

อิทธิพลของระดับ การเสริมกากมันหมัก ไขมัน และโซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อ เพิ่มคุณภาพของอาหารสูตรรวมและการย่อยได้ในระบบ *in vitro*

Effect of levels of fermented cassava pulp, fat and sodium bicarbonate
supplementation for improving quality of fermented total mixed ration and
in vitro digestibility

วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่^{1,2*}, มานิดา สุสีวงศ์², ภาณุวัฒน์ ชัยปลื้ม² และ พิชาด เขจรศาสตร์^{1,2}

Watcharawit Meenongyai^{1,2*}, Manida Susiwong², Panuwat Chai-pluem²
and Pichad Khejornsart^{1,2}

บทคัดย่อ: ศึกษาผลของกากมันหมักทดแทนมันเส้นที่ต่างกัน (0, 25, 50, 75 และ 100%) ร่วมกับชนิดการเสริมไขมันที่ต่างกัน (ไม่เสริมไขมัน, 2% ไขมันปาล์ม และ 2% ไขมันที่ไขแล้ว) และสารโซเดียมไบคาร์บอเนต 2 ระดับ (0 และ 0.75%) ในอาหารสูตรรวมหมักต่อองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยได้ในระบบ *in vitro* วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์โดยจัดการทดลองแบบ 5x3x2 แฟคทอเรียล ทั้งหมด 30 กลุ่มทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ ทำการหมักเป็นเวลา 45 วัน พบว่าอาหารทดลองมีคุณภาพดี โดยมีค่า pH 3.90-4.20 ปริมาณกรดแลคติก 0.32 - 9.08 g/kg DM และเอทานอล 18.02 - 307.45 g/kg DM โดยผลการทดลองพบว่าระดับของการใช้กากมันหมักทดแทนมันเส้น ปริมาณไขมัน และสารโซเดียมไบคาร์บอเนต ในอาหารสูตรรวมหมัก มีอิทธิพลร่วมต่อสารประกอบอินทรีย์ในอาหารสูตรรวมและการย่อยได้ในระบบ *in vitro* ($P<0.01$) ซึ่งสูตรทดลองที่ 20 มีปริมาณกรดแลคติกสูงที่สุดคือ 9.08 g/kg DM ($P<0.01$) และสูตรทดลองที่ 3 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดคือ 307.45 g/kg DM ($P<0.01$) ในขณะที่สูตรอาหารทดลองที่ 1, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 19, 20, 21, 22, 26, 29 และ 30 มีการย่อยได้ของวัตถุดิบ NDF และ ADF สูงกว่ากลุ่มอื่น ($P<0.01$) ดังนั้นจากการทดลองสรุปได้ว่าสามารถใช้กากมันหมักในอาหารสูตรรวมหมักที่ระดับ 30%DM ร่วมกับไขมันที่ไขแล้ว 2%DM ในอาหารสูตรรวมหมักซึ่งจะสามารถช่วยลดต้นทุนค่าอาหารและไม่กระทบต่อการย่อยได้

คำสำคัญ: การย่อยได้, การหมัก, กรดอินทรีย์, อาหารสูตรรวม

¹ หน่วยวิจัยขั้นสูงเพื่อการผลิตปศุสัตว์และสัตว์ปีก คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร 47000

Advanced Studies for Livestock and Poultry Production Research Unit, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, 47000.

² ภาควิชาเกษตรและทรัพยากร คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร 47000

Department of Agriculture and Resources, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, 47000.

* Corresponding author: csnwvm@ku.ac.th

ABSTRACT: Study on effects of different replacement levels of cassava chip with fermented cassava pulp (0, 25, 50, 75 and 100%) combined with different fat sources (0%fat, 2% palm oil and 2% used oil) and sodium bicarbonate (0 and 0.75%) supplementation in fermented total mixed ration (FTMR) on chemical compositions and in vitro digestibility. The experimental design was completely randomized in a 5x3x2 factorial scheme consisting of 30 treatment combinations and 3 replicates per treatment. After 45 days of fermentation period, all of FTMR showed a good quality with pH 3.90-4.20, lactic acid 0.32 - 9.08 g/kg DM and ethanol 18.02 - 307.45 g/kg DM. The result showed that replacement levels of cassava chip, fat sources and sodium bicarbonate had an interaction effect on organic compound and in vitro digestibility ($P<0.01$). Lactic acid content had the highest for T20 (9.08 g/kg DM; $P<0.01$) while ethanol content had the greatest for T3 (307.45 g/kg DM; $P<0.01$). Digestibility of DM NDF and ADF showed a greater for T1, T4, T5, T6, T7, T10, T15, T19, T20, T21, T22, T26, T29 and T30 than other treatments ($P<0.01$). Therefore, based on results of this study suggested that using 30% fermented cassava pulp and 2% used oil supplement in FTMR helps to reduce feed cost while unaffected digestibility.

Keywords: Digestibility, Fermentation, Organic acid, Total mixed ration

บทนำ

อาหารสูตรรวม (total mixed ration, TMR) เป็นอาหารที่ผลิตขึ้นมาโดยการนำอาหารหยาบและอาหารข้นมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสม ปัจจุบันได้มีการผลิตในรูปแบบหมัก (fermented total mixed ration, FTMR) เพื่อให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น (Wang and Nishino, 2013) อย่างไรก็ตามอาหาร FTMR มักพบว่า มีค่า pH ค่อนข้างต่ำ (pH 3.5) (Meenongyai et al., 2017) จึงมีการเสริมสารบัฟเฟอร์ที่ระดับ 0.5-0.75% ได้แก่ Sodium bicarbonate (NaHCO_3), หรือ Magnesium oxide (MgO) (Chalupa and Kronfeld, 1983) เพื่อให้ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะ หมักเหมาะสม และปัจจุบันวัตถุดิบอาหารแหล่งพลังงานมีราคาสูงขึ้น เช่น มันเส้น ดังนั้นการใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตร เช่น กากมันสำปะหลังหมักมาประกอบสูตรอาหารจึงเป็นแนวทางลดต้นทุนการผลิต อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังหมักยังมีข้อจำกัดของปริมาณการใช้ ได้แก่ ความชื้น และหน่วยของพลังงาน โดย วัชรวิทย์ และคณะ (2553) รายงานว่ากากมันสำปะหลังหมักมีความชื้นสูงถึง 80.14% ดังนั้นการเสริมไขมันในสูตรอาหารจึงอาจเป็นแนวทางในการเพิ่มพลังงานในสูตรอาหารให้สูงขึ้น เนื่องจากไขมันสามารถให้พลังงานมากกว่าคาร์โบไฮเดรตถึง 2.25 เท่า (เปรมใจ และคณะ, 2548) และยังพบว่าในกระบวนการผลิตอาหารจะมีน้ำมันที่เหลือใช้ซึ่งมีราคาถูก สามารถนำมาใช้ผลิตอาหารสัตว์เพื่อลด

ต้นทุนการผลิตได้ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบระดับของการเสริมกากมันหมัก ไขมัน และโซเดียมไบคาร์บอเนตในอาหารสูตรรวมหมัก ต่อคุณภาพของอาหารและการย่อยได้ในระบบ in vitro เพื่อพัฒนาการผลิตอาหาร TMR ให้มีประสิทธิภาพและต้นทุนการผลิตต่ำลง

วิธีการศึกษา

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 5x3x2 Factorial in Completely Randomized Design โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ระดับของกากมันหมักทดแทนมันเส้นในสูตรอาหาร FTMR จำนวน 5 ระดับ (0, 25, 50, 75 และ 100%), ชนิดของไขมันที่เสริมในสูตรอาหาร FTMR จำนวน 3 ชนิด (ไม่เสริมไขมัน, 2% น้ำมันปาล์ม และ 2% น้ำมันใช้แล้ว) และสารโซเดียมไบคาร์บอเนต จำนวน 2 ระดับ (0 และ 0.75%) รวมทั้งหมด 30 กลุ่มทดลอง แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำ

การเตรียมอาหารทดลองและการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ทำการผลิตอาหารทดลอง TMR โดยวัตถุดิบอาหารในรูปแบบน้ำหนักแห้งประกอบด้วยหญ้าเนเปียร์หมัก (35%) กากถั่วเหลือง (14%) กากปาล์มเนื้อใน (8%) รำอ่อน (8%) มันเส้น (0-30%) กากมันหมัก (0-30%) ไคคลซีม (1.2%) เกลือ (0.5%) แร่ธาตุรวม (0.5%) ยูเรีย (1.5%) โซเดียมไบ

คาร์บอนเนต (0-0.75%) น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันใช้แล้ว (2%) ซึ่งราคาต้นทุนการผลิตลดลงตามระดับการทดแทนมันเส้นด้วยกากมันหมัก โดยสูตรการทดลองที่ 4 มีราคาสูงที่สุดคือ 4.99 บาท/กก. และสูตรการทดลองที่ 29 ราคาต่ำที่สุดคือ 2.76 บาท/กก. ทำการผสมอาหารทดลองแต่ละสูตรเป็นจำนวน 3 กิโลกรัม และหมักในขวดพลาสติกขนาด 600 ml จำนวน 3 ขวด ตามวิธีของ Chen et al. (2014) โดยองค์ประกอบทางเคมีในอาหารจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพบว่า มีน้ำหนักรวม 22.15-40.53%, โปรตีน 13.62-17.25%, ไขมัน 4.85-6.64%, NDF 36.46-49.25%, ADF 20.92-35.21%, Ash 7.37-10.35%, NH₃-N 0.56-19.04% และ Gross energy 4.04-4.57 Mcal/kg ทำการวัด pH ก่อนและหลังการหมักโดยใช้ pH meter (Model HI 98127 Waterproof pH meter, Fotronic Corporation) และวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (Agilent 1200 Series, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) โดยใช้ Diode array detector, ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (4.6×150 mm, 5 µm) และปริมาณที่ฉีด 20-µl โดยมี 0.1 M KH₂PO₄, pH 2.4 เป็น mobile phase วิเคราะห์หาวัตถุแห้ง, ไขมัน, โปรตีนหยาบ, เถ้า และ ammonia nitrogen ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์พลังงานรวมในอาหาร โดยใช้วิธี Ballistic bomb calorimeter และวิเคราะห์ Neutral detergent fiber (NDF) และ Acid detergent fiber (ADF) ตามวิธีของ Van Soest et al. (1991) วิเคราะห์หาการย่อยได้ในระบบ In Vitro โดยใช้ถุง F57 filter bag และทำการบ่มเป็นเวลา 48 ชม. ที่อุณหภูมิ 39°C ในเครื่อง Digital Incubator Shaker (INNOVATM 4300, NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC CO., INC. New Jersey, USA)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลตามแผนการทดลอง 5x3x2 Factorial in Completely Randomized Design และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's honestly significant difference test (Tukey's HSD) Tukey's Studentized Range

Test (HSD) (Steel and Torrie, 1980) โดยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SAS, 2009)

ผลและวิจารณ์

ค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร FTMR

จาก การทดลองพบว่าระดับของการใช้กากมันหมักทดแทนมันเส้น ปริมาณน้ำมัน และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตในอาหารสูตรรวมหมัก มีอิทธิพลร่วมต่อค่า pH ของอาหาร TMR ก่อนและหลังทำการหมัก ($P < 0.01$) โดยมีค่า pH เฉลี่ย 4.93 โดยซึ่งผลการทดลองพบว่าอาหารทดลองสูตรที่ 4 มีค่า pH สูงที่สุดคือ 5.70 และอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า pH ต่ำที่สุดคือ 4.00 ($P < 0.01$) ซึ่งค่า pH ในอาหารก่อนทำการหมักมีค่าต่างกันเนื่องจากมีการใช้กากมันหมักและหญ้าหมักในสูตร ซึ่งกระบวนการหมักจะทำให้มีการสร้างกรดเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้ค่า pH ของวัตถุดิบลดต่ำลง (Yuan et al., 2015) โดย Meenongyai et al. (2017) รายงานว่าอาหาร TMR ที่ใช้หญ้าสดเป็นแหล่งอาหารหยาบมีค่า pH 4.7 ในขณะที่อาหาร TMR ที่ใช้หญ้าหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบมีค่า pH 4.0 และจากการทดลองพบว่าอาหารทดลองสูตรที่ 4, 8, 9, 12 และ 15 มีค่า pH สูงที่สุดคือ 4.20 และอาหารทดลองสูตรที่ 1, 3, 11, 20, 23, 24 และ 25 มีค่า pH ต่ำที่สุดคือ 3.90 ($P < 0.01$) ซึ่งแสดงว่ากระบวนการหมักเกิดขึ้นโดยสมบูรณ์ โดย McDonald et al. (1991) รายงานว่าหญ้าหมักที่ดีเมื่อกระบวนการหมักเกิดสมบูรณ์ pH จะมีค่าระหว่าง 3.8-4.2 และสอดคล้องกับ Wang and Nishino (2013) รายงานว่า pH ในอาหาร TMR ก่อนทำการหมักมีค่าเฉลี่ย 5.73 และหลังจากทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 10, 30 และ 90 วัน พบว่า pH มีค่าเท่ากับ 4.30, 4.29 และ 4.22 ตามลำดับ ในขณะที่ Meenongyai et al. (2017) รายงานว่าอาหาร TMR หมักมีค่า pH ต่ำลงถึง 3.5

องค์ประกอบของกรดอินทรีย์ในอาหาร FTMR

จากการทดลองพบว่าระดับของการใช้กากมันหมักทดแทนมันเส้น ปริมาณน้ำมัน และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตในอาหารสูตรรวมหมักมีอิทธิพลร่วมต่อองค์ประกอบของกรดอินทรีย์ใน

อาหาร FTMR ซึ่งหลังจากหมักเป็นเวลา 45 วัน พบว่าอาหารทดลองสูตรที่ 20 มีปริมาณกรดแลคติกสูงที่สุดคือ 9.08 g/kg DM และอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีปริมาณกรดแลคติกต่ำที่สุดคือ 0.32 g/kg DM ($P<0.01$) ดัง Table 1 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการทดลองของ Yuan et al. (2015) รายงานว่าอาหาร TMR ทำการหมักเป็นเวลา 45 วันมีปริมาณกรดแลคติก 27.5 - 61.8 g/kg DM ในขณะที่ปริมาณเอทานอลในอาหารทดลองสูตรที่ 3 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดคือ 307.45 g/kg DM และอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีปริมาณเอทานอลต่ำที่สุดคือ 18.02 g/kg DM ($P<0.01$) ดัง Table 1 ซึ่ง McDonald et al. (1991) รายงานว่าโดยทั่วไปเหี่ยวหมักจะมีกรดแลคติกสูง แต่มีปริมาณเอทานอลค่อนข้างต่ำ ในขณะที่ผลการศึกษาในครั้งนี้อาหาร FTMR มีปริมาณของกรดแลคติกต่ำแต่ปริมาณของเอทานอลสูง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากอาหารทดลองมีปริมาณแป้งและน้ำตาลสูง ทำให้จุลินทรีย์จำพวกยีสต์เจริญเติบโตและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล (Yamamoto et al., 2004) ซึ่งทำให้ปริมาณน้ำตาลที่จะใช้เปลี่ยนเป็นกรดแลคติกลดน้อยลง (Randby et al., 1999) โดย Daniel et al. (2013) รายงานว่าพลังงานที่ได้จากการเผาไหม้ของเอทานอล (7.1 Mcal/kg) สูงกว่าคาร์โบไฮเดรต (4.2 Mcal/kg) ซึ่งสัตว์ที่กินเอทานอลจะได้รับพลังงานที่สูงกว่า โดย Daniel et al. (2013) ทำการทดลองให้โครีดนมกินอาหารชั้นที่มีการเสริมเอทานอล 5% ให้ผลผลิตนมรวมสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากโคมีการกินได้ที่สูงขึ้น

การย่อยได้ในระบบ *in vitro*

จากการทดลองพบว่าระดับของการใช้กากมันหมักทดแทนมันเส้น ปริมาณน้ำมัน และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตในอาหารสูตรรวมหมักมีอิทธิพลร่วมต่อจากการวิเคราะห์การย่อยได้ของอาหารในระบบ *in vitro* ซึ่งผลการทดลองพบว่าอาหารทดลองสูตรที่ 23, 25, 27, และ 28 มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งต่ำกว่ากลุ่มอื่น (53.26, 52.30, 48.55 และ 45.80% ตามลำดับ; $P<0.01$) ซึ่งอาจเนื่องมาจากระดับการทดแทนมันเส้นด้วยกากมันหมักที่สูงขึ้นทำให้ความชื้นในสูตรอาหารสูงขึ้น จึงส่งผลให้การย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งลดต่ำลง ซึ่ง Felton and DeVries (2010) รายงานว่าอาหาร TMR ควรมี

ความชื้นไม่เกิน 60% และ BunnetNha and Virote Pattarajinda (2017) รายงานว่า อาหาร TMR ที่มีระดับของความชื้น 60% จะทำการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งสูงขึ้น ซึ่งอาหารทดลองสูตรที่ 2, 8, 9, 11, 18 และ 25 มีค่าการย่อยได้ของเยื่อใย NDF ต่ำกว่ากลุ่มอื่น (33.11, 32.29, 32.51, 31.48, 33.73 และ 32.96% ตามลำดับ; $P<0.01$) และอาหารทดลองสูตรที่ 3, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 23 และ 24 มีค่าการย่อยได้ของ ADF ต่ำกว่ากลุ่มอื่น ($P<0.01$) ดังแสดงใน Table 1 โดยจากการทดลองพบว่าระดับไขมันและสารโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เสริมในสูตรอาหาร FTMR ไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งและเยื่อใย ADF ($P>0.05$) ซึ่งอาจเนื่องมาจากอาหารทุกสูตรมีสัดส่วนของอาหารหยาบที่เหมาะสม ($>30\%$ DM) (NRC, 2001) จึงไม่มีผลต่อการย่อยได้ในระบบ *in vitro*

สรุปผลการทดลอง

ระดับของการใช้กากมันหมักทดแทนมันเส้น ปริมาณน้ำมัน และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตในอาหารสูตรรวมหมัก มีอิทธิพลร่วมต่อองค์ประกอบของกรดอินทรีย์ในอาหาร FTMR และการย่อยได้ในระบบ *in vitro* โดยอายุการหมัก 45 วัน อาหาร FTMR ทุกสูตรมีค่า pH ที่เหมาะสมคือ 3.9-4.2 และมีปริมาณเอทานอลสูงถึง 18.02 - 307.45 g/kg DM ดังนั้นจากการทดลองสรุปได้ว่าสามารถใช้กากมันหมักในสูตรอาหารได้สูงถึง 30%DM ร่วมกับน้ำมันที่ใช้แล้ว 2%DM ในสูตรอาหาร FTMR ซึ่งจะสามารถช่วยลดต้นทุนค่าอาหารโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้การย่อยได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย และขอขอบคุณหน่วยวิจัยขั้นสูงเพื่อการผลิตปศุสัตว์และสัตว์ปีก คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และห้องปฏิบัติการในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์, พัชรีย์ บุญศิริ, ปิติ ธูจิตต์ และเสาวนันทน์ บำเรอราช. 2548. ตำราวิชาชีวเคมี. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 531หน้า.
- วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่ และภานุวัฒน์ คัมภีร์วัฒน์. 2553. อิทธิพลของผลพลอยได้จากโรงงานแปรงมันในสูตรอาหารต่อสมรรถนะการให้ผลผลิตของแกะขุน. แก่นเกษตร. 4:385-394.
- Nha, B. and V. Pattarajinda. 2017. Effect of physically effective neutral detergent fiber and moisture content for improving digestibility of TMR on in vitro study. KHON KAEN AGR. J. 45 SUPPL.1:85-89.
- Chalupa, W., and D. S. Kronfeld. 1983. Buffer for dairy cattle. In 'Nutrition', Proceedings No. 63, Post-graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, pp. 895-907.
- Chen, L., G. Guo, X. Yuan, M. Shimojo, C. Yu, and T. Shao. 2014. Effect of applying molasses and propionic acid on fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage prepared with whole-plant corn in Tibet. Asian- Australas. J. Anim. Sci. 27:349-356.
- Daniel, J. L. P., R. C. Amaral, A. Sá Neto, E. H. Cabezas-Garcia, A. W. Bispo, M. Zopollatto, T. L. Cardoso, M. H. F. Spoto, F. A. P. Santos, and L. G. Nussio. 2013. Performance of dairy cows fed high levels of acetic acid or ethanol. 96:398-406.
- Felton, C. A., and T. J. DeVries. 2010. Effect of water addition to a total mixed ration on feed temperature, feed intake, sorting behavior, and milk production of dairy cows. J. Dairy Sci. 93:2651-2660.
- McDonald, P., A. R., Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications.
- Meenongyai, W., V. Pattarajinda, A. M. Stelzleni, J. Sethakul, and M. Duangjinda. 2017. Effects of forage ensiling and ration fermentation on total mixed ration pH, ruminal fermentation and performance of growing Holstein-Zebu cross steers. 88:1247-1456.
- Randby, A. T., I. Selmer-Olsen, and L. Baevre. 1999. Effect of ethanol in feed on milk flavour and chemical composition. J. Dairy. Sci. 82:420-428.
- SAS. 2009. SAS/STAT Users Guide, Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Steel, R.G.D., and J. H., Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: a Biometrical Approach. Second Edition. McGraw-Hill. New York. 633 pp.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Wang, C. and N. Nishino. 2013. Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. J. Appl. Microbiol. 114:1687-1695.
- Yamamoto, Y., Y. Deguchi, M. Mizutani, S. Urakawa, H. Yamada, H. Hiraoka, K. Inui, S. Kouno, and M. Goto. 2004. Improvement of fermentation quality and dry matter digestibility of rice whole crop silage treated with fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria and mechanical processing. Grassl. Sci. 49:665-668.
- Yuan, X. J., J. Wang, G. Guo, A. Y. Wen, S. T. Desta, and T. Shao. 2015. Effects of ethanol, molasses and Lactobacillus plantarum on fermentation characteristics and aerobic stability of total mixed ration silages. Grass Forage Sci. 71:328 - 338.

Table 1 Treatment groups and mean value of pH, color and organic acids in FTMR and *in vitro* digestibility

TRT	FCP	Fat	Buffer	pH		Lactic	Ethanol	IVDMD	IVNDFD	IVADFD
				0d	45d	-----g/kg DM-----			-----(%)-----	
T1	0	US	0	4.00 ^j	3.90 ^c	0.32 ^h	18.02 ^j	60.63 ^{abc}	35.80 ^{abc}	33.14 ^{abcde}
T2	0	US	0.75	5.30 ^{bc}	4.00 ^{bc}	4.73 ^{bcdefg}	144.52 ^{cdefghij}	62.27 ^{ab}	33.11 ^{bc}	34.21 ^{abcd}
T3	0	PO	0	4.70 ^{fghi}	3.90 ^c	7.40 ^{abcd}	307.45 ^a	63.24 ^a	41.75 ^{ab}	31.18 ^{cde}
T4	0	PO	0.75	5.70 ^a	4.20 ^a	5.78 ^{abcdefg}	268.89 ^{abc}	61.94 ^{abc}	38.44 ^{abc}	32.76 ^{abcde}
T5	0	UO	0	4.70 ^{fghi}	4.00 ^{abc}	3.17 ^{defgh}	98.11 ^{efghij}	62.15 ^{ab}	36.80 ^{abc}	34.42 ^{abcd}
T6	0	UO	0.75	5.40 ^{ab}	4.00 ^{abc}	4.79 ^{bcdefg}	129.14 ^{defghij}	61.50 ^{abc}	37.35 ^{abc}	34.94 ^{abc}
T7	25	US	0	4.60 ^{ghi}	4.10 ^{ab}	7.92 ^{ab}	276.67 ^{ab}	60.99 ^{abc}	34.31 ^{abc}	32.91 ^{abcde}
T8	25	US	0.75	5.30 ^{bc}	4.20 ^a	6.46 ^{abcdef}	215.09 ^{abcde}	59.59 ^{abc}	32.29 ^c	32.68 ^{abcde}
T9	25	PO	0	4.80 ^{efgh}	4.20 ^a	6.52 ^{abcdef}	238.76 ^{abcd}	61.32 ^{abc}	32.51 ^c	33.14 ^{abcde}
T10	25	PO	0.75	5.00 ^{cdef}	4.10 ^{ab}	7.53 ^{abc}	193.97 ^{abcdef}	53.60 ^{abcde}	34.41 ^{abc}	33.12 ^{abcde}
T11	25	UO	0	4.40 ⁱ	3.90 ^c	6.84 ^{abcde}	159.37 ^{bcdefghi}	55.20 ^{abcde}	31.48 ^e	33.32 ^{abcde}
T12	25	UO	0.75	5.20 ^{bcd}	4.20 ^a	4.74 ^{bcdefg}	120.05 ^{defghij}	59.15 ^{abc}	38.78 ^{abc}	30.04 ^e
T13	50	US	0	4.70 ^{fghi}	4.10 ^{ab}	6.17 ^{abcdef}	188.40 ^{abcdef}	56.41 ^{abcd}	36.82 ^{abc}	31.28 ^{cde}
T14	50	US	0.75	5.00 ^{cdef}	4.00 ^{bc}	4.51 ^{bcdefgh}	108.08 ^{efghij}	55.08 ^{abcde}	36.18 ^{abc}	31.89 ^{bcd}
T15	50	PO	0	4.70 ^{fghi}	4.20 ^a	5.15 ^{abcdefg}	152.63 ^{bcdefghi}	59.19 ^{abc}	34.17 ^{abc}	35.92 ^a
T16	50	PO	0.75	5.20 ^{bcd}	4.10 ^{ab}	1.77 ^{gh}	35.60 ^{ij}	60.62 ^{abc}	35.38 ^{abc}	30.76 ^{de}
T17	50	UO	0	4.80 ^{efgh}	4.00 ^{bc}	4.51 ^{bcdefgh}	105.66 ^{efghij}	54.63 ^{abcde}	35.45 ^{abc}	31.80 ^{bcd}
T18	50	UO	0.75	5.10 ^{bcd}	3.90 ^c	2.80 ^{efgh}	47.14 ^{hij}	62.02 ^{abc}	33.73 ^{bc}	31.64 ^{bcd}
T19	75	US	0	4.70 ^{fghi}	4.10 ^{ab}	7.03 ^{abcde}	224.92 ^{abcde}	62.73 ^{ab}	36.43 ^{abc}	32.80 ^{abcde}
T20	75	US	0.75	5.00 ^{cdef}	3.90 ^c	9.08 ^a	187.50 ^{abcdefg}	62.59 ^{ab}	36.72 ^{abc}	33.34 ^{abcde}
T21	75	PO	0	4.60 ^{ghi}	4.00 ^{bc}	6.34 ^{abcdef}	168.30 ^{bcdefgh}	55.25 ^{abcde}	43.15 ^a	32.32 ^{abcde}
T22	75	PO	0.75	5.20 ^{bcd}	4.10 ^{ab}	4.30 ^{bcdefgh}	97.30 ^{efghij}	59.20 ^{abc}	39.48 ^{abc}	33.12 ^{abcde}
T23	75	UO	0.00	4.90 ^{defg}	3.90 ^c	1.84 ^{gh}	46.03 ^{hij}	48.55 ^{de}	35.80 ^{abc}	32.10 ^{bcd}
T24	75	UO	0.75	5.40 ^{ab}	3.80 ^c	8.05 ^{ab}	135.44 ^{defghij}	53.44 ^{abcde}	36.38 ^{abc}	32.08 ^{bcd}
T25	100	US	0	4.70 ^{fghi}	3.80 ^c	3.59 ^{cdefgh}	83.43 ^{fghij}	45.80 ^e	32.96 ^{bc}	32.86 ^{abcde}
T26	100	US	0.75	5.10 ^{bcd}	4.10 ^{abc}	2.91 ^{efgh}	70.89 ^{fghij}	54.04 ^{abcde}	36.66 ^{abc}	33.30 ^{abcde}
T27	100	PO	0	4.70 ^{fghi}	4.00 ^{bc}	2.51 ^{fgh}	57.92 ^{ghij}	53.26 ^{cde}	35.84 ^{abc}	32.57 ^{abcde}
T28	100	PO	0.75	5.10 ^{bcd}	3.80 ^{bc}	3.55 ^{cdefgh}	56.20 ^{hij}	52.30 ^{cde}	39.05 ^{abc}	32.15 ^{abcde}
T29	100	UO	0	4.50 ^{hi}	4.10 ^{abc}	4.97 ^{abcdefg}	156.59 ^{bcdefghi}	54.77 ^{abcde}	40.52 ^{abc}	35.42 ^{ab}
T30	100	UO	0.75	5.30 ^{bc}	4.10 ^{bc}	5.66 ^{abcdefg}	132.75 ^{defghij}	55.86 ^{abcd}	38.13 ^{abc}	33.87 ^{abcd}
SEM				0.04	0.01	0.25	8.63	0.54	0.38	0.17
P-value				<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

FCP = fermented cassava pulp, Buffer = NaHCO₃, US = unsupplement, PO = 2% Palm oil, UO = used oil, IVDMD = *In vitro* dry matter digestibility, IVNDFD = *In vitro* neutral detergent fiber digestibility, IVADFD = *In vitro* acid detergent fiber digestibility, Means in the same column with different superscript differ significantly (P<0.01), SEM = Standard error of mean