมาบดและทำน้ำหมักฝักจามจุรีร่วมกับการใช้ยูเรียเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของฟางข้าว และช่วยป้องกันอันตรายจากการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จึงเป็นการสร้างทางเลือกให้กับเกษตรกรในการเพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงโค กระบือ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเพิ่มคุณภาพของฟางข้าวปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B1 (AFB1) ด้วยยูเรียและฝักจามจุรีบดหมัก (GSSF) ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ในกระเพาะหมักโดยวิธี *In vitro* Gas Technique

วิธีดำเนินการ

การเตรียมฝักจามจุรีบดหมัก (GSSF)

ทำการเตรียมน้ำหมักขั้นที่ 1 โดยใช้อัตราส่วนของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวของผู้ผลิตทางการค้าที่ยังไม่หมดอายุ: กากน้ำตาล : น้ำ คือ 1 : 2 : 3 ใช้เวลาในการหมัก 3 วัน ในภาชนะปิดที่ไม่มีอากาศเมื่อทำการหมักครบ 3 วัน นำน้ำหมักที่ได้ มาหมักร่วมกับฝักจามจุรีในสัดส่วน น้ำหมัก : ฝักจามจุรีบด : น้ำ เป็น 1 : 25 : 25 แล้วทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0 3 5 7 และ 14 วัน เพื่อนำไปนับเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำหมักโดยวิธี Microscopic Direct Count และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (Dry Matter, DM) โปรตีนหยาบ (Crude Protein, CP) เถ้า (Ash) ตามวิธีการของ [15] และวิเคราะห์ Neutral Detergent Fiber (NDF) และ Acid Detergent Fiber (ADF) ตามวิธีการของ [16]

การเตรียมน้ำหมักด้วยยูเรียและฝักจามจุรีบดหมัก

นำฟางข้าวมาทำการสับให้มีขนาดประมาณ 3-5 cm หลังจากนั้นนำมาทำการหมัก โดยมีส่วนประกอบของฟาง 1 กิโลกรัม น้ำ 1 ลิตร ผสมกับสารมาตรฐาน AFB1 (Aflatoxin B1 solution 20 µg/mL in methanol, analytical standard, 44647-U SUPELCO) โดยมีความเข้มข้นสุดท้าย 100 ppb เมื่อผสมกับน้ำ 1 ลิตร และใส่ส่วนผสมยูเรียและฝักจามจุรีบดหมัก โดยในส่วนของวิธีการจัดทริทเมนต์นั้น เป็นการนำฟางข้าวมาผสมกับ AFB1 แล้วมาผสมกับสารละลายเพื่อทำการหมักที่ระดับ 5 % ของฟางข้าว โดยสารละลายที่ทำการหมักนั้นมีส่วนผสมของยูเรียและน้ำหมักฝักจามจุรีบด และทำการหมักเป็นระยะเวลา 0 3 5 และ 7 วัน โดยจัดเป็นทริทเมนต์ ดังนี้

Ufd 0	=	ยูเรีย	2.5 %	:	น้ำหมัก	2.5 %	หมัก 0 วัน
Ufd 2	=	ยูเรีย	2.5 %	:	น้ำหมัก	2.5 %	หมัก 3 วัน
Ufd 3	=	ยูเรีย	2.5 %	:	น้ำหมัก	2.5 %	หมัก 5 วัน
Ufd 4	=	ยูเรีย	2.5 %	:	น้ำหมัก	2.5 %	หมัก 7 วัน
Fd 0	=	ยูเรีย	0 %	:	น้ำหมัก	5 %	หมัก 0 วัน
Fd 3	=	ยูเรีย	0 %	:	น้ำหมัก	5 %	หมัก 3 วัน
Fd 5	=	ยูเรีย	0 %	:	น้ำหมัก	5 %	หมัก 5 วัน
Fd 7	=	ยูเรีย	0 %	:	น้ำหมัก	5 %	หมัก 7 วัน

โดยทรีเพนทที่ศึกษาเป็นแบบ Combination และทำการลุ่มเก็บตัวอย่างฟางข้าวที่ได้จากการหมักร่วมกับยูเรียและฝักจามจุรีคหมัก นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (Dry Matter, DM) โปรตีนหยาบ (Crude Protein, CP) เถ้า (Ash) ตามวิธีการของ [15] และวิเคราะห์ Neutral Detergent Fiber (NDF) และ Acid Detergent Fiber (ADF) ตามวิธีการของ [16] และทำการวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซิน โดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ในรูปแบบการแข่งขันแบบตรง (Direct Competitive) ด้วยชุดทดสอบ อะฟลาทอกซิน (91 test/กล่อง; Higher Enterprises Co. Ltd.) Limit of detection = 0.4 ppb อ่านผลทดสอบด้วยเครื่อง Micro Plate Reader (ASYS, UVM 340, version 1.8.0.2, Biochrome Ltd.)

การศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนโดยวิธี *In vitro* Gas Technique

ทำการลุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักโคเนื้อเจาะกระเพาะที่ได้รับอาหารหยาบคือ ฟางข้าวแบบให้กินเต็มที่ และอาหารข้น 12 % โปรตีน ที่ 1 % ของน้ำหนักตัว เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว และมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา โดยทำการลุ่มเก็บที่ชั่วโมงที่ 0 หลังการให้อาหาร หลังจากนั้นนำมาศึกษาการย่อยได้ ดัดแปลงตามวิธีของ [17] และทำการบ่มที่เวลา 0 3 5 8 16 24 48 และ 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 39 °C และทำการวัดผลผลิตแก๊สที่เวลาต่าง ๆ ของการบ่ม และนำค่าผลผลิตแก๊สมาคำนวณหาค่าความสามารถในการย่อยได้ตามสมการของ [18]

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้ Proc GLM [19] และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปัจจัยทดลอง โดยวิธี Duncan's Multiple Range test [20]

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลจากการหมักฝักจามจุรีคหมัก พบว่าเมื่อทำการผสมน้ำหมักในวันที่ 0 ทำการนับเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ทั้งหมดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 20×10^{12} cell/ml ดังตารางที่ 1 หลังจากนั้นพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก และทำการเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายในวันที่ 14 โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุด ($P < 0.05$) และสังเกตพบว่า เมื่อทำการหมักฝักจามจุรีค ตั้งแต่วันที่ 5 เป็นต้นไปจะมีกลิ่นฉุนอย่างรุนแรง ซึ่งอาจสอดคล้องกับรายงานอื่น ๆ ที่พบว่า มีสารประกอบ (Secondary Compound) ในผลและเมล็ดของฝักจามจุรี เช่น Pitecolobina เป็นประเภท

ของสารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) แทนนินส์ (Tannins) แซปโปนินส์ (Saponins) สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogenous Compounds) กลูโคไซด์ (Glucosides) เรซินส์ (Resines) และมิวซิเลจ (Mucilages) [21] - [23] ที่อาจก่อให้เกิดกลิ่นจืด เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นแล้วพบว่าฝักจามจุรีมีคุณค่าทางโภชนาสูงสามารถนำมาเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้อย่างมีประสิทธิภาพ [14], [21], [24]

ตารางที่ 1 Total number of bacteria cells counted of GSSF by direct count using a counter chamber on 0, 3, 5, 7 and 14 days of fermentation

X 10 ¹²	0 day	3 day	5 day	7 day	14 day	SEM	Pr>F
Bacteria	2.00 ^a	6.33 ^a	25.66 ^b	25.33 ^b	47.22 ^c	38.43	0.0001

^{abc} Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM = Standard Error of the Mean

จากที่กล่าวมาข้างต้นเมื่อพิจารณาจากตารางที่ 2 เมื่อทำการเก็บตัวอย่างฝักจามจุรีบดหมักตามวันของการหมัก พบว่าฝักจามจุรีบดไม่ถูกย่อยสลายทั้งหมด ทำให้ค่าวัตถุแห้งมีค่าอยู่ในช่วง 48 - 49 % และพบว่าค่าโปรตีนเพิ่มขึ้นตามจำนวนวันหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อาจเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ [23] และบ่งชี้ว่าผลจากสารประกอบที่มีอยู่ในฝักจามจุรี เช่น แทนนินส์ และแซปโปนินส์ ไม่รบกวนการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรีย แต่ในส่วนของการเชื้อรา [25] ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารประกอบจากเปลือกถั่ววอลนัท ได้แก่ Hydrolysable Tannins, Flavonoids และ Phenolic Acids พบว่าสามารถลดสารอะฟลาทอกซินได้ถึง 99.8 % โดยรายงานว่าการเพิ่มของสารอนุมูลอิสระของสารประกอบเหล่านี้เข้าไปรบกวนการทำงานของเซลล์เชื้อรา ทำให้มีผลยับยั้งในการสร้างและสะสมอะฟลาทอกซินของเชื้อรา ส่วนค่าองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีรายงานว่า ฝักจามจุรีมีค่าโปรตีนอยู่ในช่วง 14.0 - 24.7 % [14], [26] - [27] ดังนั้นสารแทนนินส์ยังอยู่ในระดับที่จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียยังสามารถเจริญได้ [28]

ตารางที่ 2 Chemical composition of GSSF on 0, 3, 5, 7 and 14 days of fermentation (%DM)

Chemical composition (%DM)	3 day	5 day	7 day	14 day	SEM	Pr>F
DM	49.58	49.25	48.34	49.11	9.87	0.9664
ASH	4.26	5.66	6.02	5.66	1.82	0.4446
CP	10.22 ^a	12.34 ^{ab}	14.22 ^{cb}	16.76 ^c	1.92	0.0025
NDF	51.00	48.33	43.00	42.66	59.16	0.5044
ADF	39.33	32.00	31.33	33.33	11.00	0.0640

^{abc} Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM = Standard Error of the Mean. DM = Dry Matter, CP = Crude Protein, ADF = Acid Detergent Fiber, NDF = Neutral Detergent Fiber

ตารางที่ 3 พบว่าปริมาณของอะฟลาทอกซิน (ppb) หลังการบ่มฟางข้าวร่วมกับน้ขมหมัก ในวันที่ 3 5 และ 7 ในกลุ่มที่หมักร่วมกันระหว่างยูเรียและฝักจามจุรีบนหมัก มีค่าลดลงตามจำนวนวันหมักที่เพิ่มขึ้น ($P > 0.05$) โดยที่กลุ่มที่หมักด้วยฝักจามจุรีบนหมักอย่างเดียวมีค่าลดลงตามจำนวนวันหมักที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า จุลินทรีย์จากอาหารหมักสามารถลดปริมาณของอะฟลาทอกซินได้ โดยส่วนหนึ่งนี้นั้นคือกลุ่มแลคติกแอซิด แบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria, LAB) เนื่องจากเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกลุ่ม Starter ของการหมักในการทดลองครั้งนี้ ดังจะเห็นได้จากระดับของอะฟลาทอกซินลดลงตามจำนวนวันหมัก และกลุ่มที่หมักด้วยฝักจามจุรีบนหมักเพียงอย่างเดียวสามารถลดอะฟลาทอกซินได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ Lactic Acid Bacteria (LAB) สามารถจับกับอะฟลาทอกซินได้โดยใช้เทคนิค ELISA และ HPLC ในการทดสอบปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ไม่ถูกจับโดย LAB [29] - [31] นอกจากนี้รายงานของ [32] - [33] พบว่า pH มีผลต่อความสามารถในการสร้างสารเมแทบอไลต์ (Metabolite) ของ LAB ในการเป็นสารยับยั้งเชื้อรา (Antifungal) โดยจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อมี pH ต่ำ ซึ่งการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับที่กล่าวมา คือ ในส่วนของทรีทเมนต์ที่มียูเรียเป็นส่วนผสมในการหมักนั้น เมื่อเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์จะได้ผลผลิตเป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ [34] ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างทำให้ pH อาจสูงกว่ากลุ่มที่หมักด้วยน้ำหมักอย่างเดียว [30], [35] - [36] โดยรายงานของ [37] พบว่าความแข็งแรงในการจับกับอะฟลาทอกซินของแบคทีเรียนั้นมีความเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของ Peptidoglycans และชนิดของอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ อีกทั้งความเข้มข้นของจำนวนเซลล์ของ LAB ก็มีผลต่อความสามารถในการจับกับอะฟลาทอกซิน [38] รายงานว่าที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml มีประสิทธิภาพในการลดลงของทอกซินอย่างชัดเจน และพบว่าจุลินทรีย์สามารถเข้าจับกับทอกซินได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการหมักและพบการลดลงอย่างชัดเจนหลังการหมักที่ 24 ชั่วโมง [39] กล่าวว่าการลดลงของอะฟลาทอกซินเกิดจากการใช้กลไกการจับด้วยพันธะโควาเลนต์กับ AFB1 โดย LAB และการใช้คุณสมบัติ Hydrophobic Pockets บนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย [30], [40]

ตารางที่ 3 Concentration (ppb) of aflatoxin after incubation with fermented rice straw

	3 day	5 day	7 day	SEM	Pr>F
UF	53.85	45.24	35.25	18.74	0.0531
F	49.33 ^a	34.91 ^b	20.25 ^c	13.66	0.0102

^{abc} Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM = Standard Error of Mean, UF = ยูเรีย 2.5 % : GSSF 2.5 %, F = urea 0 % : GSSF 5 %

ตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาค่าวัตถุแห้ง พบว่าในฟางข้าวสับที่หมักด้วยยูเรียและฝักจามจุรีบนหมัก (UF) มีค่าอยู่ในช่วง 49.2 - 53.2 % ในขณะที่ฟางสับหมักด้วยฝักจามจุรีบนหมัก (Fd) มีค่าวัตถุแห้งอยู่ในช่วง 53.5 - 56.5 % ซึ่งมีค่าสูงกว่า ($P > 0.05$) อาจเนื่องมาจากส่วนวัตถุแห้งของฝักจามจุรีบนหมักแต่ในส่วนค่าโปรตีนหยาบพบว่า ฟางที่หมักด้วยยูเรียและฝักจามจุรีบนหมัก UFd5, UFd7 มีค่าสูงกว่า ($P < 0.05$) ฟางสับหมักด้วยฝักจามจุรีบนหมัก (Fd) ทั้งนี้เนื่องจากมียูเรียเป็นส่วนผสม จึงทำให้มีปริมาณไนโตรเจนอยู่สูงในทรีทเมนต์ และไนโตรเจนส่วนหนึ่งถูกจุลินทรีย์ นำไปใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ส่งผลให้

เพิ่มขึ้นของค่าโปรตีนหยาบ ในส่วนของค่า NDF และ ADF มีการลดลงตามวันหมักที่เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาในกลุ่มของ Ufd แต่เมื่อพิจารณาในกลุ่มของฝักจามจูริบคหมัก (Fd) พบว่ามีค่าต่ำกว่า Ufd0 Ufd3 Ufd5 ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับ Ufd7 ($P > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากผลของการแตกตัวของยูเรียได้เป็นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่มีฤทธิ์เป็นด่างมีผลทำให้เยื่อใยของฝักจามจูริมีความอ่อนนุ่ม จุลินทรีย์สามารถเข้าย่อยสลายได้ง่าย รวมถึงผลเนื่องมาจากกรดที่ได้จากการหมักของจุลินทรีย์ที่ทำให้เยื่อใยสามารถถูกย่อยสลายมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามฟางข้าวที่หมักด้วยฝักจามจูริบคหมัก (Fd) นั้นไม่ได้ถูกกระทบโดยจำนวนวันหมักที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากผลของส่วนที่ไม่ถูกย่อยจากกระบวนการหมักของฝักจามจูริบคที่ใช้ในการหมักฟางข้าว ซึ่งมีทั้งส่วนเปลือก และส่วนเมล็ดที่มีเปลือกแข็ง อีกทั้งปริมาณกรดที่เกิดจากการหมักของจุลินทรีย์อาจมีจำนวนไม่มากพอสำหรับการทำให้เยื่อใยของเส้นฟางมีความเหมาะสมต่อการเข้าย่อยของจุลินทรีย์ โดยที่ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ใช้ยูเรียเพื่อเพิ่มโปรตีนหยาบในฟางข้าว ร่วมกับฝักจามจูริบคหมัก และการเพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับการใช้น้ำหมักอย่างเดียวในการเพิ่มโปรตีนและจุลินทรีย์ [41] รายงานว่า การหมักฟางด้วยยูเรีย 5 % สามารถเพิ่มโปรตีนหยาบและปริมาณการกินได้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง รวมถึงการใช้น้ำหมักชีวภาพ น้ำหมักยีสต์ [1], [3] ช่วยปรับปรุงคุณภาพฟางข้าวได้

ตารางที่ 4 Chemical composition of rice straw treated with urea and GSSF (%DM)

	Ufd0	Ufd3	Ufd5	Ufd7	Fd0	Fd3	Fd5	Fd7	SEM	Pr>F
DM	49.21	50.46	53.21	52.78	53.57	56.48	56.18	53.55	6.93	0.2154
ASH	4.64 ^a	5.34 ^{bc}	4.54 ^a	4.57 ^a	4.92 ^{ab}	5.81 ^c	5.66 ^c	5.74 ^c	0.04	0.0008
CP	7.05 ^{ab}	7.47 ^{ad}	7.93 ^{cd}	8.33 ^c	6.32 ^c	6.51 ^{be}	6.56 ^{be}	6.98 ^{ab}	0.06	0.0004
NDF	61.31 ^a	56.18 ^b	52.75 ^c	44.17 ^{de}	42.16 ^c	44.22 ^{de}	46.23 ^d	43.66 ^c	0.86	0.0001
ADF	55.29 ^a	50.78 ^{ab}	46.27 ^{abc}	45.74 ^{bc}	42.27 ^{bc}	42.27 ^{bc}	42.73 ^{bc}	39.64 ^c	14.89	0.0271

abcde Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM = Standard Error of Mean, DM = (Dry Matter), ASH = Ash, CP = (Crude Protein), ADF = (Acid Detergent Fiber), NDF = (Neutral Detergent Fiber), Ufd0 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 0 day of fermentation, Ufd3 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 3 days of fermentation, Ufd5 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 5 days of fermentation

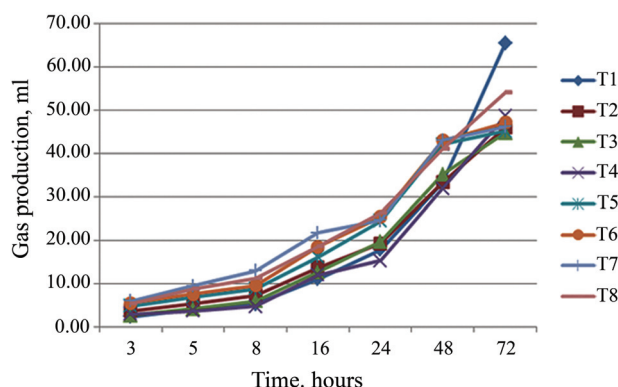
ตารางที่ 5 แสดงค่าผลผลิต และรูปแบบจุลินทรีย์ พบว่า ณ เวลาที่ 0 ของการบ่ม (a) มีค่าอยู่ในช่วง 0.27 - 2.67 ($P > 0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่ม Ufd พบว่าค่า a ลดลงตามวันหมักที่เพิ่มขึ้น ($P > 0.05$) ในขณะที่กลุ่ม Fd กลับพบว่า ค่า a เพิ่มขึ้น ตามวันหมักที่เพิ่มขึ้น ($P > 0.05$) อาจเนื่องมาจากในกลุ่มของ Ufd นั้นมีสัดส่วนของฝักจามจูริบคหมักน้อยกว่ากลุ่ม Fd เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบโปรตีนคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายง่ายที่มีมากในกลุ่ม Fd และเมื่อพิจารณาร่วมกับค่า b ซึ่งเป็นการทำงานของจุลินทรีย์ในน้ำหมัก พบว่าเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มของ Ufd ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) เป็นที่น่าสังเกตว่า Fd7 มีค่าสูงมากเมื่อเทียบในกลุ่ม Fd อาจเป็นไปได้เนื่องจากเวลาหมักที่มากขึ้น สารประกอบ (Secondary Compound) ที่มีอยู่ในฝักจามจูริบางชนิดที่ขัดขวางการทำงานของจุลินทรีย์รุ่มนั้นมีปริมาณลดลง และ

เมื่อพิจารณาค่า $a+b$ ซึ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการย่อยได้เป็นไปในทางเดียวกับค่า b จากข้อสังเกตที่ว่า สารประกอบ (Secondary Compound) ที่มีอยู่ในฝักจามจุรี เช่น แทนนินส์ แซปโพนินส์ และสารอื่น ๆ ส่งผลให้ปริมาณแก๊สเพิ่มขึ้นช้า ๆ ในช่วงเวลาที่ 3 - 5 ของการบ่ม และจะเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในช่วงเวลาที่ 8 ของการบ่ม รูปที่ 1 นอกจากนั้นแล้ว เนื่องจากอาหารมีเยื่อใยสูงจึงทำให้การย่อยได้เกิดขึ้นช้า สอดคล้องกับ [27] รายงานว่า เมื่อทำการหมักเศษเหลือจากมันสำปะหลัง (Cassava Waste) ร่วมกับ *Aibizia Saman* Pod พบว่าเมื่อศึกษาในระบบ *In vitro* Gas Technique ให้ค่าปริมาณแก๊สดำเนินจากการย่อยได้ของ NDF และ ADF ต่ำ รวมถึงผลจากสารประกอบแทนนินส์ และแซปโพนินส์ ที่ไปขัดขวางการย่อยได้ของอาหาร

ตารางที่ 5 *In vitro* gas production characteristics of the studied rice straw treated with urea and GSSF

	Ufdo	UFd3	UFd5	UFd7	Fd0	Fd3	Fd5	Fd7	SEM	Pr>F
a	1.09	0.99	0.88	0.78	0.27	0.34	2.03	2.67	2.84	0.6608
b	141.66 ^a	136.01 ^a	130.69 ^a	151.24 ^a	61.03 ^b	58.79 ^b	57.66 ^b	122.42 ^a	16.89	0.0342
a+b	142.75 ^a	137.00 ^a	131.57 ^a	152.02 ^a	61.30 ^b	59.13 ^b	59.69 ^b	125.09 ^a	17.27	0.0363

^{ab} Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM = Standard Error of Mean, a = the gas production from the immediately soluble fraction (ml), b = the gas production from the insoluble fraction (ml), a+b : Potential gas production, Ufdo = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 0 day of fermentation, Ufd3 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 3 days of fermentation, Ufd5 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 5 days of fermentation, Ufd7 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 7 days of fermentation, fd0 = urea 0 % : GSSF 5 % : 0 day of fermentation, Fd3 = urea 0 % : GSSF 5 % : 3 days of fermentation, Fd5 = urea 0 % : GSSF 5 % : 5 days of fermentation, Fd7 = urea 0 % : GSSF 5 % : 7 days of fermentation



รูปที่ 1 Gas production during the fermentation period (ml) at 3, 5, 8, 16, 24, 48 and 72 hours of fermentation

ตารางที่ 6 ปริมาณของอะฟลาทอกซิน (ppb) ในน้ำรูเมนหลังการบ่มโดยวิธี *In vitro* Gas Technique โดยทำการสุ่มเก็บในชั่วโมงที่ 0 5 16 และ 24 ของการบ่ม มีค่าลดลงตามชั่วโมงการบ่มที่เพิ่มขึ้น โดยที่ในชั่วโมงที่ 0 ของการบ่มพบว่า ค่าอะฟลาทอกซินลดลงทุกกลุ่ม โดยเฉพาะ UFd7 และกลุ่ม Fd ($P < 0.05$) อาจเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาของอาหารหมักกับอะฟลาทอกซิน รวมทั้งการถูกเจือจางด้วยน้ำรูเมน แต่อย่างไรก็ตาม พบความแปรปรวนของระดับอะฟลาทอกซินเกิดขึ้นภายในทรีทเมนต์ที่เมื่อเปรียบเทียบตามชั่วโมงของการบ่มโดยเฉพาะกลุ่ม Fd ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาต่อไป แต่เมื่อเปรียบเทียบทรีทเมนต์ในแต่ละชั่วโมงของการบ่มพบว่ามีค่าลดลงตามวันของการหมักฟาง เมื่อพิจารณาภายในกลุ่มของ UFd และ Fd ($P < 0.05$) โดย [42] พบว่ากระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) AFB1 โดยจุลินทรีย์ในรูเมนนั้นมีการลดลงอย่างช้า ๆ ใน 30 นาทีแรก และหลังจากนั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับ [7] ศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม *Butyrivibrio fibrisolvens* ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในการย่อย AFB1 โดยที่ [6] ได้ทำการเก็บน้ำรูเมนหลังการให้อาหารในชั่วโมงที่ 0 3 6 9 และ 12 นำมาเติม AFB1 มาตรฐานให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 100 ppb พบว่าการย่อยสลายของอะฟลาทอกซินลดลงทันทีหลังการย่อยอาหาร [4] กล่าวว่าอะฟลาทอกซินบางส่วนถูกย่อยสลายโดยเชื้อราในรูเมน และเปลี่ยนเป็นอะฟลาทอกซิคอล (Aflatoxicol) และถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารโดย Passive Diffusion และเกิด Hydroxylated ในตับแล้วเปลี่ยนเป็น AFM1 [43] - [44] โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทำงานของ AFB1 ในน้ำรูเมนเกี่ยวข้องกับชนิดของสัตว์ พืชอาหารสัตว์ รวมถึงแหล่งของโปรตีนที่จุลินทรีย์ในรูเมนนำไปใช้ประโยชน์ [6], [45] - [47]

ตารางที่ 6 Aflatoxin concentration (ppb) of rumen fluid after incubation with fermented rice straw

	Ufdo	UFd3	UFd5	UFd7	Fd0	Fd3	Fd5	Fd7	SEM	Pr>F
Hr0	91.59 ^a	78.23 ^b	63.50 ^c	30.32 ^c	44.30 ^d	37.16 ^{de}	28.42 ^e	15.38 ^f	29.67	0.0001
Hr5	87.39 ^a	58.86 ^b	51.59 ^b	35.23 ^c	75.68 ^a	57.75 ^b	47.95 ^{bc}	20.48 ^d	31.07	0.001
Hr16	81.19 ^a	62.64 ^{bc}	52.11 ^c	36.71 ^d	71.12 ^{ab}	67.53 ^b	60.14 ^{bc}	53.86 ^c	27.45	0.0008
Hr24	58.30 ^a	27.62 ^{bc}	10.10 ^d	2.6 ^d	62.06 ^a	31.86 ^b	12.51 ^{cd}	5.71 ^d	46.02	0.0001

^{abcdef} Value in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$), SEM= standard error of mean, Ufdo = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 0 day of fermentation, Ufd3 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 3 days of fermentation, Ufd5 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 5 days of fermentation, Ufd7 = urea 2.5 % : GSSF 2.5 % : 7 days of fermentation, fd0 = urea 0 % : GSSF 5 % : 0 day of fermentation, Fd3 = urea 0 % : GSSF 5 % : 3 days of fermentation, Fd5 = urea 0 % : GSSF 5 % : 5 days of fermentation, Fd7 = urea 0 % : GSSF 5 % : 7 days of fermentation

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเพิ่มคุณภาพของฟางข้าวด้วยยูเรียต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ AFB1 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในฝักจามจุรีบดหมักมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามระยะของวันหมัก ในส่วนของค่าองค์ประกอบทางเคมีพบว่าค่าโปรตีนหยาบอยู่ในช่วง 10 - 16 % ซึ่งเพิ่มขึ้นตามจำนวนวันที่หมัก โดยปริมาณความเข้มข้น ppb ของอะฟลาทอกซิน หลังการบ่มฟางข้าวร่วมกับฝักจามจุรีบดหมักอย่างเดียวมีค่าลดลงตามจำนวนวันหมักที่เพิ่มขึ้นซึ่งอาจเนื่องจากจำนวนของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก โดยพบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมี โปรตีนหยาบในกลุ่มที่หมักฟางข้าวด้วยยูเรียมีค่าสูงกว่ากลุ่มหมักด้วยฝักจามจุรีบดอย่างเดียว แต่เมื่อหมักร่วมกับฝักจามจุรีบดเป็นเวลา 7 วัน ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่หมักร่วมกับยูเรีย 0 และ 3 วัน ส่วนค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ มีค่าต่ำในกลุ่มที่หมักด้วยฝักจามจุรีบดหมักอย่างเดียว และพบว่าปริมาณผลผลิตแก๊สเพิ่มขึ้นช้า ๆ ในช่วงที่ 3 - 5 ของการบ่ม และเพิ่มเร็วขึ้นในช่วงที่ 8 ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับสารประกอบเช่น แทนนินส์ในฝักจามจุรี และอาหารที่มีเยื่อใยสูงเนื่องจากฟางข้าว จึงทำให้เกิดการย่อยได้ช้าในต้นชั่วโมงของกระบวนการหมัก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 ขอขอบคุณสาขาวิชาสัตวศาสตร์และนักศึกษาสาขาวิชาสัตวศาสตร์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สาขาวิชาประมง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่อนุเคราะห์สถานที่ดำเนินการทดลอง

References

- [1] Wanapat, M. (2533). **Ruminant Nutrition**. Funny Publication. Bangkok. (in Thai).
- [2] Paengkoum, P. (2551). **Improved Rice Straw Fermented with Urea Note**. Department of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. (in Thai)
- [3] Wanapat, M., Kang, S., and Polyorach, S. (2013). Development of Feeding Systems and Strategies of Supplementation to Enhance Rumen Fermentation and Ruminant Production in the Tropics. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. Vol. 4, Issue 1, p. 11. DOI: 10.1186/2049-1891-4-32
- [4] Fink-Gremmels, J. (2008). Mycotoxins in Cattle Feeds and Carry-Over to Dairy Milk: A Review. **Food Additives and Contaminants: Part A**. Vol. 25, Issue 2, pp. 172-180. DOI: 10.1080/02652030701823142
- [5] Wu, F. (2006). Mycotoxin Reduction in Bt Corn: Potential Economic, Health, and Regulatory Impacts. **Transgenic Research**. Vol. 15, Issue 3, pp. 277-289. DOI: 10.1007/s11248-005-5237-1

- [6] Upadhaya, S. D., Sung, H. G., Lee, C. H., Lee, S. Y., Kim, S. W., Cho, K. J., and Ha, K. J. (2009). Comparative Study on the Aflatoxin B1 Degradation Ability of Rumen Fluid from Holstein Steers and Korean Native Goats. **Journal Veterinary Science**. Vol. 10, Issue 1, pp. 29-34. DOI: 10.4142/jvs.2009.10.1.29
- [7] Westlake, K., Mackie, R. I., and Dutton, M. F. (1989). *In vitro* Metabolism of Mycotoxins by Bacterial, Protozoal and Ovine Ruminant Fluid Preparations. **Animal Feed Science and Technology**. Vol. 25, Issues 1-2, pp. 169-178. DOI: 10.1016/0377-8401(89)90117-X
- [8] Patterson, D. S. P., Glancy, E. M., and Robert, B. A. (1980). The 'carry-over' of Aflatoxin Cows Ded Rations Containing a Low Concentration of Aflatoxin B1. **Food and Cosmetic Toxicology**. Vol. 18, Issue 1, pp. 35-37. DOI: 10.1016/0015-6264(80)90008-5
- [9] Talkhan, O. F. A., Rady, F. M., and Mohamed, E. F. (2016). Detection of aflatoxins, ochratoxins and some chemical adulterants in raw Milk. **Benha Veterinary Medical Journal**. Vol. 31, No. 2, pp. 283-288
- [10] Schuster, R., Marx, G., and Rothaupt, M. (1993). **Analysis of Mycotoxins by HPLC with Automated Confirmation by Spectral Library**. (Application Note 12-5091-8692).
- [11] Sinprasobchai, L., Sajjit, P., and Sookthinthai, L. (2006). Correlation of aflatoxin in concentrated feed and detection of the toxin in dairy milk. **Thai-NIAH eJournal**. V1 N2, (September - December 2006) (niah.dld.go.th/th/files/ejournal/v01n2t09.pdf)
- [12] Diekman, M. A. and Green, M. L. (1992). Mycotoxins and Reproduction in Domestic Livestock. **Journal of Animal Science**. Vol. 70, pp. 1615-1627
- [13] George, W. S. and Craig, R. E. (2006). **Samanea saman (rain tree)**. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. pp. 1-13
- [14] Anantasook, N. and Wanapat, M. (2012). Influence of Rain Tree Pod Meal Supplementation on Rice Straw Based Diets Using *In vitro* Gas Fermentation Technique. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. Vol. 25, Issue 3, pp. 325-334. DOI: 10.5713/ajas.2011.11131
- [15] AOAC. (1985). **Official Methods of Analysis, 14th ed.** Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- [16] Georing, H. K. and Van Soest, P. J. (1970). **Forage Fiber Analyses (apparatus, reagent, procedures and some application)**. Agriculture Handbook No. 379. U.S. Agricultural Research Service
- [17] Menke, H. H. and Steingass, H. (1988). Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and *In vitro* Gas Production Using Rumen Fluid. **Animal Research and Development**. Vol. 28, pp. 7-55
- [18] Ørskov, E. R. and McDonald, I. (1979). The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to Rate of Passage. **Journal of Agricultural Science Cambridge**. Vol. 92, pp. 499-503. DOI: 10.1017/S0021859600063048

- [19] SAS. (1985). **User's Guide: Statistics**. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- [20] Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1960). **Principles and Procedure of Statistics**. (With special Reference to the Biological Sciences.) McGraw-Hill Book Company, New York, Toronto, London
- [21] Delgado, D. C., Hera, R., Cairo, J., and Orta, Y. (2014). *Samanea saman*, a Multi-Purpose Tree with Potentialities as Alternative Feed for Animals of Productive Interest. **Cuban Journal of Agricultural Science**. Vol. 48, No. 3, pp. 205-212
- [22] Obasi, N. L., Egbuonu, A. C. C., Ukoha, P. O., and Ejikeme, P. M. (2010). Comparative Phytochemical and Antimicrobial Screening of Some Solvent Extracts of *Samanea saman* (fabaceae or mimosaceae) pods. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**. Vol. 4, No. 9, pp. 206-212
- [23] Ukoha, P. O., Cemaluk, E. A. C., Nnamdi, O. L., and Madaus, E. P. (2011). Tannins and Other Phytochemical of the *Samanea saman* Pods and Their Antimicrobial Activities. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**. Vol. 5, No. 8, pp. 237-244
- [24] Semae, S., Kongmun, P., Vajrabukka, C., Chanpongsang, S., and Prasanphanich, S. (2013). Effects of Different Levels of Rain Tree (*Samanea saman*) Pods in Meal Concentrate on *In vitro* Fermentation by a Gas Production Technique. **Kasetsart Journal, Natural Science**. Vol. 47, No. 5, pp. 704-711
- [25] Mahoney, N., Molyneux, R. J., Kim, J. H., Cambell, B. C., Waiss, A. C., and Hagerman, A. E. (2010). Aflatoxigenesis Induced in *Aspergillus flavus* by Oxidative Stress and Reduction by Phenolic Antioxidants from Tree Nuts. **World Mycotoxin Journal**. Vol. 3, No. 1, pp. 49-57. DOI: 10.3920/WMJ2009.1185
- [26] Jetana, T., Usawang, S., and Sophon, S. (2015). The use of Tropical of Multiproposes Trees as a Feed Supplement to Thai Swamp Buffaloes (*Bubalus bubalis*) Reciving a Basal Diet of Pangola hay. **Buffalo Bulletin**. Vol. 34, No. 1, pp. 130-144
- [27] Babayemi, O. J., Inyang, U. A., Ifut, O. J., and Isaac, L. J. (2010). Nutritional Value of Cassava Wastes Ensiled with *Albizia saman* Pod as Feed for Ruminants in Off Season. **Agricultural Journal**. Vol. 5, No. 3, pp. 220-224
- [28] Tahmourespour, A., Tabatabaei, N., Khalkhali, H., and Amini, I. (2017). Study of Tannin-Degrading Bacteria Isolated from Pistachio Soft Hulls and Feces of Goat Feeding on it. **Biological Journal of Microorganism**. Vol. 5, No. 20, pp. 61-69
- [29] Haskard, C. A., El-Nezami, H. S., Kankaanpaa, P. E., Salminen, S., and Ahokas, J. T. (2001). Surface Binding of Aflatoxin B₁ by Lactic Acid Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 67, No. 7, pp. 3086-3091. DOI: 10.1128/AEM.67.7.3086-3091.2001
- [30] Peltonen, K. D., El-Nezami, H. S., Salminen, S. J., and Ahogas, J. T. (2000). Binding of Aflatoxin B₁ by Probiotic Bacteria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Vol. 80, Issue 13, pp. 1942-1945. DOI: 10.1002/1097-0010(200010)80:13<1942::AID-JSFA741>3.0.CO;2-7

- [31] Peltonen, K. D., El-Nezami, H. S., Haskard, C. A., Ahokas, J. T., and Salminen, S. J. (2001). Aflatoxin B₁ Binding by Dairy Strains of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**. Vol. 84, Issue 10, pp. 2152-2156. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74660-7
- [32] Batish, V. K., Roy, U., Lal, R., and Grover, S. (1997). Antifungal Attributes of Lactic Acid Bacteria - A review. **Critical Reviews in Biotechnology**. Vol. 17, Issue 3, pp. 2009-2225. DOI: 10.3109/07388559709146614
- [33] Sathe, S. J., Nawani, N. N., Dhakephalkar, P. K., and Kapadnis, B. P. (2007). Antifungal Lactic Acid Bacteria with Potential to Prolong Shelf-Life of Fresh Vegetables. **Journal of Applied Microbiology**. Vol. 103, Issue 6, pp. 2622-2628. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03525.x
- [34] Intanool, M. and Pattarajinda, V. (2015). Effect of Aflatoxin and Roughage Sources on Nutrients Digestibility and *In vitro* Gas Production. **Khon Kaen Agriculture Journal**. Vol. 43, SUPPL. 1, pp. 33-38
- [35] Dali, D. K. D., Deschamps, A. M., and Richard-Forget, F. (2010). Lactic Acid Bacteria - Potential for Control of Mould Growth and Mycotoxins: A Review. **Food Control**. Vol. 21, Issue 4, pp. 370-380. DOI:10.1016/j.foodcont.2009.07.011
- [36] Zinedine, A., Faid, M., and Benlemlih, M. (2005). In Vitro Reduction of Aflatoxin B₁ by Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Moroccan Sourdough Bread. **International Journal of Agriculture and Biology**. Vol. 7, No. 1, pp. 67-70
- [37] Niderkorn, V., Boudra, H., and Morgavi, D. (2006). Binding of *Fusarium mycotoxins* by Fermentative Bacteria *In vitro*. **Journal Applied Microbiology**. Vol. 101, Issue 4, pp. 849-856. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02958.x
- [38] Sezer, C., Guven, A., Oral, N. B., and Vatansever, L. (2013). Detoxification of aflatoxin B₁ by bacteriocins and bacteriocinogenic lactic acid bacteria. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. Vol. 37, pp. 594-601. DOI: 10.3906/vet-1301-31
- [39] El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., and Ahokas, J. (1998). Ability of Dairy Strains of Lactic Acid Bacteria to Bind a Common Food Carcinogen, Aflatoxin B₁. **Food and Chemical Toxicology**. Vol. 36, Issue 4, pp. 321-326. DOI: 10.1016/S0278-6915(97)00160-9
- [40] Zhang, X. B. and Ohta, Y. (1991). Binding of Mutagens by Fractions of the Cell Wall Skeleton of Lactic Acid Bacteria on Mutagens. **Journal of Dairy Science**. Vol. 74, Issue 5, pp. 477-481. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78306-9
- [41] Wanapat, M. (1985). **Improving Rice Straw Quality as Ruminant Feed by Urea Treatment in Thailand**. pp. 121-145. In: Wanapat, M. and Devendra, C. (eds.). *Relevance of Crop Residues as Animal Feeds in Developing Countries*. Funny Press, Bangkok, Thailand.
- [42] Kiessling, K. H., Pettersson, H., Sandholm, K., and Olsen, M. (1984). Metabolism of Aflatoxin, Ochratoxin, Zearalenone, and Threotrichothecenes by Intact Rumen Fluid, Rumen Protozoa, and Rumen Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 47, pp. 1070-1073

- [43] Kuilman, M. E. M., Maas, R. F. M., Judah, D. J., and Gremmels, J. (1998). Bovine Hepatic Metabolism of Aflatoxin B₁. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 46, pp. 2707-2713. DOI: 10.1021/jf980062x
- [44] Upadhaya, S. D., Park, M.A., and Ha, J. K. (2010). Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. Vol. 23, No. 9, pp. 1250-1260. DOI: 10.5713/ajas.2010.r.06
- [45] Xiao, H., Marquardt, R.R., Frohlich, A. A., Phillips, G. D., and Vitti, T.G. (1991). Effect of a Hay and a Grain Diet on the Rate of Hydrolysis of Ochratoxin A in the Rumen of Sheep. **Journal of Animal Science**. Vol. 69, Issue 93, pp. 706-3714. DOI: 10.2527/1991.6993706x
- [46] Muller, H. M., Muller, K., and Steingass, H. (2001). Effect of Feeding Regime on the Metabolism of Ochratoxin A During the *In vitro* Incubation in Buffered Rumen Fluid from Cows. **Archiv für Tierernaehrung**. Vol. 54, Issue 4, pp. 265-279. DOI: 10.1080/17450390109381984
- [47] Yang, L. (2010). **Effects of Feed Types on OTA biodegradation by Korean Native Goats**. Masters' Thesis, Seoul National University, Seoul.