รหัสโครงการ[SUT3-303-54-24-06]

รายงานการวิจัย

การศึกษาการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อกระบวนการหมักของพืชหมัก

The Effect of *Lactobacillus spp.* Silage Fermentation

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ[SUT3-303-54-24-06]

รายงานการวิจัย

การศึกษาการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อกระบวนการหมักของพืชหมัก

Effect of *Lactobacillus spp.* on Silage Fermentation

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปีงบประมาณ 2554

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2558

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยการศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* ต่อกระบวนการหมักของพืชหมักโดยแบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 การศึกษาการใช้ *L. buchneri* ในระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าและข้าวโพดหมักโดยจัดแผนการทดลองแบบ 2×4 Factorial in Completely Randomized Design โดยมีปัจจัยที่ 1 พืชอาหารสัตว์ 2 ชนิด (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) และปัจจัยที่ 2 การเสริมด้วย *Lactobacillus spp.*ที่ระดับ 0, 1×10^5, 5×10^5และ 1×10^6cfu/g ของน้ำหนักพืชสดพบว่า ระดับของ *L. buchneri* ที่เหมาะสมสำหรับพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดได้แก่ ระดับ 1×10^6cfu/gมีผลให้มีระดับความเข้มข้นของ acetic acid, ปริมาณ yeast และ NH_3-N ที่ต่ำที่สุด

การทดลองที่2การศึกษาการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ของหญ้าและข้าวโพดหมักโดยจัดแผนการทดลองแบบ 2×4 Factorial in Completely Randomized Design โดยมีปัจจัยที่ 1 พืชอาหารสัตว์ 2 ชนิด (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) และปัจจัยที่ 2 ได้แก่ ไม่เสริม LAB และเสริมด้วย *L. buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* และการเสริม *L. buchneri* ร่วมกับ *L. plantarum* ที่ระดับ 1×10^6cfu/g ของน้ำหนักพืชสดพบว่า ระดับความเข้มข้นของ acetic acid แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติจากการเสริมด้วย *L. buchneri* (LB) และ *L. plantarum* (LP) แต่ให้ผลที่ดีกว่าการไม่เสริม อย่างไรก็ตาม การเสริม *L. buchneri* ร่วมกับ *L.plantarum* (LP) มีผลต่อปริมาณ yeast และ Mold ที่ต่ำที่สุด

การทดลองที่3การศึกษาการใช้ *L. buchneri* ต่อระยะเวลาการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ของข้าวโพดหมัก โดยจัดแผนการทดลองแบบ 2×3 Factorial in Completely Randomized Design โดยมีปัจจัยที่ 1 พืชอาหารสัตว์ 2 ชนิด (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) ที่การเสริมด้วย *L.s buchneri* ระดับ 1×10^6cfu/g ของน้ำหนักพืชสดและปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 30, 60, และ 90 วัน พบว่าการใช้ *L. buchneri* ในพืชอาหารสัตว์ทั้ง 2 ชนิดมีผลในการลดค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณ yeast, mold และ NH_3-N ในพืชหมักได้และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีอายุการหมัก 90 วัน นอกจากนี้การหมักพืชด้วย *L. buchneri* สามารถเพิ่ม reducing sugar, total sugar, LAB, lactic acid และ acetic acid ได้ดังนั้นการหมักพืชทั้ง 2 ชนิดด้วย *L. buchneri* ระดับ 1×10^6cfu/g ของน้ำหนักพืช สามารถเก็บไว้เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยไม่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชหมัก

Abstract

The objectives of this study were to change in chemical composition, type and quantity of microbial of silage. This research was divided into pre-experiment and 3 experiments.

The pre-experiment aimed to determine Napier grass and Corns quality. Corns was high concentration of NFC, reducing sugar and total sugar than Napier grass

The first experiment aimed to determine effect of lactobacillus *Lactobacillus buchneri* on chemical composition, type and quantity of microbial of silage, were assigned into a 2×4 Factorial in completely randomized design (CRD), where factor A was chopped Napier grass and Corns and factor B was level of *L. buchneri* (0, 1×10^5, 5×10^5 and 1×10^6CFU/g of fresh forage). The results showed after incubated at 30 d that the best level for fermentation of *L. buchneri* was 1×10^6 CFU/g of fresh forage was decrease acetic acid, yeast and NH_3-N.

The second experiment aimed to determine effect of lactobacillus *L. buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on chemical composition, type and quantity of microbial of silage, were assigned into a 2×4 Factorial in completely randomized design (CRD), where factor A was chopped Napier grass and Corns and factor B was 1×10^6CFU/g of *L. buchneri*, *L. plantarum* and *L. buchneri* combined with *L. plantarum*. Acetic acid was not significantly affected by *L. buchneri*, *L. plantarum* and *L. buchneri* combined with *L. plantarum* inoculated silages, but acetic acid tend to higher than the control. However, silage treated *L. buchneri* combined with *L. plantarum* had was lesser yeasts and molds than did untreated silage or treated with *L. buchneri* and *L. plantarum* alone.

The third experiment aimed to determine effect of silage incubation time with *L. buchneri* on chemical composition, type and quantity of microbial of silage, were assigned into a 2×4 Factorial in completely randomized design (CRD), where factor A was chopped Napier grass and Corns and factor B was *L. buchneri* with being storage times for 30, 60 and 90 days. The result showed that the using of *L. buchneri* treated with Napier and corn silage decreased pH, yeast, mold and NH_3-N, and lowest with storage for 90 days. The silage of using *L. buchneri* increased reducing sugar, total sugar, LAB, lactic acid and acetic acid. In conclusion, this experiment showed that the Napier grass and corn silage can be stored for 90 days.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....ก
Abstract .....ข
สารบัญ .....ค
สารบัญตาราง .....ง
บทที่ 1 บทนำ 1
บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
บทที่ 3 การประเมินคุณภาพของหญ้าเนเปียร์และข้าวโพดอาหารสัตว์.....7
อุปกรณ์และวิธีการ 7
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....9
บทที่ 4 การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในระดับต่างๆ ต่อองค์ประกอบ
ทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าและข้าวโพดหมัก.....11
อุปกรณ์และวิธีการ 11
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....15
บทที่ 5 การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* ต่อ
การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์
ของหญ้าและข้าวโพดหมัก.....19
อุปกรณ์และวิธีการ 20
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....21
บทที่ 6 การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อระยะเวลาการเก็บรักษา
การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์
ของข้าวโพดหมัก.....26
อุปกรณ์และวิธีการ 26
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....27
บทที่7 สรุปและเสนอแนะ.....31
เอกสารอ้างอิง 32
ประวัติผู้วิจัย 37

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 แสดงผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชหมักต่อ Microbial population ……4

2.2 ผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อ aerobic stability ในพืชหมัก……..…….5

3.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสับ Mean + SD…….....10

4.1 คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับต่างๆ ….....……17

5.1 คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) และ *Lactobacillus plantarum* (LP) และการเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) ที่ระดับ 1×10^{6}cfu/g ของน้ำหนักพืช…….....24

6.1 อายุการเก็บรักษาพืชหมักต่อคุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus.buchneri* (LB) ที่ระดับ 1×10^{6}cfu/g ของน้ำหนักพืช ….....……29

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการวิจัย

ขบวนการหมักเป็นวิธีการเก็บรักษาพืชอาหารหยาบ ขบวนการหมักต้องอาศัย Lactic acid bacteria (LAB) ในการเปลี่ยน water-soluble carbohydrate (WSC) ให้กลายเป็นกรดอินทรีย์ ขบวนการหมักจะมีการสะสม lactic acid มีผลทำให้ pH ลดลง เป็นผลให้การทำงานของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของพืชหมักมีการหยุดทำงานลง (Woolford, 1990) ในบางครั้งจะมีการ Inoculate bacteria เข้าไป โดยส่วนใหญ่จะมีการใช้ *Lactobacillus plantarum* ซึ่งเป็นเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม homolactic bacteria โดยมีคุณสมบัติในการผลิต lactic acid เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เพื่อต้องการที่จะทำให้ pH ลดลงอย่างรวดเร็วและยับยั้งการสูญเสีย DM อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้แบคทีเรียในกลุ่ม homolactic bacteria จะมีข้อเสียคือ จะมีการผลิตสารต้านเชื้อรา คือ acetic acid ที่น้อยและไม่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อรา และมีผลต่อความคงสภาพของพืชหมักหลังสัมผัสอากาศ (aerobic stability) ที่ต่ำ และเมื่อพืชหมักสัมผัสกับอากาศจะมีผลทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ O_2 สามารถทำกิจกรรมได้อีกครั้ง (secondary fermentation) โดยจะผลิตความร้อนและใช้สารอาหารจากพืชหมักเป็นผลให้พืชหมักเกิดการเน่าเสีย เช่น *Saccharomyces Candida, Cryptococcus* เป็นต้น และเมื่อมีการนำพืชหมักที่เน่าเสียมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์จะมีผลทำให้ลดการกินได้ ผลผลิตและสุขภาพของสัตว์ (Hoffman and Ocker, 1997; Whitlock et al., 2000) การเสื่อมลงของพืชหมัก

นอกจากจะทำให้คุณค่าทางอาหารของพืชหมักลดลงแล้วยังมีผลทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการผลิต mycotoxin ที่ผลิตโดยเชื้อราในอาหาร ซึ่ง mycotoxin จะเป็นอันตรายต่อสัตว์ ดังนั้นจึงมีการใช้ *Lactobacillus buchneri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม heterolactic bacteria โดยมีคุณสมบัติที่นอกจากจะสามารถผลิต lactic acid ได้แล้วยังสามารถผลิต acetic acid ได้ในปริมาณมากอีกด้วย *Lactobacillus buchneri* จะสามารถเปลี่ยน lactic acid เป็น acetic acid และ 1,2-propanediol (Oude Elferink et al. 2001) และยังมีผลยับยั้งการเติบโตของยีสต์ทั้งในระหว่างการหมักและหลังจากมีการสัมผัสกับอากาศและยังพบว่าระดับความร้อนในพืชหมักยังคงเท่าเดิมนาน 30 วัน (Driehuis et al. 1999) ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อการหมักและ aerobic stability ในพืชหมักเพื่อช่วยยืดอายุของพืชหมักให้นานขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus spp.* หมักพืชอาหารสัตว์ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืชหมัก ชนิด และ ปริมาณของจุลินทรีย์ในพืชอาหารหยาบหมัก

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

การใช้ *Lactobacillus spp.* หมักพืชอาหารสัตว์ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมัก โดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิด และ ปริมาณของจุลินทรีย์ในพืชอาหารหยาบหมัก

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การทดลองนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในพืชหมักเมื่อมีระยะเวลาในการเก็บรักษาพืชอาหารหยาบหมักที่แตกต่างกัน

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ทราบผลตอบสนองของการใช้ *Lactobacillus spp.* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิด และปริมาณของจุลินทรีย์ของพืชหมักเมื่อมีระยะเวลาในการเก็บรักษาพืชอาหารหยาบหมักที่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จุลชีววิทยาของพืชหมัก (Silage microbiology)

แบคทีเรียและเชื้อราพวกใช้ออกซิเจนมีติดอยู่ตามพืชอาหารสัตว์เป็นส่วนใหญ่ แต่ในสภาพปราศจากออกซิเจนใน Silo จุลินทรีย์พวกอื่นจะมีการเจริญเติบโตขึ้นมาแทน คือ *Escherichia, Klebsiella, Bacillus, Clostridium, Streptococcus, Leuconostoc, Lactobacillus* และ *Pediococcus* นอกจากนั้นมีพวกยีสต์พวกที่สามารถอยู่ได้ทั้งสองสภาพ (facultative anaerobes)

แบคทีเรียพวกผลิตกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) เป็นพวก facultative ซึ่งติดอยู่กับผิวนอกของพืชอาหารสดในปริมาณมาก แบคทีเรียพวกนี้แบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ พวก homofermentative เป็นพวกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติค และพวก heterofermentative เป็นพวกที่มีการผลิต กรดแลคติค คาร์บอนไดออกไซด์ และเอธานอลชนิดต่างๆ ของแบคทีเรีย

Homofermentative ได้แก่ *Lactobacillus plantarum, Pediococcus acidilactice, Streptococcus durans, Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium*และ *Steptococcus lactis*

Heterofermentative ได้แก่ *Lactobacillusbrevis, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus viridescens* และ *Leuconostoc mesenteroides*

หลังจากที่เริ่มมีการหมักแล้ว แบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และจะหมักสลายพวกคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำได้ (Water soluble carbohydrate) จะได้กรดอินทรีย์ ส่วนใหญ่ คือ กรดแลคติค

ความเป็นกรดด่าง (pH) ของพืชหมักจะลดลงทันที pH นับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในระดับความชื้นที่ไม่เหมาะสม pH จะแสดงความวิกฤตที่จุดๆ หนึ่ง โดยกรดอินทรีย์จะชงักการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ pH 3.8 - 4.0 กิจกรรมของจุลินทรีย์จะหยุดทั้งหมด ทำให้ได้พืชหมักที่มีสภาพดีและลักษณะเหมาะสม ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานถ้ายังคงสภาพการปราศจากออกซิเจน

ถ้า pH ไม่คงที่แบคทีเรียพวก saccharolytic clostridia ซึ่งปนเปื้อนมากับอาหารสัตว์ในรูปของสปอร์ตั้งแต่แรกจะทำการแบ่งตัว และใช้ประโยชน์จากกรดแลคติคและแป้ง ทำให้ pH สูงขึ้น นอกจากนั้นแบคทีเรียพวก less-acid-tolerant proteolytic clostridia จะเริ่มมีสมรรถภาพ พวก clostridia นี้จะมีสมรรถภาพสูง ถ้านำพืชที่มีความชื้นสูงถึง 85% มาหมักจนได้พืชหมัก

ขบวนการหมักเป็นวิธีหนึ่งในการรักษาคุณค่าทางอาหารของพืชอาหารสัตว์เอาไว้ โดยการหมักมักจะมีการทำใน Silo หรือ Bunker ซึ่งขบวนการหมักที่ดีจะต้องไร้อากาศทั้งนี้เพราะอากาศมีออกซิเจน ถ้าในขบวนการหมักมีอากาศ ยีสต์และราซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดการเน่าเสียในพืชหมัก ในสภาวะที่ไร้

ออกซิเจนจะมีการสะสมของกรด lactic ทำให้ pH ลดลงส่งผลให้จุลินทรีย์หยุดการทำงานลง แต่อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์จะสามารถกลับมาทำงานได้อีกครั้งเมื่อมีการสัมผัสกับอากาศ โดยเมื่อมีการสัมผัสกับอากาศแล้วจุลินทรีย์จะสามารถใช้ประโยชน์ได้จากสารอาหารของพืชหมักและเป็นผลให้ทำให้พืชหมักเกิดการเน่าเสียในเวลาต่อมา

ตารางที่ 2.1 แสดงผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชหมักต่อ Microbial population

Reference	Treatment	Yeasts	Molds	Lactic acid bacteria
		Log_{10} cfu/g		
Kung and Ranjit (2001)	Control	2.89	3.02	
	L. buchneri $1x10^5$ cfu/g	2.36	3.59	
	L. buchneri $5x10^5$ cfu/g	2.01	2.53	
	L. buchneri $1x10^6$ cfu/g	<2.00	<2.00	
	Inoculants	2.42	<2.00	
	BP	2.77	<2.00	
	SE	0.256	0.320	
Kung et al. (2007)	Control	6.05	7.29^{a}	7.47^{B}
	L. buchneri $4x10^6$ cfu/g	4.88	5.85^{b}	8.73^{A}
	L. buchneri $6x10^6$ cfu/g	5.78	6.31^{b}	8.82^{A}
	L. buchneri $8x10^6$ cfu/g	5.63	6.51^{b}	8.70^{A}
	SE	0.31	0.33	0.06
Mari et al. (2009)	Control	5.55	1.07^{a}	4.89^{b}
	L. buchneri $6.46x10^5$ cfu/g	4.75	0.00^{b}	6.46^{a}
	SE	0.34	0.35	0.44
Ranjit and Kung (2000)	Control	6.05^{a}	4.30	
	L. buchneri $1x10^5$ cfu/g	5.74^{ab}	4.08	
	L. buchneri $1x10^6$ cfu/g	2.01^{b}	3.05	
	L. plantarum 30114 $1x10^6$ cfu/g	5.63^{ab}	4.29	
	L. plantarum 30115 $1x10^6$ cfu/g	5.77^{ab}	3.38	
	SE	0.541	0.40	

BP = buffer propionic acid based additive applied at 0.2% of fresh forage weight; Inoculant = *L. plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* at 1×10^5 cfu/g, *Propionibacterium freudenreichii* at 1×10^4 cfu/g of fresh forage, and enzymes (42,000 IU of β-glucanase/tonne of fresh forage, 21,000 IU of α-amylase/tone, 22,800 IU of xylanase/tone, and 3,840 IU of galactomanase/tonne)

^{AB} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.01$)

^{ab} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.05$)

การศึกษาวิจัยการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชหมักพบว่าในการทดลองของ Ranjit and Kung (2000) พบว่ามีผลทำให้จำนวนของยีสต์ลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Kung et al. (2007) และ Mari et al. (2009) มีผลทำให้จำนวนของเชื้อราลดลง อย่างไรก็ตามในการทดลองของ Kung and Ranjit (2001) และ Ranjit and Kung (2000) พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.2 ผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อ aerobic stability ในพืชหมัก

Reference	Treatment	pH	Acids, %		Aerobic
			Lactic	Acetic	Stability (h)
Mari et al. (2009)	Control	3.71	4.17	2.24	46[b]
	L. buchneri 6.46x10^5 cfu/g	3.67	4.85	2.41	76[a]
	SE	0.35	0.42	0.37	8
Ranjit and Kung (2000)	Control	3.66	3.96[a]	1.82[bc]	26.5[c]
	L. buchneri 1x10^5 cfu/g	3.67	3.73[ab]	1.83[bc]	36.0[b]
	L. buchneri 1x10^6 cfu/g	3.72	3.76[ab]	3.60[a]	>900[a]
	L. plantarum 30114 1x10^6 cfu/g	3.73	3.43[b]	2.04[b]	32.8[b]
	L. plantarum 30115 1x10^6 cfu/g	3.68	3.64[ab]	1.68[c]	33.0[b]
	SE	0.02	0.11	0.05	1.3
Taylor et al. (2002)	Control	4.37[ab]	3.53[a]	2.48[cd]	95.0[c]
	L. buchneri 1x10^5 cfu/g	4.41[ab]	2.51[b]	4.06[ab]	104.7[b]
	L. buchneri 5x10^5 cfu/g	4.41[ab]	2.11[b]	4.86[a]	107.3[b]
	L. buchneri 1x10^6 cfu/g	4.51[a]	2.43[b]	4.98[a]	120.0[a]
	IN	4.34[ab]	3.43[a]	3.14[bc]	97.0[c]
	BP	4.31[b]	3.88[a]	2.00[d]	105.3[b]
	SE	0.04	0.17	0.23	1.1

BP = buffer propionic acid based additive applied at 0.2% of fresh forage weight; IN = *L. plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* at 1×10^5 cfu/g, *Propionibacterium freudenreichii* at 1×10^4 cfu/g of fresh forage, and enzymes (14,000 IU of β-glucanase/tonne of fresh forage, 7,000 IU of α-amylase/tone, 7,680 IU of xylanase/tone, and 1,280 IU of galactomanase/tonne)

[abc] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.05$)

แม้ว่าในการใช้ *Lactobacillus buchneri* เพื่อที่จะปรับปรุง ความคงสภาพของพืชหมักหลังสัมผัสอากาศ (aerobic stability) ให้สูงขึ้น จะมีผลทำให้จำนวนของยีสต์และเชื้อราลดลงเล็กน้อย แต่ถ้ามีการผลิต acetic acid ในปริมาณมากและเพียงพอก็จะสามารถมีโอกาสที่จะยับยั้งยีสต์และเชื้อราเมื่อพืชหมักมีการ

สัมผัสกับอากาศ (Taylor and Kung, 2002) ซึ่งจากตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่า LABในการทดลองมีจำนวนเพิ่มขึ้นเนื่องจากการใช้ *Lactobacillus buchneri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม LAB ซึ่งมีคุณสมบัติที่มีการเจริญได้เร็วจึงเป็นผลให้มีจำนวนของ LAB เพิ่มขึ้นตามลำดับ

ผลการทดลองในตารางที่ 2.1 แสดงให้ทราบว่าเมื่อมีการใช้ *Lactobacillus buchneri* ที่มีคุณสมบัติในการผลิต lactic acid และ acetic acid ซึ่ง acetic acid มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และรา ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของพืชหมักเมื่อมีการสัมผัสกับออกซิเจน จากที่กล่าวมาข้างต้นจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้มีค่า aerobic stability ที่สูงขึ้น ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 2.2

จุดประสงค์ในการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชหมักเพื่อที่จะป้องกันการเกิดการเน่าเสียของพืชหมักที่มีสาเหตุมาจากยีสต์และรา ซึ่งยีสต์และราจะสามารถกลับมาทำงานได้อีกครั้งเมื่อพืชหมักมีการสัมผัสกับอากาศ เพราะฉะนั้นถ้าหากมีการปรับปรุง aerobic stability ได้ย่อมจะส่งผลดีเกี่ยวกับคุณภาพของพืชหมัก เนื่องจากพืชหมักจะสามารถคงอยู่ได้โดยไม่เกิดการเน่าเสียง่ายเมื่อมีการสัมผัสกับอากาศ อีกทั้งความสามารถของ *Lactobacillus buchneri* ที่มีความสำคัญต่อการหมักคือ สามารถผลิต lactic และ acetic ซึ่งมีฤทธิ์เป็นพิษกับจุลินทรีย์ (Kung and Ranjit, 2001; Filya, 2003)

เมื่อมีการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชหมัก ผลการทดลองส่วนใหญ่พบว่าไม่มีผลต่อระดับ pH อย่างไรก็ตามในบางการทดลอง (Filya, 2003; Kung et al., 2003; Taylor and Kung, 2002) พบว่ามีผลทำให้ระดับ pH สูงขึ้น ซึ่งน่าจะมีผลมาจากการผลิต lactic acid และ acetic acid ในส่วนของ aerobic stability ของพืชหมักจากการใช้ *Lactobacillus buchneri* พบว่ามีผลทำให้สามารถปรับปรุง aerobic stability ให้สูงขึ้นเนื่องมาจาก *Lactobacillus buchneri* มีคุณสมบัติที่สามารถผลิต acetic acid ได้ในปริมาณมาก โดย acetic acid จะมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้และเป็นผลให้เมื่อพืชหมักมีการสัมผัสกับอากาศแล้วจะใช้เวลานานขึ้นกว่าจะเกิดการเน่าเสียเมื่อเทียบกับการไม่ได้ใช้ *Lactobacillus buchneri*

จากประโยชน์ดังกล่าวของ *Lactobacillus buchneri* จึงได้เห็นถึงความสำคัญของการถนอมพืชอาหารสัตว์โดยการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ซึ่งน่าจะช่วยให้คุณภาพของพืชหมักในประเทศมีคุณภาพที่ดีขึ้นและสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานขึ้นหลังจากมีการเปิดหลุมหมักหรือภาชนะที่ใช้ในการหมักอื่นๆ นอกจากนี้ยังไม่พบว่ามีการศึกษาในประเทศไทย จึงได้มีการศึกษาเพื่อที่จะได้นำผลการศึกษามาใช้แก้ไขปัญหาดังกล่าว

บทที่ 3
การประเมินคุณภาพของหญ้าเนเปียร์และข้าวโพดอาหารสัตว์

บทนำ

คุณค่าทางอาหารของอาหารหมักขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาหมัก พืชอาหารสัตว์เขตร้อนโดยเฉพาะพืชอาหารสัตว์มีคุณค่าทางอาหารไม่สูงเมื่อเทียบกับพืชอาหารสัตว์เขตหนาว เพราะฉะนั้นหญ้าหมักที่ทำจากหญ้าเขตร้อนจึงมีคุณภาพต่ำกว่าหญ้าหมักที่ได้มาจากพืชอาหารสัตว์ในเขตหนาวพืชอาหารสัตว์ต่างๆเช่น ข้าวโพดข้าวฟ่างหญ้าที่มีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate - WSC) สูงจะส่งผลทำให้เกิดขบวนการใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติคมีผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในพืชอาหารสัตว์ลดลงหยุดกระบวนการต่างๆที่เกิดขึ้นมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นประโยชน์หรือที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชหมัก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทำการประเมินคุณค่าทางโภชนะของหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ก่อนการหมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

หญ้าเนเปียร์ปากช่อง (*Pennisetum purpureum* × *Pennisetum americanum*) อายุ 45 วันและต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ไม่มีฝักที่มีอายุอยู่ในระยะเมล็ดน้ำนม (Milky stage) หั่นให้มีขนาด 2 – 3 เซนติเมตร ตัวอย่างละประมาณ 2-3 กิโลกรัม

3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.2.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสับประมาณ ปริมาณ500กรัมนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

3.2.2 นำตัวอย่างหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสับในข้อ 3.2.1 มาทำการบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3.2.3 นำตัวอย่างหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสับในข้อ 3.2.2 มาวิเคราะห์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี โดยการใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (Proximate analysis) (AOAC, 1990) ซึ่งวิเคราะห์วัตถุแห้ง

โดยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง, โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyzer, ไขมัน (Ether extract)โดยเครื่อง Soxhlet auto analyser, เถ้า (Ash)โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงส่วนเยื่อใยหยาบ (Crude fiber, CF) และ การวิเคราะห์เยื่อใยโดย Detergent analysis (Goering and VanSoest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) และ Acid detergent lignin, ADL โดยเครื่อง Fibertec auto analyser

3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ก่อนการหมัก (Bal et al., 1997)

3.3.1 นำตัวอย่างหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสับ 50 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรนำไปปั่นในโถปั่น (blender jar) นาน 30 วินาที

3.3.2 กรองตัวอย่างผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำของเหลวที่กรองได้ไปวัดความค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter(pH meter model UB-5, Denver Instrument, Germany)

3.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959)

3.4.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

3.4.2 เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละสูตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo fisher scientific) ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวใส 5 มิลลิลิตร

3.4.3นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่เก็บได้ในข้อ 3.4.2ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น (Thermo electron corporation) ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

3.4.4 นำค่าที่ได้ในข้อ 3.4.3 ไปคำนวณหา Reducing sugar โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด (Miller, 1959)

3.5.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

3.5.2 เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละสูตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo fisher scientific) ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวใส 5 มิลลิลิตร

3.5.3 นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่เก็บได้ในข้อ 3.4.2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น (Thermo electron corporation) ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

3.5.4 นำค่าที่ได้ในข้อ 3.4.3 ไปคำนวณหา Reducing sugar โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการวิเคราะห์ตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดหาค่าเฉลี่ยและนำเสนอในรูปแบบ Mean $\pm$ SD

3.7 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสำหรับคุณค่าทางโภชนะของพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดพบว่า ปริมาณวัตถุแห้งพบว่า ต้นข้าวโพดมีเปอร์เซ็นต์โปรตีน, ไขมัน, เยื่อใยหยาบ, NDF, ADF, Ash, pH และ WHC ต่ำกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง แต่อย่างไรก็ตาม ต้นข้าวโพดสดมีปริมาณ NFC, ค่าน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และ ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) สูงกว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง (ตารางที่ 3.1) พืชที่จะนำมาหมักควรมี %DM อยู่ระหว่าง 25-35% เนื่องจากเป็นสภาพที่พืชมีความชื้นเหมาะสมในการทำพืชหมัก ซึ่งหากชิ้นส่วนพืชมีความชื้นสูงเกินไปจะมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่สร้าง butyric acid ส่งผลให้พืชหมักมีกลิ่นเหม็น (McDonal ,1981; สายัณห์, 2547) ซึ่งจากการศึกษาปริมาณวัตถุแห้งของหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดสดไม่รวมฝักพบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมนำมาทำพืชอาหารหมัก (12.35 และ 24.44 ตามลำดับ, ตารางที่ 3.1) เปอร์เซ็นต์โปรตีนของหญ้าเนเปียร์ปากช่องมีค่าสูงกว่าต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ไม่รวมฝัก แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ปริมาณโปรตีนในอาหารหยาบทั้งสองชนิดมีค่าที่เหมาะสมที่จะเป็นแหล่งของอาหารสัตว์ เนื่องจากปกติสัตว์เคี้ยวเอื้อง ต้องการโปรตีนประมาณ 7-10 % และถ้าหากปริมาณโปรตีนในอาหารหยาบต่ำกว่า 7% จะส่งผลให้ความสามารถในการกินอาหารได้ของสัตว์ลดลง เนื่องจากลดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะทำให้ความอยากกินอาหารของสัตว์ลดลง (สายัณห์, 2540)

พืชส่วนใหญ่จะมีการเก็บสะสมพลังงานอยู่ในรูปของน้ำตาล คือ น้ำตาลกลูโคส โดยพลังงานเหล่านี้จะถ่ายทอดไปสู่สัตว์ที่กินพืชเป็นอาหาร พืชจะเก็บกลูโคสไว้ในรูปแป้งซึ่งเป็นพอลิแซกคาไรด์ น้ำตาลกลูโคสก็เป็นส่วนหนึ่งของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเช่นกัน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในพืชอาหารสัตว์ เป็นกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ในรูปของน้ำตาลที่จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการหมักย่อยเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะกลุ่มที่ทำหน้าที่หมักย่อยเยื่อใย ส่งผลทำให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารหยาบได้เพิ่มขึ้น (Muller, 1978)

3.8 สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาประเมินคุณภาพของหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ต้นข้าวโพดสับมีปริมาณ NFC, ค่าน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และ ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) สูงกว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง

ตารางที่ 3.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์และต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ก่อนการหมัก (Mean ± SD)

Items	**Napier grass**	**Corn**
Dry Matter (%)	12.35± 0.27	24.44±0.51
Crude protein (%DM)	9.62±0.23	6.82±0.54
Ether extract (%DM)	1.28±0.04	0.97±0.06
Crude fiber (%DM)	42.67±2.14	27.04±0.32
Neutral detergent fiber (%DM)	70.40±0.78	60.76±0.46
Acidic detergent fiber (%DM)	38.39±1.67	36.59±0.45
Acidic detergent lignin (%DM)	3.06±0.11	3.92±0.11
Non fiber carbohydrate[1/] (%DM)	5.98±0.22	24.11±0.63
Ash (%DM)	13.01±0.13	7.52±0.11
pH (%DM)	6.04±0.02	5.50±0.14
Reducing sugar (mg/100g)	2.89±0.04	3.37±0.08
Total sugar (mg/100g)	3.86±0.09	4.69±0.06
WSC (g/kgDM)	92.03±0.19	79.72±0.86

หมายเหตุ

[1/] Non fiber carbohydrate (%) = 100 - (%NDF + %CP + %Fat + %Ash)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าและข้าวโพดหมัก

บทนำ

ขบวนการหมักเป็นวิธีการเก็บรักษาพืชอาหารสัตว์ ขบวนการหมักต้องอาศัย LAB ในการเปลี่ยน water-soluble carbohydrate (WSC) ให้กลายเป็นกรดอินทรีย์ ขบวนการหมักจะมีการสะสม lactic acid มีผลทำให้ pH ลดลง เป็นผลให้การทำงานของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารหมักมีการหยุดทำงานลง (Woolford, 1990) อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเปิดใช้อาหารหมักจะทำให้เกิดการสัมผัสกับอากาศ ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนสามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารในพืชหมักและทำให้เกิดกระบวนการหมักได้อีกครั้ง (secondary fermentation) โดยจะผลิตความร้อนและใช้สารอาหารจากอาหารหมักเป็นผลให้อาหารหมักเกิดการเน่าเสีย เช่น Saccharomyces Candida, Cryptococcus เป็นต้น และเมื่อมีการนำอาหารหมักที่เน่าเสียมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์จะมีผลทำให้ลดการกินได้ ผลผลิตและสุขภาพของสัตว์ (Hoffman and Ocker, 1997; Whitlock et al., 2000) การเสื่อมลงของอาหารหมักนอกจากจะทำให้คุณค่าทางอาหารลดลงแล้วยังมีผลทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการผลิต mycotoxin ที่ผลิตโดยเชื้อราในอาหาร ซึ่ง mycotoxin จะเป็นอันตรายต่อสัตว์ ดังนั้น จึงมีการใช้ *Lactobacillus buchneri* ซึ่งเป็น heterolactic bacteria ซึ่งมีคุณสมบัติที่นอกจากจะสามารถผลิต lactic acid ได้แล้วยังสามารถผลิต acetic acid ได้ในปริมาณมากอีกด้วย *Lactobacillus buchneri* จะสามารถเปลี่ยน lactic acid เป็น acetic acid และ 1,2-propanediol (Oude Elferink et al. 2001) และยังมีผลยับยั้งการเติบโตของยีสต์ทั้งในระหว่างการหมักและหลังจากมีการสัมผัสกับอากาศ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืชหมัก
2. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* ต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในพืชหมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

4.1 ขั้นตอนการเตรียมพืชที่ใช้ในการทดลอง

หญ้าเนเปียร์ปากช่อง (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum americanum*) อายุ 45 วันและต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ไม่รวมฝักที่มีอายุอยู่ในระยะเมล็ดเป็นแป้ง (Milky stage) หั่นให้มีขนาด 2 -3 เซนติเมตร

ตัวอย่างละประมาณ 24 กิโลกรัม โดยมีปัจจัย A เป็นชนิดของพืช (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) และปัจจัย B เป็นระดับที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับต่างๆ ($1x10^5$, $5x10^5$และ $1x10^6$ cfu/g ของน้ำหนักพืช) โดยใช้หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพดทั้งหมดชนิดละ 12 กิโลกรัม แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มๆ ละ3ซ้ำดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ

กลุ่มที่ 2 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. buchneri* ที่ระดับ $1x10^4$ cfu/g

กลุ่มที่ 3 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Buchneri* ที่ระดับ $5x10^5$ cfu/g

กลุ่มที่ 4 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 5 ต้นข้าวโพดสับ

กลุ่มที่ 6 ต้นข้าวโพดสับ + *L. buchneri* ที่ระดับ $1x10^4$ cfu/g

กลุ่มที่ 7 ต้นข้าวโพดสับ + *L. buchneri* ที่ระดับ $5x10^5$ cfu/g

กลุ่มที่ 8 ต้นข้าวโพดสับ + *L. buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

คลุกหญ้าและต้นข้าวโพดกับ *Lactobacillus buchneri*ในแต่ละกลุ่มให้เข้ากันแล้วบรรจุลงในถุง 2 ชั้นชั้นนอกเป็นถุงใยสังเคราะห์ชั้นในเป็นถุงพลาสติกสีดำบรรจุหญ้าถุงละ 1 กิโลกรัมใช้ปั๊มดูดอากาศภายในออกให้มากที่สุดเพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจนใช้เชือกรวบมัดปากถุงชั้นในให้แน่นส่วนปากชั้นนอกรัดปากถุงให้แน่นหมักไว้เป็นระยะเวลา 30 วันสุ่มตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพดหมักจากทุกถุงๆละ 4 จุดคือส่วนบนกลางข้างและล่างของถุงหมักนำตัวอย่างถุงเดียวกันมาผสมรวมกันเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

4.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.2.1 สุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละกลุ่มการทดลอง ปริมาณ 500 กรัมนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

4.2.2 นำตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมักในข้อ 4.2.1 มาทำการบดด้วยเครื่องบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

4.2.3 นำตัวอย่างพืชหมักทั้งสองชนิดในข้อ 4.2.2 มาวิเคราะห์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี โดยการใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (Proximate analysis) (AOAC, 1990) ซึ่งวิเคราะห์วัตถุแห้งโดยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง, โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) โดยเครื่อง Kjeltec auto analyzer, ไขมัน (Ether extract)โดยเครื่อง Soxhlet auto analyser, เถ้า (Ash)โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงส่วนเยื่อใยหยาบ (Crude fiber, CF) และ การวิเคราะห์เยื่อใยโดย Detergent analysis (Goering and VanSoest, 1970) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในดีเทอเจนที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) และ Acid detergent lignin, ADL โดยเครื่อง Fibertec auto analyzer

4.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (Bal et al., 1997)

4.3.1 นำตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมัก 50 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรนำไปปั่นในโถปั่น (blender jar) นาน 30 วินาที

4.3.2 กรองตัวอย่างผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำของเหลวที่กรองได้ไปวัดความค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter(pH meter model UB-5, Denver Instrument, Germany)

4.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959)

4.4.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมักประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

4.4.2 เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละสูตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo fisher scientific) ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวใส 5 มิลลิลิตร

4.4.3 นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่เก็บได้ในข้อ 4.4.2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น (Thermo electron corporation) ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

4.4.4 นำค่าที่ได้ในข้อ 4.4.3 ไปคำนวณหา reducing sugar โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

4.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด (Miller, 1959)

4.5.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมักประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงในหลอดทดลอง

4.5.2 เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละสูตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo fisher scientific) ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวใส 5 มิลลิลิตร

4.5.3 นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่เก็บได้ในข้อ 4.5.2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น (Thermo electron corporation) ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

4.5.4 นำค่าที่ได้ในข้อ 4.5.3 ไปคำนวณหา Reducing sugar โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

4.6 ขั้นตอนการวิเคราะห์ตรวจวัดหาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (Borreani and Tabacco, 2008) ได้แก่ กรดอะซิติค (acetic acid) และ กรดแลคติค (lactic acid)

4.6.1 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมักประมาณ 25 กรัม แล้วใส่ลงในโถปั่น

4.6.2 เติมสารละลาย 0.05M H_2SO_4 5 มิลลิลิตร ลงในโถปั่น ปั่นเป็นเวลา 4 นาที

4.6.3 นำตัวอย่างที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC

4.6.4 ดูดส่วนใสด้านบนมาใส่ในขวด Vial สีชา

4.6.5 นำตัวอย่างในขวด Vial ไปฉีดด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

4.7 วิเคราะห์หาแอมโมเนีย (Chen et al., 1994)

4.7.1 ชั่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ใส่ในฟลาสค์เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตรคนให้เข้ากันใช้เวลา 10 นาที

4.7.2 จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman No 1 ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร โดยทำการล้างตะกอน 3 ครั้ง

4.7.3 นำน้ำตัวอย่างที่กรองได้ถ่ายลงในหลอดกลั่น เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลตร และเติมแมกนีเซียมอ๊อกไซด์จำนวน 5 กรัม

4.7.4 นำไปกลั่นโดยใช้เครื่องกลั่นหาไนโตรเจน ใช้กรดบอริก 4% เป็นตัวจับแอมโมเนียที่ปลายเครื่องกลั่น โดยเติมกรดบอริก 4% ปริมาตร 25 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสค์และหยดเมทิลเรด2 - 3 หยด แล้วนำเข้าเครื่องกลั่นไนโตรเจน

4.7.5 สารละลายที่ได้จากการกลั่นนำมาไตรเตรทกับ Std. HCl 0.01 N

วิธีการคำนวณ

$$\%Nitrogen = [(S - B) \times 0.014 \times N \times 100] / W$$

S = จำนวน Std. HCl 0.01 N ที่ใช้ไตรเตรทตัวอย่าง

B = จำนวน Std. HCl 0.01 N ที่ใช้ไตรเตรท blank

N = Normality ของ Std. HCl

W = น้ำหนักตัวอย่าง

4.8 วิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrates, WSC) ของตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมัก โดยใช้ phenol sulphuric acid method ตามวิธีของ Dubois et al. (1956)

4.9 วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของ Lactic acid bacteria, Yeast และ Molds (Spoelstra et al., 1988)

4.9.1 ชั่งตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมัก 1 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร

4.9.2 เติมสารละลาย peptone physiological salt solution (PPS) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร (ชั่ง neutralized bacteriological peptone 1 กรัม และ sodium chloride 9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร) จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:10

4.9.3 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที

4.9.4 ทำการเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับ (Serial dilutions) โดยปิเปตตัวอย่างส่วนใส 1 มิลลิลิตรใส่สารละลาย diluents ปริมาตร 9 มิลลิลิตรจะได้สารละลายเจือจ่างเท่ากับ $1:10^{-1}$และทำการเจือจางต่อไปจนได้สารละลายเจือจ่างเท่ากับ $1:10^{-8}$

4.9.5 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อYeast และ Molds (40.0 g/L of Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) และ สำหรับ Lactic acid bacteria(MRS agar) แล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate)

4.9.6 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ºC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สำหรับ Yeast และบ่มเชื่อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง สำหรับ Moldsสำหรับ LAB บ่มที่อุณหภูมิ 30ºC ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงทำการตรวจนับเชื้อโดยการนับจำนวนโคโลนี (cfu/ml) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการคำนวณ

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/g)

= (จำนวนโคโลนีที่นับได้ × ระดับความเจือจาง) × (1 / ปริมาณตัวอย่าง)

4.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

4.11 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชหมักแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งคุณค่าของพืชอาหารสัตว์ทั้งสองชนิดอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นพืชหมัก (Kleinschmit et al., 2005; Reich and Kung, 2010) เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของพืชอาหารสัตว์ที่ได้รับการหมักโดย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณเพิ่มขึ้น และต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri*ระดับความเข้มข้น1x10^{6}cfu/g มีปริมาณเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งสูงสุด (Comino et al., 2014) *Lactobacillus buchneri* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterolactic bacterium ส่งผลให้ปริมาณ

เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของพืชอาหารสัตว์เมื่อได้รับการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งกระบวนการหมักที่ดีจะมีการสูญเสียวัตถุแห้งไปประมาณ 3-5 % และมีค่าวัตถุแห้งอยู่ระหว่าง 25-35% (Frame, 1994) ปริมาณ DM recovery ต่ำที่สุดในพืชอาหารหยาบหมักที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* (Klenschmit and Kung, 2006) และพืชอาหารหยาบหมักที่ได้รับการหมัก *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นในรูปแบบ homolactic bacterium ส่งผลต่อการลดของเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งในอัตราที่ลดลง (fermentation loss) มากกว่าการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในการหมักพืชอาหารสัตว์เพียงชนิดเดียว (Driehuis et al., 2001) นอกจากนี้งานวิจัยในครั้งนี้เปอร์เซ็นต์โปรตีนเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri* ปริมาณโปรตีนของพืชหมักมีปริมาณลดลงเล็กน้อยเมื่อได้รับการหมักจาก *Lactobacillus buchneri* ที่ความเข้มข้นต่างกัน ซึ่งการเติม *Lactobacillus buchneri* ในผักเคลหมักที่ปริมาณ 1x10^6 cfu/g ของพืชสด จะมีค่า

เปอร์เซ็นต์โปรตีน น้อยกว่าที่ไม่มีการเติมเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเติม *Lactobacillus buchneri* ในปริมาณที่มากเกินไปทำให้มีการนำโปรตีนไปใช้เป็นแหล่งพลังงานด้วย ส่งผลให้โปรตีนหยาบในพืชหมักลดลง (Fraser et al., 2001)

ขณะที่การเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ไขมัน, เยื่อใยหยาบ, NDF, ADF และ ADL ไม่ได้รับอิทธิพลจากระดับความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri*และค่าความเป็นกรด-ด่างของพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดลดลงเมื่อได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณ Reducing sugar (mg/100 g) และปริมาณของ LAB (cfu/g) ของพืชอาหารหยาบหมักเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri* และมีปริมาณสูงสุดเมื่อได้รับการหมักที่ระดับ $1x10^6$cfu/gส่งผลให้ผลิตเป็นกรดแลคติกในปริมาณมากพอที่จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลงต่ำกว่า 4.2 ซึ่งจะไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นทำให้สามารถเก็บรักษาคุณภาพของหญ้าหมักไว้ได้ (McDonald et al., 1991; Weinberg et al., 2003) ซึ่งจะส่งผลดีต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารเยื่อใย (Weinberg et al., 2007) โดย LAB มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ferulic esterase ซึ่งไปมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยโดยไปมีผลในการแยก hemicelluloses จากโครงสร้างของ lignin (Nsereko et al., 2008) การใช้ *Lactobacillus buchneri* ส่งผลต่อการทำงานของ ferulic acid esterase ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของ NDF (Kang et al. , 2009) ดังนั้นการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชอาหารหยาบหมักในการทดลองครั้งนี้ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใย

ผลของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ จำนวน yeast และ mold (cfu/g) แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อทำการหมักพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดด้วย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้นและลดลงต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/g ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการ Aerobic deterioration และ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ของพืชอาหารหยาบหมัก (Comino et al., 2014) นอกจากนี้เมื่อมีการเติม *Lactobacillus buchneri* เพียงชนิดเดียว หรือเติมร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* จะทำให้มีจำนวนยีสต์และเชื้อราที่พบในพืชหมักลดลงน้อยกว่า 2 cfu/g ของพืชหมัก และพบว่าการเติม *Lactobacillus buchneri* ที่ปริมาณ $1x10^5$ cfu/g ของพืชสด จะมีจำนวนมากกว่าที่ไม่เติม LAB แต่จะมีน้อยลงเมื่อมีการเติม *Lactobacillus buchneri* ที่ปริมาณ $3x10^5$ cfu/g ของพืชสด ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนของยีสต์และเชื้อรา แสดงว่าการเติม *Lactobacillus spp.* จะช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นประโยชน์ที่อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพของพืชหมักได้ (Frank et al., 2001)

ปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้นตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และสูงสุดที่ระดับ $1x10^6$cfu/g นอกจากนี้ปริมาณของ lactic acid ลดลงตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และลดลงต่ำสุดที่ระดับ$1x10^6$cfu/g (ตาราง 4.1) จากรายงานของ Comino et al. (2014) พบว่า กลุ่มที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการหมักอย่างน้อยสองเท่า และมีความสัมพันธ์กับปริมาณของ yeast ปริมาณของ yeast จะลดลงเมื่อปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.1 คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับต่างๆ

Item	Fresh grass				Corn				SEM	Pr<F		
	Con.	1x10^{4}cfu/g	1x10^{5}cfu/g	1x10^{6}cfu/g	Con.	1x10^{4}cfu/g	1x10^{5}cfu/g	1x10^{6}cfu/g		A	B	AxB
DM (%)	12.51^{b}	14.27^{a}	14.20^{a}	14.61^{a}	24.11^{e}	22.45^{f}	23.24^{f}	23.31^{g}	0.07	<0.01	0.01	<0.01
CP (%)	10.09^{a}	11.06^{b}	11.33^{c}	11.66^{d}	6.72^{e}	7.05^{e}	7.18^{f}	7.28^{g}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Fat (%)	0.79	0.76	0.80	0.77	0.90^{f}	0.93^{f}	0.89^{ef}	0.94^{e}	0.01	<0.01	0.91	0.17
Fiber (%)	35.95	35.49	35.51	35.35	29.44	29.39	29.21	29.49	0.08	<0.01	0.31	0.36
NDF (%)	64.49^{a}	64.62^{b}	65.23^{b}	65.31^{b}	61.49^{f}	61.77^{ef}	61.87^{ef}	62.64^{e}	0.09	<0.01	0.15	<0.01
ADF (%)	34.77^{a}	33.97	34.37	34.52	26.29^{f}	32.49^{e}	33.13^{e}	33.05^{e}	0.10	<0.01	<0.01	<0.01
ADL (%)	2.60^{a}	2.36^{ab}	2.34^{ab}	2.10^{b}	3.40	3.23	3.33	3.31	0.05	<0.01	0.17	0.41
pH	5.99^{a}	3.98^{b}	3.95^{b}	3.97^{b}	4.55^{e}	3.41^{f}	3.39^{fg}	3.37^{g}	0.00	<0.01	<0.01	<0.01
Reducing sugar (mg/100g)	2.53^{a}	3.06^{b}	2.97^{b}	3.02^{b}	2.75	2.61	2.42	2.72	0.04	<0.01	0.02	0.22
Total sugar (mg/100g)	5.19^{a}	4.94^{a}	4.02^{b}	4.77^{a}	5.94	5.03	6.38	6.10	0.12	<0.01	0.37	0.05
Lactic acid bacteria (cfu/g)	6.47^{c}	6.73^{c}	7.19^{b}	8.05^{a}	6.36^{g}	6.55^{g}	7.49^{f}	7.96^{e}	0.02	0.69	0.01	0.03
Yeast (cfu/g)	6.10^{a}	5.75^{b}	4.86^{c}	4.19^{d}	5.89^{e}	5.60^{f}	4.31^{g}	3.21^{h}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Mold(cfu/g)	7.22^{a}	6.80^{b}	6.78^{b}	6.02^{c}	7.18^{e}	6.51^{f}	6.01^{g}	5.93^{g}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Acetic (%)	1.31^{a}	2.19^{c}	2.51^{b}	3.20^{d}	1.29^{g}	2.43^{f}	3.16^{e}	3.05^{e}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Lactic (%)	7.92^{a}	7.26^{b}	6.99^{c}	6.63^{d}	6.71^{g}	6.50^{f}	5.73^{e}	4.31^{e}	0.03	<0.01	<0.01	<0.01
WSC (g/kgDM)	91.78	92.81	90.46	90.01	79.95^{e}	78.66^{ef}	77.19^{f}	74.69^{g}	0.24	<0.01	<0.01	0.15
NH_4-N (g/kgDM)	0.43^{c}	0.50^{c}	0.71^{b}	1.14^{a}	0.73^{g}	1.15^{f}	1.28^{f}	1.50^{e}	0.02	<0.01	<0.01	0.02

$^{a-d}$ Mean for the fresh grass treatment are significantly difference (P<0.05) $^{e-h}$ Mean for the corn treatment are significantly difference (P<0.05)

SEM = Standard error of mean; A = Effect of roughage source; B = Effect of *L. buchneri* concentrations; A×B = Interaction of Roughage source and *L. buchneri* concentrations

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ส่งผลต่อกระบวนการประสิทธิภาพการหมักที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการ heterolactic pathway ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณของ acetic acid ที่ลดลง (Hu et al., 2009) ปริมาณ lactic acid ลดลงเป็นผลมาจากระดับของเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและปริมาณของ WSC ที่สูงขึ้น (Santos et al., 2014) การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในพืชอาหารหยาบหมัก ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ lactic acid ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณ organic acid (Muck, 1996)

ปริมาณของ Water soluble carbohydrate (g/kg DM, WSC) สูงสุดในกลุ่มที่ไม่รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* และต่ำสุดในต้นข้าวโพดหมักที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g แต่พบว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่องหมักปริมาณของ WSC ไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 4.1) ซึ่งการเติม *Lactobacillus buchneri* ที่ปริมาณ 1x106 cfu/g ของพืชสด มีค่า WSC น้อยกว่าที่ไม่มีการเติม การเติม *Lactobacillus spp.* มีผลทำให้คุณภาพของพืชหมักดีขึ้น อาจเป็นเพราะ LAB มีผลทำให้เกิดกรดแลคติคได้เร็วขึ้น ทำให้ค่า pH ต่ำลงอยู่ในระดับที่เหมาะสมได้เร็วขึ้น มีผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ต่างๆ ทำให้มีการใช้ WSC น้อยกว่าที่ไม่เติม (Ranjit et al., 2002)

ปริมาณของ NH_3-N (g/kg DM) ลดลงในกลุ่มที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ซึ่งลดลงตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และลดลงต่ำสุดที่ระดับ$1x10^6$cfu/g (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเป็นผลมาจากระดับของเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและปริมาณของ WSC ที่สูงขึ้น (Santos et al., 2014) จากรายงานของ Muck (1996) พบว่า การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในพืชอาหารหยาบหมัก ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ lactic acid ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อกระบวนการ proteolysis reduction ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ NH_3-N (g/kg DM)

4.12 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าและข้าวโพดหมัก พบว่า ระดับของ *Lactobacillus buchneri* ที่เหมาะสมสำหรับพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดได้แก่ ระดับ $1x10^6$cfu/g ซึ่งส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของ acetic acid, ปริมาณ yeast และ NH_3-N ที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม และส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของ NDF ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยสำหรับพืชหมัก

บทที่ 5

การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ของหญ้าและข้าวโพดหมัก

บทนำ

แบคทีเรียและเชื้อราพวกใช้ออกซิเจนมีติดอยู่ตามพืชอาหารสดเป็นส่วนใหญ่ แต่ในสภาพปราศจากออกซิเจนในพาชนะหรือหลุมหมักนั้น แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติค (Lactic acid bacteria; LAB) จะสามารถเจริญเติบโตได้ดี LAB เป็นพวก facultative ซึ่งติดอยู่กับผิวนอกของพืชอาหารสดในปริมาณมาก แบคทีเรียพวกนี้แบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ พวก homo-fermentative เป็นพวกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติค และพวก hetero-fermentative เป็นพวกที่มีการผลิต กรดแลคติค คาร์บอนไดออกไซด์ และเอธานอลชนิดต่างๆ ของแบคทีเรีย หลังจากที่เริ่มมีการหมักแล้ว แบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และจะหมักสลายพวกแป้งที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrate) จะได้กรดอินทรีย์ ส่วนใหญ่คือ กรดแลคติค ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารหมักจะลดลงทันที ความเป็นกรด-ด่างนับได้ว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในกระบวนการหมักร่วมกับระดับความชื้นในพืชอาหารสัตว์ที่เหมาะสม โดยความเป็นกรด-ด่างจะแสดงความวิกฤตที่จุดๆ หนึ่ง โดยกรดอินทรีย์ชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ระดับความเป็นกรดด่าง 3.8 – 4.0 กิจกรรมของจุลินทรีย์จะหยุดทั้งหมด ทำให้ได้พืชอาหารหมักที่มีสภาพดีและลักษณะเหมาะสม ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานถ้ายังคงสภาพการปราศจากออกซิเจน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืชหมัก
2. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* ต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในพืชหมัก
3. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืชหมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

5.1 ขั้นตอนการเตรียมพืชที่ใช้ในการทดลอง

หญ้าเนเปียร์ปากช่อง (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum americanum*) อายุ 45 วันและต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ไม่รวมฝักที่มีอายุอยู่ในระยะเมล็ดเป็นแป้ง (Milky stage) หั่นให้มีขนาด 2 -3 เซนติเมตร ตัวอย่างละประมาณ 24 กิโลกรัม โดยมีปัจจัย A เป็นชนิดของพืช (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) และปัจจัย B เป็นระดับที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* ที่ระดับที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ($1x10^6$ cfu/g ของน้ำหนักพืช)โดยใช้หญ้าเนเปียร์ปากช่องและข้าวโพดทั้งหมดชนิดละ 12 กิโลกรัมแบ่งออกเป็น 8 กลุ่มๆละ 3 ซ้ำดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ

กลุ่มที่ 2 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 3 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Plantarum* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 4 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. buchneri* + *L. plantarum* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 5 ต้นข้าวโพดสับ

กลุ่มที่ 6 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 7 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Plantarum* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

กลุ่มที่ 8 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Buchneri* + *L. Plantarum* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/g

คลุกหญ้าและต้นข้าวโพดกับจุลินทรีย์ที่ในแต่ละกลุ่มให้เข้ากันแล้วบรรจุลงในถุง 2 ชั้นชั้นนอกเป็นถุงใยสังเคราะห์ชั้นในเป็นถุงพลาสติกสีดำบรรจุหญ้าถุงละ 1 กิโลกรัม ใช้ปั๊มดูดอากาศภายในออกให้มากที่สุดเพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจนใช้เชือกรวบมัดปากถุงชั้นในให้แน่นส่วนปากชั้นนอกรัดปากถุงให้แน่นหมักไว้เป็นระยะเวลา 30 วันสุ่มตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพดหมักจากทุกถุงๆละ 4 จุดคือส่วนบนกลางข้างและล่างของถุงหมักนำตัวอย่างถุงเดียวกันมาผสมรวมกันเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

5.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ตัวอย่างหญ้าและต้นข้าวโพดสับหมัก วิธีการตามขั้นตอนในบทที่ 4 (หัวข้อที่ 4.2-4.9)

5.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักแสดงในตารางที่ 5.1 ซึ่งคุณค่าของพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นพืชอาหารหยาบหมัก (Kleinschmit et al., 2005; Reich and Kung, 2010) เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของพืชอาหารหยาบที่ได้รับการหมักโดย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณเพิ่มขึ้น และต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ระดับความเข้มข้น $1x10^6$cfu/g มีปริมาณเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งสูงสุด (Comino et al., 2014) *Lactobacillus buchneri* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterolactic bacterium ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งเมื่อได้รับการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณ DM recovery ต่ำที่สุดในพืชอาหารหยาบหมักที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* (Klenschmit and Kung, 2006) การเสริม *Lactobacillus buchneri* ในข้าวโพดหมักมีวัตถุแห้งสูงกว่าที่ไม่มีการเสริม LAB ตั้งแต่ 21-30 g/kg DM แต่เมื่อมีการเสริมที่ระดับสูงขึ้นและเสริมร่วมกันสองชนิดกลับทำให้มีวัตถุแห้งลดลง อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างในทางสถิติ (Ranjit et al., 2002) ขณะที่ Fraser et al. (2001) พบว่าการเสริม *Lactobacillus buchneri* ใน kale silage ที่ปริมาณ $1x10^6$ cfu/g ทำให้มีการสูญเสียวัตถุแห้งเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเสริมซึ่งแสดงให้เห็นว่าชนิดของพืชมีอิทธิพลต่อปริมาณของ LAB ด้วย ดังนั้นการเสริม *Lactobacillus spp.* มีแนวโน้มที่ทำให้การสูญเสียวัตถุแห้งลดลงหากเลือกใช้เหมาะสมกับพืชที่นำมาหมัก เมื่อมีการใช้ *Lactobacillus spp.* ร่วมกันสองชนิดหรือมากกว่า ช่วยทำให้การสูญเสียวัตถุแห้งของพืชหมักน้อยลงเมื่อเทียบกับที่ไม่ได้เติม ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะว่า *Lactobacillus spp.* เป็นชนิดที่สามารถผลิต lactic acid ได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ดังนั้น เมื่อมีอากาศเข้าไป แบคทีเรียเหล่านี้ก็จะใช้ออกซิเจนให้หมดไป ส่งผลให้พวกจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสียหายลดจำนวนลงและตายในที่สุด ทำให้ลดการสูญเสียเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (Frank et al., 2001)

การเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในพืชหมักทั้ง 2 ชนิด พบว่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเสริม LABโดยเปอร์เซ็นต์โปรตีนเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri* Ranjit et al. (2002) พบว่าการเสริม *Lactobacillus buchneri* ในข้าวโพดหมักจะมีค่าโปรตีนหยาบสูงขึ้นแต่เมื่อเพิ่มปริมาณ *Lactobacillus buchneri* มีผลทำให้ระดับโปรตีนหยาบลดลงเล็กน้อยและพบว่าเมื่อมีการเสริมร่วมกันสองชนิดกลับมีค่าโปรตีนหยาบสูงขึ้นอาจเป็นเพราะว่า LAB แต่ละชนิดมีคุณสมบัติต่างกันนอกจากนี้ Fraser et al. (2001) พบว่าการเสริม *Lactobacillus buchneri* ใน kale silage จะมีค่าโปรตีนหยาบต่ำกว่าที่ไม่มีการเสริม ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเสริม *Lactobacillus buchneri* ในปริมาณที่สูงเกินไปทำให้มีการนำโปรตีนไปใช้เป็นแหล่งพลังงานด้วยส่งผลให้โปรตีนหยาบในพืชหมักลดลง

ขณะที่การเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ไขมัน, เยื่อใยหยาบ, NDF, ADF และ ADL ไม่ได้รับอิทธิพลจากระดับความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri* การเสริม *Lactobacillus plantarium* และ *Pediococcus pentosaceus* ในข้าวโพดหมักที่ระดับ $1x10^5$ cfu/g มีค่า NDF แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับการเสริม *Lactobacillus buchneri* ที่ปริมาณ $2.5x10^5$ cfu /g (Ranjit et al., 2002) ค่าความเป็นกรด-ด่างของพืช

อาหารหยาบทั้งสองชนิดลดลงเมื่อได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณ Reducing sugar (mg/100 g) และปริมาณของ LAB (cfu/g) ของพืชอาหารหยาบหมักเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ *Lactobacillus buchneri* และมีปริมาณสูงสุดเมื่อได้รับการหมักที่ระดับ $1x10^6$cfu/g ส่งผลให้ผลิตเป็นกรดแลคติกในปริมาณมากพอที่จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลงต่ำกว่า 4.2 ซึ่งจะไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ทำให้สามารถเก็บรักษาคุณภาพของหญ้าหมักไว้ได้ (McDonald et al., 1991; Weinberg et al., 2003) ซึ่งจะส่งผลดีต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารเยื่อใย (Weinberg et al., 2007) โดย LAB มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ferulic esterase ซึ่งไปมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยโดยไปมีผลในการแยก hemicelluloses จากโครงสร้างของ lignin (Nsereko et al., 2008) จากรายงานของ Kang et al. (2009) พบว่าการใช้ *Lactobacillus buchneri* ส่งผลต่อการทำงานของ ferulic esterase ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของ NDF ดังนั้นการใช้ *Lactobacillus buchneri* ในพืชอาหารหยาบหมักในการทดลองครั้งนี้ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใย

ผลของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ จำนวน yeast และ mold (cfu/g) แสดงในตารางที่ 5.1 พบว่าเมื่อทำการหมักพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดด้วย *Lactobacillus Buchneri* มีปริมาณลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้นและลดลงต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$cfu/g ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการ Aerobic deterioration และ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ของพืชอาหารหยาบหมัก (Comino et al., 2014) คุณสมบัติของแบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นชนิดที่สามารถผลิตกรดแลคติคและกรดชนิดอื่นได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ จึงทำให้เกิดกรดแลคติคได้ช้า ส่งผลให้การเจริญของพวกยีสต์และเชื้อราเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ทำให้มีจำนวนมากกว่าที่เสริม *Lactobacillus buchneri* เพียงชนิดเดียว

ปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้นตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และสูงสุดที่ระดับ $1x10^6$cfu/g นอกจากนี้ ปริมาณของ lactic acid ลดลงตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และลดลงต่ำสุดที่ระดับ $1x10^6$cfu/g (ตาราง 5.1) กลุ่มที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการหมักอย่างน้อยสองเท่า และมีความสัมพันธ์กับปริมาณของ yeast ปริมาณของ yeast จะลดลงเมื่อปริมาณของ acetic acid เพิ่มขึ้น (Comino et al., 2014) นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ส่งผลต่อกระบวนการประสิทธิภาพการหมักที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการ heterolactic pathway ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณของ acetic acid ที่ลดลง (Hu et al., 2009) ปริมาณ lactic acid ลดลงเป็นผลมาจากระดับของเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและปริมาณของ WSC ที่สูงขึ้น (Santos et al., 2014) จากรายงานของ Muck (1996) พบว่า การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในพืชอาหารหยาบหมัก ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ lactic acid ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณ organic acid นอกจากนี้จากการศึกษาของ Fraser et al.(2001) พบว่าการเสริม *Lactobacillus buchneri* ใน Kale silage ที่ปริมาณ $1x10^6$ cfu/g ของพืชสดทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม เมื่อมีการเสริม *Lactobacillus buchneri* ใน Ryegrass silage ที่ปริมาณ $3x10^5$ cfu/g มีผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเมื่อเทียบกับที่ไม่มีการเสริมเมื่อมีปริมาณของ lactic

acid สูงมีผลทำให้พืชหมักมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำในทางตรงข้ามเมื่อปริมาณของกรดแลคติคต่ำและยังพบว่าในการเสริม LAB ร่วมกันสองชนิดขึ้นไปใน Ryegrass silage ค่า pH จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Frank et al., 2001) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ LAB ต่างชนิดกันในระดับที่เท่ากันจะให้ผลที่ต่างกันทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการใช้น้ำตาลในพืชแต่ละชนิดที่ต่างกัน (Frank et al., 2000)

ปริมาณของ Water soluble carbohydrate (g/kg DM, WSC) สูงสุดในกลุ่มที่ไม่ได้เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* และต่ำสุดในต้นข้าวโพดหมักที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g แต่พบว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่องหมักปริมาณของ WSC ไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 5.1) จากงานทดลองของ Ranjit et al. (2002) พบว่าการเสริม *Lactobacillus plantarium* และ *Pediococcus pentosaceus* ในข้าวโพดหมักมีค่าสูงเมื่อเทียบกับที่ไม่มีการเสริมและเสริม *Lactobacillus buchneri* เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริม *L. buchneri* ที่ปริมาณ $1x10^6$ cfu/g ของพืชสดมีค่า WSC น้อยกว่าที่ไม่มีการเสริมแต่ Fraser et al. (2001) กลับพบว่ามีผลทำให้ปริมาณ WSC สูงกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับที่ไม่เสริมใน Kale silage จะเห็นได้ว่าพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อชนิดและปริมาณของ LAB ได้ต่างกัน

ปริมาณของ NH_3-N (g/kg DM) ลดลงในกลุ่มที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ซึ่งลดลงตามระดับของ *Lactobacillus buchneri* และลดลงต่ำสุดที่ระดับ $1x10^6$cfu/g (ตารางที่ 5.1) ซึ่งเป็นผลมาจากระดับของเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและปริมาณของ WSC ที่สูงขึ้น (Santos et al., 2014) จากรายงานของ Muck (1996) พบว่า การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในพืชอาหารหยาบหมัก ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ lactic acid ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อกระบวนการ proteolysis reduction ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณ NH_3-N (g/kg DM) จากการทดลองของ Winter et al. (2001) จะเห็นได้ว่าการเสริม *Lactobacillus buchneri* ใน Ryegrass silage ทำให้ NH_3-N มีค่าต่ำกว่าที่ไม่ได้เสริมแสดงว่าการเสริม *L. buchneri* ทำให้มีการสูญเสียโปรตีนในพืชหมักน้อยลงในขณะที่ Fraser et al.(2001) พบว่าในการเสริม *L. buchneri* ใน Kale silage ที่ปริมาณ $1x10^6$ cfu/g มีค่า NH_3-N ใกล้เคียงหรือสูงกว่าเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับพวกที่ไม่มีการเสริมทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Kale ที่นำมาหมักมีปริมาณแป้งและน้ำตาลน้อยแต่ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เสริมมากเกินไปจึงทำให้ LAB มีการนำโปรตีนมาใช้เป็นแหล่งพลังงานด้วยมีผลทำให้ค่า NH_3-N สูงขึ้น

ตารางที่ 5.1 คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) และ *Lactobacillus plantarum* (LP) และการเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช

Item	Fresh grass				Corn				SEM	Pr<F		
	Con.	LB	LP	LBP	Con.	LB	LP	LBP		A	B	A×B
DM (%)	13.27^{b}	14.92^{a}	15.08^{a}	14.96^{a}	24.92^{e}	24.26^{f}	24.32^{f}	25.20^{e}	0.07	<0.01	<0.01	<0.01
CP (%)	10.88^{b}	11.88^{a}	11.87^{a}	11.91^{a}	6.55^{f}	7.36^{e}	7.42^{e}	7.36^{e}	0.02	<0.01	<0.01	0.21
Fat (%)	1.32^{a}	1.34^{a}	1.36^{a}	0.83^{b}	0.85	0.87	0.89	0.90	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Fiber (%)	34.75^{a}	34.27^{b}	34.40^{ab}	34.72^{a}	28.99	29.35	28.87	29.25	0.05	<0.01	0.17	0.07
NDF (%)	62.45	62.18	61.90	62.17	61.31	61.24	60.96	61.35	0.06	<0.01	0.14	0.86
ADF (%)	32.69^{b}	33.66^{ab}	34.08^{a}	33.48^{ab}	26.15	28.46	25.77	24.54	0.45	<0.01	0.43	0.47
ADL (%)	1.99	2.00	2.18	2.08	3.29	3.39	3.35	3.40	0.04	<0.01	0.76	0.85
Ash (%)	12.08	11.79	12.11	11.92	7.40^{e}	6.90^{f}	7.28^{e}	7.16^{e}	0.04	<0.01	0.11	0.8
pH	5.87^{a}	5.13^{b}	5.20^{c}	5.22^{d}	4.62^{e}	3.41^{f}	3.31^{g}	3.38^{h}	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Reducing sugar (mg/100g)	3.35^{a}	2.71^{c}	2.90^{c}	2.84^{b}	2.86^{e}	2.41^{g}	2.44^{g}	2.60^{f}	0.01	<0.01	<0.01	0.39
Total sugar (mg/100g)	5.60^{b}	4.60^{a}	4.40^{a}	4.58^{a}	5.85^{f}	6.51^{e}	6.79^{e}	6.68^{e}	0.02	<0.01	0.08	<0.01
Lactic acid bacteria (cfu/g)	5.94^{b}	6.35^{b}	6.83^{a}	7.44^{a}	6.39^{f}	6.64^{f}	7.39^{e}	7.51^{e}	0.03	<0.01	<0.01	0.08
Yeast (cfu/g)	6.06^{a}	5.32^{a}	4.68^{a}	4.30^{b}	5.56^{e}	5.48^{e}	5.27^{e}	5.53^{f}	0.03	0.08	<0.01	<0.01
Mold(cfu/g)	7.32^{a}	6.88^{b}	6.87^{bc}	6.10^{c}	7.48^{e}	6.89^{f}	6.69^{fg}	6.40^{g}	0.02	0.17	<0.01	0.05
Acetic (%)	1.49^{b}	2.42^{a}	2.46^{a}	3.15^{a}	1.09^{f}	2.58^{e}	2.72^{e}	2.98^{e}	0.06	0.75	<0.01	0.25
Lactic (%)	7.89^{a}	7.60^{b}	7.11^{b}	6.91^{b}	7.02^{e}	6.94^{e}	6.07^{f}	6.09^{f}	0.03	<0.01	<0.01	0.24
WSC (g/kgDM)	95.90^{a}	92.14^{b}	92.20^{bc}	90.95^{c}	82.99^{e}	81.30^{f}	81.04^{fg}	79.86^{g}	0.17	<0.01	<0.01	0.21
NH_3-N (g/kgDM)	0.72^{c}	0.64^{bc}	0.59^{ab}	0.71^{a}	1.08^{g}	1.24^{fg}	1.31^{ef}	1.51^{e}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01

$^{a-d}$ Mean for the fresh grass treatment are significantly difference (P<0.05) $^{e-h}$ Mean for the corn treatment are significantly difference (P<0.05)

SEM = Standard error of mean; A = Effect of roughage source; B = Effect of *L. buchneri* concentrations; A×B = Interaction of Roughage source and *L. buchneri* concentrations

5.5 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) และ *Lactobacillus plantarum* (LP) และการเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าและข้าวโพดหมัก พบว่า เสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g ส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของ acetic acid แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญจากการเสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) และ *Lactobacillus plantarum* (LP) แต่ให้ผลที่ดีกว่าการไม่เสริม อย่างไรก็ตาม การเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) มีผลต่อปริมาณ yeast และ Mold ที่ต่ำที่สุด ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของพืชหมักโดยจะเห็นได้ชัดในส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสียหายในพืชหมักลดลง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 6

การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อระยะเวลาการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ของข้าวโพดหมัก

บทนำ

การเลี้ยงโค กระบือ รวมถึงสัตว์เคี้ยวเอื้องต่างๆนั้น ปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะส่งผลต่อการให้ผลผลิตที่ดีของสัตว์คือพืชอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามปัญหาการขาดแคลนพืชอาหารสัตว์เป็นปัญหาที่สำคัญโดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้งจึงมีการเก็บถนอมพืชอาหารสัตว์ที่ให้ผลผลิตสูงในช่วงฤดูฝนไว้ในรูปของหญ้าแห้งและหญ้าหมักเพื่อเก็บสำรองสำหรับใช้ในช่วงที่ขาดแคลน แต่การเก็บสำรองพืชหมักไว้ใช้ในระยะเวลาที่ยาวนานอาจส่งผลให้คุณภาพของอาหารหมักเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการเก็บรักษาอาหารหมักที่ระยะเวลาต่างๆ เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของพืชหมักที่เสริม *Lactobacillus buchneri* ต่อระยะเวลาการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ของข้าวโพดหมัก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus buchneri* ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืชหมัก ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

6.1 ขั้นตอนการเตรียมพืชที่ใช้ในการทดลอง

หญ้าเนเปียร์ปากช่อง (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum americanum*) อายุ 45 วันและต้นข้าวโพดอาหารสัตว์ที่มีอายุอยู่ในระยะเมล็ดเป็นแป้ง (Milky stage) หั่นให้มีขนาด2-3เซนติเมตร ตัวอย่างละประมาณ 24 กิโลกรัม โดยมีปัจจัย A เป็นชนิดของพืช (หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพด) และปัจจัย B เป็นระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 30, 60, และ 90 วัน โดยเสริม *Lactobacillus buchneri* ที่ระดับที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยพิจารณาคุณสมบัติที่ดีของพืชหมักโดยใช้หญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพดทั้งหมดชนิดละ200 กก. แบ่งออกเป็น6กลุ่มๆละ 4 ซ้ำดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช ที่ 30 วัน

กลุ่มที่ 2 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช ที่ 60 วัน

กลุ่มที่ 3 หญ้าเนเปียร์ปากช่องสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืชที่ 90 วัน

กลุ่มที่ 4 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช ที่ 30 วัน

กลุ่มที่ 5 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช ที่ 60 วัน

กลุ่มที่ 6 ต้นข้าวโพดสับ + *L. Buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช ที่ 90 วัน

คลุกหญ้าและต้นข้าวโพดกับ *Lactobacillus buchneri* ในแต่ละกลุ่มให้เข้ากันแล้วบรรจุลงในถุง 2 ชั้นชั้นนอกเป็นถุงใยสังเคราะห์ชั้นในเป็นถุงพลาสติกสีดำบรรจุหญ้าถุงละ 1 กิโลกรัมใช้ปั๊มดูดอากาศภายในออกให้มากที่สุดเพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจนใช้เชือกรวบมัดปากถุงชั้นในให้แน่นส่วนปากชั้นนอกรัดปากถุงให้แน่นหมักไว้เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด สุ่มตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่องและต้นข้าวโพดหมักจากทุกถุงๆละ 4 จุดคือส่วนบนกลางข้างและล่างของถุงหมักนำตัวอย่างถุงเดียวกันมาผสมรวมกันเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

6.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิธีการตามขั้นตอนในบทที่ 4 (หัวข้อที่ 4.2-4.9)

6.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized design โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

คุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชอาหารหยาบหมักที่เสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืชต่ออายุการเก็บรักษาที่ 30, 60 และ 90 วัน แสดงในตารางที่ 6.1 อายุการหมักมีผลต่อการลดลงของปริมาณเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (Wang et al., 2014) เมื่อทำการหมักพืชอาหารสัตว์เป็นระยะเวลา 90 วัน ด้วย *Lactobacillus buchneri* มีปริมาณเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งลดลงกว่ากลุ่มที่ได้รับการหมักด้วย *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* ปริมาณโปรตีนในพืชอาหารหยาบหมักทั้งสองชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ก่อนได้รับการหมัก และมีปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีนไม่แตกต่างกันเมื่อมีอายุการหมักที่แตกต่างกัน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของพืชอาหารหยาบหมักลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการหมัก และลดลงต่อเนื่องตามอายุการเก็บรักษา และต่ำที่สุดเมื่ออายุการเก็บรักษาที่ 90 วัน ($P<0.05$) ซึ่งระยะเวลาการเก็บพืชอาหารหยาบเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย การทำงานของ yeast ในกระบวนการหมักจะใช้ lactic acid ซึ่งเป็นกระบวนการเริ่มต้นที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของพืชอาหารหยาบหมักส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-

ด่างของพืชอาหารหยาบหมักเพิ่มขึ้น และเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต่อแบคทีเรียและเชื้อรา (Woolford, 1990) แต่การใช้จุลินทรีย์ชนิด LAB (heterofermentative lactic acid bacteria) สามารถลดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของพืชหมักได้ทำให้เกิดกระบวนการหมักของพืชหมัก (Filya, 2002) และปริมาณ lactic acid ที่สูงขึ้นส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (Wang et al., 2014)

ปริมาณของ acetic acid ของพืชหมักเพิ่มขึ้นหลังจาก 30 วัน ของอายุการหมัก ซึ่ง *Lactobacillus buchneri* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของ heterofermentative LABมีผลในการเพิ่ม aerobic stability ส่งผลให้ปริมาณของ acetic acid สูงขึ้น (Schmidt et al., 2009) ซึ่งปริมาณของ acetic acid ที่เกิดขึ้นในพืชอาหารหยาบมีคุณสมบัติเป็น antifungal (Kung and Ranjit, 2001) ปริมาณ lactic acid ต่ำสุดเมื่อมีอายุการหมักที่ 90 วัน อายุการหมักไม่มีผลต่อปริมาณ Water soluble carbohydrate (g/kg DM, WSC) ของพืชหมักทั้งสองชนิด ปริมาณของ NH_3-N (g/kg DM) ลดลงเมื่อมีอายุการหมักที่ 30 วันขึ้นไป ซึ่งการลดลงของ NH_3-N (g/kg DM) เป็นผลจาก ค่าความเป็นกรด-ด่างของพืชหมักลดลง (Filya, 2003; Driehuis et al., 2001) จำนวนของ LAB ของหญ้าเนเปียร์หมักที่อายุการหมัก 30-90 วันให้ผลไม่แตกต่างกันแต่พบว่าสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่ได้รับการหมัก และในต้นข้าวโพดสดหมักที่อายุการหมัก 60-90 วัน มีปริมาณของ LAB สูงกว่าที่อายุการหมัก 30 วัน ปริมาณของ yeast และ moldในพืชอาหารหยาบหมักทั้งสองชนิดมีปริมาณลดลงเมื่ออายุการหมัก 60-90 วัน และต่ำกว่าที่อายุการหมัก 30 วัน จากรายงานของ Wang et al., 2014 ปริมาณของ yeast และ mold ในพืชอาหารหยาบที่ลดลง เป็นผลมาจากปริมาณ acetic acid ที่สูงขึ้นจากกระบวนการหมัก (Schmidt et al., 2009)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 6.1 อายุการเก็บรักษาพืชหมักต่อคุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชหมักที่เสริมด้วย *L.buchneri* (LB) ที่ระดับ 1x10^{6}cfu/g ของน้ำหนักพืช

Item	Fresh grass			Corn			SEM	Pr<F		
	30 d	60 d	90 d	30 d	60 d	90 d		A	B	A×B
DM (%)	13.17^{a}	12.86^{b}	12.35^{c}	23.76^{e}	23.36^{f}	22.84^{g}	0.04	<0.01	<0.01	<0.01
CP (%)	11.94	11.87	11.86	7.55	7.62	7.69	0.02	<0.01	0.07	0.06
Fat (%)	1.39	1.41	1.37	0.91	0.88	0.90	0.02	<0.01	0.06	0.74
Fiber (%)	34.75	35.14	34.95	28.96	29.05	29.03	0.05	<0.01	0.06	0.12
NDF (%)	62.58^{b}	63.79^{a}	62.99^{b}	62.50^{e}	60.91^{f}	60.64^{f}	0.08	<0.01	0.03	<0.01
ADF (%)	33.69^{ab}	33.62^{a}	33.05^{b}	28.80	28.33	28.99	0.16	<0.01	0.67	0.12
ADL (%)	1.90	2.10	2.16	3.07	3.04	3.11	0.03	<0.01	0.43	0.64
pH	4.23^{a}	4.12^{b}	4.06^{c}	3.50^{e}	3.35^{f}	3.18^{g}	0.00	<0.01	<0.01	<0.01
Reducing sugar (mg/100g)	3.27^{b}	3.43^{a}	3.45^{a}	2.83	3.07	3.00	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Total sugar (mg/100g)	5.49	5.52	5.54	5.61	5.57	5.62	0.02	0.02	0.18	0.23
Lactic acid bacteria (cfu/g)	6.83	6.89	6.23	7.11^{f}	7.91^{e}	7.87^{e}	0.04	<0.01	<0.01	<0.01
Yeast (cfu/g)	6.70^{a}	6.22^{b}	6.08^{b}	5.41^{e}	5.17^{f}	5.07^{f}	0.03	<0.01	<0.01	0.20
Mold(cfu/g)	7.39^{a}	7.35^{ab}	7.03^{b}	7.43^{ef}	7.22^{fg}	7.09^{g}	0.03	0.30	<0.01	0.29
Acetic (%)	2.38^{c}	3.57^{b}	3.83^{a}	2.10^{f}	3.09^{e}	3.31^{e}	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
Lactic (%)	7.92^{a}	7.41^{b}	7.47^{b}	7.63	7.41	7.47	0.03	0.83	<0.01	0.38
WSC (g/kgDM)	92.40	92.51	92.11	82.05	81.73	81.52	0.51	<0.01	0.41	0.86
NH_3-N (g/kgDM)	0.90^{b}	1.16^{a}	1.08^{a}	1.43^{e}	1.17^{f}	1.16^{f}	0.01	<0.01	0.02	<0.01

$^{a-d}$ Mean for the fresh grass treatment are significantly difference (P<0.05) $^{e-h}$ Mean for the corn treatment are significantly difference (P<0.05)

SEM = Standard error of mean; A = Effect of roughage source; B = Effect of *L. buchneri* concentrations; A×B = Interaction of Roughage source and *L. buchneri* concentrations

6.5 สรุปผลการทดลอง

การใช้ *Lactobacillus buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืชในหมักพืชทั้ง 2 ชนิดต่ออายุการเก็บรักษาที่ 0, 30, 60 และ 90 วันสามารถเพิ่มคุณภาพของพืชหมักได้ โดยไม่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะของพืชหมัก และมีผลในการลดค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณ yeast, moldและ NH_3-N ในพืชหมักได้และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีอายุการหมัก 90 วัน นอกจากนี้การหมักพืชด้วย *Lactobacillus buchneri* สามารถเพิ่ม reducing sugar, total sugar, LAB, lactic acid และ acetic acid ได้และ สูงสุดเมื่อมีอายุการหมัก 90 วัน ดังนั้นการหมักพืชทั้งสองชนิดด้วย *Lactobacillus buchneri*ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช สามารถเก็บไว้เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยไม่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะและสามารถเพิ่มคุณภาพของพืชหมักได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 7
สรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้ *Lactobacillus buchneri* ในระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ชนิด และปริมาณของจุลินทรีย์ ของหญ้าเนเปียร์และข้าวโพดหมัก พบว่า ระดับของ *Lactobacillus buchneri* ที่เหมาะสมสำหรับพืชอาหารหยาบทั้งสองชนิดคือที่ระดับ $1x10^6$cfu/g มีผลให้มีระดับความเข้มข้นของ acetic acid ที่สูงขึ้น ปริมาณ yeast และ NH_3-N ลดต่ำลง และ ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ของ NDF ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใย และเมื่อเสริม *Lactobacillus buchneri* และ *Lactobacillus plantarum* และการเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* ที่ระดับ $1x10^6$cfu/g พบว่า ส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของ acetic acid แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเสริมด้วย *Lactobacillus buchneri* (LB) และ *Lactobacillus plantarum* (LP)แต่ให้ผลที่ดีกว่าการไม่เสริม อย่างไรก็ตาม การเสริม *Lactobacillus buchneri* ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* (LBP) มีผลต่อปริมาณ yeast และ Mold ที่ต่ำที่สุด ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของพืชหมักโดยจะเห็นได้ชัดในส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสียหายในพืชหมักลดลง

นอกจากนี้การใช้ *Lactobacillus buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืชหมักทั้ง 2 ชนิดไม่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะของพืชหมัก และมีผลในการลดค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณ yeast, mold และ NH_3-N ในพืชหมักได้และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีอายุการหมัก 90 วัน นอกจากนี้การหมักพืชด้วย *Lactobacillus buchneri* สามารถเพิ่ม reducing sugar, total sugar, LAB, lactic acid และ acetic acid ได้ และ สูงสุดเมื่อมีอายุการหมัก 90 วัน ดังนั้นการหมักพืชทั้ง 2 ชนิดด้วย *Lactobacillus buchneri* ระดับ $1x10^6$cfu/g ของน้ำหนักพืช สามารถเก็บไว้เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยไม่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะและคุณภาพของพืชหมัก

เอกสารอ้างอิง

สายัณห์ ทัดศรี. 2540. พืชอาหารสัตว์เขตร้อน การผลิตและการจัดการ. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Vol.1, 15th ed., Washington D.C.

Bal, M.A., J.G. Coors and R.D. Shaver. 1997. Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion, and milk production. J. Dairy Sci. 80: 2497-2503.

Borreani, G. and E. Tabacco. 2008. New oxygen barrier stretch film enhances quality of alfalfa wrapped silage. Agron. J. 100: 942-948

Chen, J., M. R. Stokes and C. R. Wallace. 1994. Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of hay crop and corn silages. J. Dairy Sci. 77: 501-512.

Comino, L., E. Tabacco, F. Righi, A. Revello-Chion, A. Quarantelli andG. Borreani. 2014. Effects of an inoculant containing a *Lactobacillus buchneri* that produces ferulate-esterase on fermentation products, aerobic stability, and fibre digestibility of maize silage harvested at different stages of maturity. Anim. Feed Sci. Technol. 198:94–106.

Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. J. Appl. Microbiol. 87:583–594.

Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. Grass Forage Sci. 56, 330-343.

Dubois, M., K. A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F.Smith. 1956. Colorimetric Method For Determination of Sugars and Related Substances. Anal.Chem. 28: 350-356.

Frame, N. D. 1994. Dry matter level effects on alfalfa silage quality 1. nitrogen transformations. Trans. ASAE. 30: 7-14.

Filya, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminaldegradability of low dry matter corn and sorghum silages. J.Dairy Sci. 86:3575–3581.

Filya. I. A. Karabulut andE. Sucu. 2002. The effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of maize silagein warm climate. In: Proceeding of the XIII International Silage Conference (Eds Gechie LM, Thomas C). Scottish Agricultural College. Auchineruive. Ayr. 192-193.

Frank , D., S. J. W. H. Oude Elferink and S. F. Spoelstra. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. J. Applied Microbiology. 87: 583.

Frank , D., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar. 2000. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* alone in mixture with *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus plantarum.* Available: www.precisievoeding.nl/documenten/poster 04-2000 driehuis.pdf.

Frank, D., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus Buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. Grass and Forage Sci. 56: 330-343.

Fraser, M. D., A. Winters, R. Fychan, D. R. Davies and R. Jones. 2001. The effect of harvest date and inoculation on the yield, fermentation characteristics and feeding value of Kale silage. Grass and forage Sci. 56: 151-161.

Goering. H. K. and P. J. Van Soet. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications) Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington.

Hoffman, P. C., and S. M. Ocker. 1997. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. J. Dairy Sci. 80(Suppl. 1):234. (Abstr.)

Hu, W., R.J. Schmidt, E.E. McDonell, C.M. Klingerman, and L. Kung, Jr. 2009. The effect of L*actobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. J. Dairy Sci. 92, 3907-3914.

Kang, T.W., A.T. Adesogan, S.C. Kim and S.S. Lee. 2009. Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. J. Dairy Sci. 92:732–738.

Kleinschmit, D. H., R. J. Schmidt, and L. Kung, Jr. 2005. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J. Dairy Sci. 88:2130-2139.

Kung, L., Jr., and N. K. Ranjit. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. J. Dairy Sci. 84:1149–1155.

Kung, L., Jr., C. C. Taylor, M. P. Lynch, and J. M. Neylon. 2003. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:336–343.

Kung, L., Jr., R. J. Schmidt, T. E. Ebling, and W. Hu. 2007. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on fermentation and aerobic stability of ground and whole high moisture corn. J. Dairy Sci. 90:2309-2314.

Mari. L. J., R. J. Schmidt, L. G. Nussio, C. M. Hallada, and L. Kung Jr. 2009. Short communication: An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to alter fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. J. Dairy Sci. 92:1174-1176.

McDonal, P. 1981. **The Biochemistry of Silage.** John Wiley and sons Ltd., New York.

McDonald, P., N. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. The Biochemistry of Silage. Second Edition. Chalcombe Publications, Bucks, England.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, Vol.31, No.3, p. 426-428, ISSN 0003-2700

Muck, R. 1996.Silage inoculation. in: Proceedings of the Conference with Dairy and Industries. Dairy Forage Research Center, Madison. 43–51.

Nsereko, V. L., B.K. Smiley, W.M. Rutherford, A. Spielbauer, K.J. Forrester and G.H. Hettinger. 2008. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. Anim. Feed Sci. Technol. 145(1–4), 122–135.

Oude Elferink, S. J. W. H., J. Krooneman, J. C. Gottschal, S. F. Spoelstra, F. Faber, and F. Driehuis. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Appl. Environ. Micro. 67:125–132.

Ranjit, N. K., and L. Kung, Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J. Dairy Sci. 83:526–535.

Reich, L. J. and L. Kung, Jr. 2010. Effects of combining *Lactobacillus buchneri*40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Anim. Feed Sci. Technol. 159:105-109.

SAS. 1998. User's Guide: Statistics. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Spoelstra, S.F., M.G. Courtin, and J.A.C. Van Beers. 1988. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. J. Agr. Sci. Camb., 111: 127-132.

Santos, P.B. F. Carvalho, C. L. S.Avila, G. S.Dias Junior, M.N. Pereira and R.F. Schwan. 2014. Glycerin as an additive for sugarcane silage. Annals Microb. 64:1-10.

Schmidt R. J., Hu, W., Mills, J. A., and L. Kung. Jr. 2009. The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Sci. 92: 5005-5010.

Steel, R.G.D. and Torrie J.H. 1980. Principles and Procedure of Statistics.New York:McGraw Hill Book Co.

Taylor, C. C., and L. Kung, Jr. 2002. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. J. Dairy Sci. 85:1526–1532.

Taylor, C. C., N. J. Ranjit, J. A. Mills, J. M. Neylon, and L. Kung, Jr. 2002. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. J. Dairy Sci. 85:1793–1800.

Wang, M., C. Yang, L. Jia, and K. Yu. 2014. Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation characteristics and aerobic stability of whip grass silage in laboratory silos. Japanese Society of Grassland Science. Grassland Science. 60: 233-239.

Weinberg, Z.G. G, R .E. Muck. and P. J. Weimer. 2003. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. J. Appl. Microb. 94: 1066–1071.

Weinberg, Z.G., O. Shatz, Y. Chen, E. Yosef, M. Nikbahat, D. Ben-Ghedalia, and J. Miron. 2007. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. J. Dairy Sci. 90:4754–4762.

Whitlock, L. A., T. J. Wistuba, M. K. Seifers, R. V. Pope, and K. K. Bolsen. 2000. Effect of level of surface-spoiled silage on the nutritive value of corn silage diets. J. Dairy Sci. 83(Suppl. 1):110. (Abstr.)

Woolford, M. K. 1990. The detrimental effects of air on silage. J. Appl. Bacteriol. 68:101–116.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ส่วนที่ 2. ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์
2. **หมายเลขบัตรประชาชน:** 3 3014 01335 49 9
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**
   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 0-4422-4160 E- mail: pipat@sut.ac.th

5. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา/ ปี	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2541	ไทย
ป. โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2544	ไทย
ป. เอก	วท.ด. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2548	ไทย

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**
   1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
   2. โภชนศาสตร์โคนม - โคเนื้อ
   3. การจัดการโคนม - โคเนื้อ
7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**
   a. **หัวหน้าโครงการ:**

1. โครงการ “การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก” ระยะเวลา กันยายน 2549 – สิงหาคม 2550 แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มทส.
2. การศึกษาการนำเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในการผลิตอาหารหยาบหมัก สำหรับโคนมต่อปริมาณน้ำนม องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม ระยะเวลา พฤษภาคม 2551 – เมษายน 2553 แหล่งทุน สกว.
3. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมต่อปริมาณน้ำนม, องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 แหล่งทุน วช.
4. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากปอเทืองในอาหารโคเนื้อ” ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 แหล่งทุน วช.
5. โครงการ “การศึกษาการใช้ *Lactobacillus buchneri* ต่อกระบวนการหมักของพืชหมัก” ระยะเวลา ตุลาคม 2554 – กันยายน 2555 แหล่งทุน วช.

6. โครงการ “การคัดกรองสารสกัดจากสมุนไพรไทยต่อกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องในห้องปฏิบัติการ” ระยะเวลา ตุลาคม 2554 – กันยายน 2555 แหล่งทุน วช.
7. โครงการ “ผลของอาหารหยาบคุณภาพดีต่อคุณภาพเนื้อและสัดส่วนของกรดไขมันในเนื้อโค” ระยะเวลา ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 แหล่งทุน วช.

b. ผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ “ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่ กระทงและไข่” ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
2. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
3. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ “การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ “การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

c. งานตีพิมพ์ :

รายชื่อรายงานผลการวิจัยและเอกสารวิชาการ

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการ

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนมของโคนม. ในเอกสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 5: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, คู่ขวัญ จุลละนันทน์ และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ Conjugated linoleic acid ในน้ำนมโค. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปิตุนาถ หนูเสน และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลการใช้กากมันสำปะหลังต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2006. The Effect of feeding rumen-protected fat on dairy cow performance. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Lounglawan, P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, China.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.

Phakachoed, N., P. Lounglawan, N. Puanpan, and W. Suksombat. 2010. Aflatoxin Adsorption Ability by Yeasts and Yeast Products. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Klangnork, P., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat. 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Addition to Concentrate on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Homkhao, J., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Supplementation on Fermentation and Microbial Population of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Suksombat, W., P. Lounglawan, and P. Paengsai. 2010. Effects of Biotin Supplementation on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Lounglawan, P., M. Khungaew, W. Lounglawan, and W. Suksombat. 2010. Utilization of Cassava Peel as Energy Source of Silage. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Sornwongkaew, Y., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2011. Effect of using dried cassava peel as energy source of concentrate on milk yield and milk quality in dairy cows. 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. Nakhon Ratchasima, Thailand

Lounglawan, P., Sornwongkaew, Y., Lounglawan, W. and Suksombat, W. (2012).Energy Evaluation and Utilization of Cassava Peel for Lactating Dairy Cows. ICABBBE 2012: International Conference on Agricultural, Food and Animal Sciences, Tokyo, Japan

Homkhao, J., Lounglawan, P., Wanapu, C., and Suksombat, W. (2012). Nutritive value of fungi and yeast fermented cassava product. The 1st International Conference on Animal Production and Environment. Can Tho city, Viet Nam.

Mirattanaphrai, R., Homkhao, J., Lounglawan, P. and Suksombat, W. (2012). Performance of lactating cows in response to linseed oil supplementation. The 1st International Conference on Animal Production and Environment. Can Tho city, Viet Nam.

Sumalu, K., Lounglawan, P. and Suksombat, W. (2012). Effect of cutting height and cutting age on production and nutritive value of sunnhemp (Crotalaria juncea). The 1st International Conference on Animal Production and Environment. Can Tho city, Viet Nam.

Jaijapo, W., Lounglawan, P. and Suksombat, W., (2012). Effects of Feeding Fermented Cassava Pulp on Performance of Lactating Dairy Cows. The 1st International Conference on Animal Production and Environment. Can Tho city, Viet Nam.

Noosen, P., Lounglawan, P. and Suksombat, W. (2012). Effect of Linseed Oil Supplementation on Performance of Lactating Dairy Cows. The 1st International Conference on Animal Production and Environment. Can Tho city, Viet Nam.

Lounglawan, P., Lounglawan, W. and Suksombat, W. (2013). Effect of Cutting Interval and Cutting Height on Yield and Chemical Composition of King Napier grass (*Pennisetum purpureum x Pennisetum americanum*). 2013 3rd International Conference on Asia Agriculture and Animal (ICAAA 2013). Moscow, Russia.

Lounglawan, P., Nanon, A. and Suksombat, W. (2014). Use of Cinnamon oil for manipulation of rumen microbial fermentation using Batch culture. International Conference on Life Science & Biological Engineering, Hokkaido. Japan.

Lounglawan, P., Nanon, A. and Suksombat, W. (2015). Effects of Garlic Oil on Rumen Microbial Fermentation using Batch Culture. International Conference on Agricultural & Biological Science, Beijing. China.

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

พิทักษ์พงษ์ แพงสาย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ และพิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์. 2553. ผลของการเสริมไบโอตินในอาหารโคนมระยะแรกของการให้นมต่อผลผลิตและ องค์ประกอบของน้ำนม. วารสารวิชาการ ม.อบ. 12 (3): 86-91.

เมฆ ขวัญแก้ว, พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ และวิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2553. การใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลัง เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารหยาบหมัก. วารสารวิชาการ ม.อบ. 12 (3): 92-103.

Suksombat, W. and P. Lounglawan. 2004. Silage from agricultural by-products in Thailand: processing and storage. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 17(4):473-478.

Lounglawan, P. 2006. The effect of soybean oil or sunflower oil supplementation on dairy cow performance and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. Suranaree J. Sci. Technol. 13(3):235-243.

Suksombat, W., S. Samitayotin and P. Lounglawan. 2006. Effect of conjugated linoleic acid (CLA) supplementation in layer diets on fatty acid compositions of egg yolk and layer performances. Poult. Sci. 85:1603-1609.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2007. The Effect of ruminal bypass fat on milk yields and milk composition of lactating dairy cow. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):109-117.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2007. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):99-107.

Suksombat, W., T. Boonmee and P. Lounglawan. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Fatty Acid Content and Carcass Composition of Broilers. Poult. Sci. 86:318-324.

Suksomabat, W., P. Lounglawan and C. Yowa. 2008. Effects of Conjugated Linoleic Acid (CLA) Supplementation on Performances, Carcass Quality and Fatty Acid Composition in Meat of Finishing Pigs. Suranaree J. Sci. Technol. 15(3):249-260.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008**.** The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows. Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36

Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168.

Lounglawan, P, and W., Suksombat. 2010. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(7):868-674.

Lounglawan, P., M. Khungaew, and W. Suksombat. 2011. Silage production from cassava peel and cassava pulp as energy source in cattle diets. J. Anim. Vet. Adv. 10(9):1007-1011.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai, 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.

Lounglawan, P., W. Lounglawan, and W. Suksombat. 2011. Effects of Feeding Glycerol to Lactating Dairy Cows on Milk Production and Composition. World Academy of Science, Engineering and Technology 80:481-483.

Klangnok, P., Lounglawan, P. and Suksombat, W. 2011. Effects of Met Hydroxy Analog Supplementation of Dairy Cow's Diets on Milk . Suranaree J. Sci. Technol. 18(2):99-108.

Phakachoed, N., Lounglawan, P., Suksombat, W. (2012). Effects of xylanase supplementation on ruminal digestibility in fistulated non-lactating dairy cows fed rice straw. Livestock Science. 149 (1-2), pp. 104-108.

Lounglawan, P., Lounglawan, W. and Suksombat, W. (2013). Effect of Cutting Interval and Cutting Height on Yield and Chemical Composition of King Napier grass (Pennisetum purpureum x Pennisetum americanum). APCBEE Procedia 8 (2014) 27 – 31.

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

2. รหัสประจำตัวประชาชน: 3-1911-00164-31-0

3. ตำแหน่งปัจจุบัน: รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 0-4422-4378 E- mail: wisitpor@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เกษตรศาสตร์	สัตวบาล	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
ป. โท	M.Agr.Sc. Master of Agricultural Science	Animal Science	Dairy Production	Massey Univ.	NZ
ป. เอก	Ph.D. Doctor of Philosophy	Animal Science	Dairy Production And Nutrition	Massey Univ.	NZ

6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
2. การจัดการโคนม
3. การจัดการโรงงานอาหารสัตว์ (โคนม)
4. การผลิตพืชอาหารสัตว์

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

a. สถานภาพหัวหน้าโครงการ :

1. โครงการ “ผลการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตของโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม2541 – กันยายน 2543 งบประมาณ 425,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

2. โครงการ “การศึกษากรรมวิธีการผลิตอาหารหยาบหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2542 – กันยายน 2544 งบประมาณ 350,000 บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

3. โครงการ “การนำใช้ประโยชน์ต้นอ้อยเป็นอาหารสำหรับโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2543 – กันยายน 2546 งบประมาณ 749,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

4. โครงการ “การศึกษาผลผลิตของถั่วไมยราและการใช้ถั่วไมยราเป็นอาหารไก่ไข่ ระยะเวลา ตุลาคม 2544 – กันยายน 2546 งบประมาณ 436,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

5. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

6. โครงการ “ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่ กระทงและไข่” ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 งบประมาณ 700,000 บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

7. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคและผลิตภัณฑ์นม แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

8. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในผลิตภัณฑ์สัตว์ (ผู้อำนวยการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

9. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 งบประมาณ 900,000.- บาท แหล่งทุนสภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

10. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 งบประมาณ 1,000,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

11. โครงการ “การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 1,500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

12. โครงการ “การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

13. โครงการ “การศึกษาการเสริมโคลีนและไบโอตินต่อผลผลิตโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

14. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโค และผลต่อผลผลิตโคนม โดยใช้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชในท้องถิ่น” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2552 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

15. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากเปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมและสุกรขุน” ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

16. โครงการ “การปรับปรุงการใช้ประโยชน์ได้ทางโภชนะของอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยการเสริมเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส หรือส่วนผสมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด” ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2555 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

17. โครงการ “การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลังโดยใช้จุลินทรีย์” ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2554 งบประมาณ 300,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

b. งานตีพิมพ์ และงานนำเสนอผลงานประชุมวิชาการ

Suksombat, W., Holmes, C. W. and Wilson, G. F. 1994. Effects of herbage allowance and a highprotein supplement on performance of dairy cows grazing autumn-winter pasture. Proc.NZ. Soc. Anim. Prod. 54:83-86.

Suksombat, W. 1995. Growth rate of calves fed different types of calf milk replacer. Suranaree J.Technol. 2(3):157-160.

Suksombat, W. 1996. The effect of four different roughage-mixed on dairy cow performances in late lactation. Suranaree J. Technol. 3(3):139-145.

Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. I. Initial growth. Suranaree J. Technol. 4(1):23-28.

Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. II. First regrowth. Suranaree J. Technol. 4(2):109-114.

Suksombat, W. 1998. The effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during rainy season. Suranaree J. Technol. 5(2):80-87.

Suksombat, W. 1998. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cowperformances in mid lactation during rainy season. Thai J. Agric. Sci. 31(2):224-234.

Suksombat, W. 1999. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 5:150-157.

Suksombat, W. 2000. Effect of feeding fresh forage and 3 pelleted roughage-mixed rations on dairy cow performances in mid lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 7(2):130-136.

Suksombat, W. 2000. Performances of lactating cows fed 3 different total mixed rations. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.

Suksombat, W. 2004. Comparison of different alkali treatment of bagasse and rice straw. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(10):1430-1433.

Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Effect of Cutting Interval and Cutting Height on Yield and Chemical Composition of Hedge Lucerne (*Desmanthus virgatus*). Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 19(1):31-34.

Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Utilization of hedge lucerne (*Desmanthus* virgatus) meal as protein supplement in layer diets. Suranaree J. Technol. 13(2):181-187.

Suksombat, W. and Janpanichcharoen, P. 2005. Feeding of sugar cane silage to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(8):1125-1129.

Suksombat, W. and Karnchanatawee, S. 2005. Effect of various sources and levels of chromium on performances of broilers. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(11):1628-1633.

Suksombat, W. and Lounglawan, P. 2004. Silage from agricultural by-products for dairy cattle in Thailand: processing and storage. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(4):473-478.

Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy and protein evaluation of five feedstuffs and utilization of cassava pulp as energy source for lactating dairy cows. Suranaree J. Technol. 14(1): 99-107.

Suksombat, W. and Mernkrathoke, P. 2005. Feeding of whole sugar cane to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(3):345-349.

Suksombat, W., and Srangarm, D. 1998. Effect of intraruminal monensin capsule on dairy cow performances in early lactation. Thai J. Agric. Sci. 31(3):402-410.

Suksomabat, W., Samitayothin, S., and Lounglawan, P. 2006. Effects of Conjugated Linoleic Acid Supplementation in Layer Diet upon Fatty Acid Compositions of Egg Yolk and Layer Performance. Poult. Sci. 85(9):1603-1609.

Suksomabat, W., Boonmee, T., and Lounglawan, P. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Performance of Broilers. Poult. Sci. 86: (2):318-324.

Suksomabat, W., Lounglawan, P., and Yowa, C. 2008. Effects of conjugated linoleic Acid (CLA) supplementation on performances, carcass quality and fatty acid composition in meat of finishing pigs Suranaree J. Technol. 15(3): 249-260.

Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of ruminal bypass fat on milk yield, composition and milk fatty acid of lactating dairy cows**.** Suranaree J. Technol. 14(1): 109-117.

Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of feeding rumenprotected fat on dairy cow performance. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress 2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for dairy cows. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress 2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

Lounglawan, P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, China.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.

Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or rumen protected conjugated linoleic acid supplementation on accumulation of conjugated linoleic acid in dairy cows'milk. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(9): 1271-1277.

Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or whole cotton seed addition on accumulation of conjugated linoleic acid in beef of fattening Brahman x Thai-Native cattle. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(10): 1458-1465.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows**.** Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36

Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168

Suksombat, W., Lounglawan, P. and Paengsai, P.. 2010. Effects of biotin supplementation on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Klangnork, P., Lounglawan, P., Khungaew, M., Paengsai, P. and Suksombat, W. 2010. Effects of amla leaves and branches addition to concentrate on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Homkhao, J., Lounglawan, P., Khungaew, M., Paengsai, P. and Suksombat, W. 2010. Effects of amla leaves and branches supplementation on fermentation and microbial population of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Nanon, A., Klangnork, P., Homkhao, J. and Suksombat, W. 2010. The effects of feeding Met hydroxy analog plus MINTREX® Dairy on performance of lactatingdairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Phakachoed, N., Lounglawan, P., Puanpan, N., and Suksombat, W. 2010. Aflatoxin adsorption ability by yeasts and yeast products. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Lounglawan, P., khungaew, M. and Suksombat, W. 2010. Utilization of cassava peel as energy source of silage. 14th AAAP Animal Science Congress, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai. 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.

Suksombat, W., A. Nanon, P. Klangnork and J. Homkhao. 2011. Effects of Met hydroxy analog plus MINTREX Dairy supplementation on performance of lactating dairy cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(21):2814-2818.

Suksombat, W., R. Mirattanaphrai and P. Paengsai. 2011. Performance of lactating dairy cows in response to supplementation of rumen-protected choline. J. Anim. Vet. Adv. 10(24): 3321- 3327.

Suksombat, W., C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2013. Milk Production, Milk Composition, Live Weight Change and Milk Fatty Acid Composition in Lactating Dairy Cows in Response to Whole Linseed Supplementation. Asian-Aust. J. Anim. Sci.

Phakachoed, N., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2012. Effects of xylanase supplementation on ruminal digestibility in fistulated non-lactating dairy cows fed rice straw. Livest. Sci. 149: 104-108.