การใช้แบคทีเรียกรดแลคติคในน้ำพืชหมักเป็นเชื้อตั้งต้นในอาหารผสมครบส่วนหมัก

Application of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria as a starter culture in fermented total mixed ration (FTMR)

เสมอใจ บุรีนอก[1*], เฉลิมพล เยื้องกลาง[1], ไกรสิทธิ วสุเพ็ญ[1], ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส[1], คำสอน สีสะอาด[1] และ Yasuhiro Kawamoto[2]

Smerjai Bureenok[1*], Chalermpon Yuangklang[1], Kraisit Vasupen[1], Sasiphan Wongsuthavas[1], Khamsone Sisaath[1] and Yasuhiro Kawamoto[2]

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนะของอาหารผสมครบส่วนหมักที่เสริมด้วยแบคทีเรียกรดแลคติคที่มีในน้ำพืชหมักที่ระดับต่างๆ โดยอาหารผสมครบส่วนเตรียมได้จากฟางข้าวบด มันเส้น ถั่วหลืองป่น เมล็ดฝ้าย กากมะเขือเทศ กากเบียร์ กากน้ำตาล ยูเรีย และแหล่งของแร่ธาตุ-ไวตามิน ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ 20.35:40.79:7.24:10.0:5.04:5.04:7.33:1.37:2.84 ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ ปรับความชื้นของอาหารผสมครบส่วนด้วยน้ำที่ระดับร้อยละ 45 ทำอาหารผสมครบส่วนหมักโดยใช้น้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0 (ไม่เสริม) 0.1, 0.25 และ 0.5 (w/w) ของน้ำหนักสดอาหารผสมครบส่วน ทำการเปิดอาหารผสมครบส่วนหมักในวันที่ 1, 3, 5, 7, 14 และ 25 ของการหมัก ตามลำดับ เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี จากการศึกษาพบว่าอาหารผสมครบส่วนหมักที่ใช้น้ำพืชหมักเป็นสารเสริมมีคุณภาพการหมักที่ดี โดยมีค่า pH และปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ต่ำ และมีปริมาณกรดแลคติคสูง การเพิ่มระดับของน้ำพืชหมักมีผลทำให้ปริมาณ NH_3-N ต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 25 ของการหมักไม่พบกรดบิวทีริคในอาหารผสมครบส่วนหมักทุกชนิด ปริมาณวัตถุแห้งและโปรตีนในอาหารผสมครบส่วนหมักที่เสริมด้วยน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.25 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริม ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าเหล่านี้ในกลุ่มที่ใช้สารเสริมด้วยกัน จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเติมน้ำพืชหมักเป็นสารเสริมในการทำอาหารผสมครบส่วนอย่างน้อยร้อยละ 0.25 สามารถปรับปรุงคุณภาพการหมักและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารผสมครบส่วนหมักได้

คำสำคัญ: น้ำพืชหมัก, แบคทีเรียกรดแลคติค, อาหารผสมครบส่วนหมัก, คุณภาพการหมัก

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the fermentation quality and nutritive value of fermented total mixed ration (FTMR) treated with various level of the fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria (FJLB). The TMR was prepared using ground rice straw, cassava chips, soybean meal, cotton seeds, tomato pomace, dried brewers grains, molasses, urea and vitamin-mineral supplement in ratio of 20.35:40.79:7.24:10.0:5.04:5.04:7.33:

[1] คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร อ.พังโคน จ.สกลนคร 47160
Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Pungkon, Sakon Nakhon 47160

[2] Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus, Senbaru 1, Nishihara-cho, Okinawa, 903-0213 Japan

[*] Corresponding author: asmerjai@hotmail.com

1.37:2.84, respectively, on a dry matter basis. The moisture of all TMR was adjusted with water to 45%. The TMR was treated with the FJLB at 0, 0.1, 0.25 and 0.5% (w/w) of fresh TMR. The FTMR were opened after 1, 3, 5, 7, 14 and 25 days, respectively, after ensiling for the chemical analysis. All treated FTMR were well preserved, which a low pH and ammonia-nitrogen (NH_3-N) content and a high lactic acid content. Increasing level of FJLB addition in the FTMR resulted in significantly lower NH_3-N/TN content ($P<0.05$). Butyric acid content of all FTMR was not detected at 25d of ensiling. The dry matter and crude protein contents of FTMR treated with 0.25%FJLB were higher ($P<0.05$) than the untreated FTMR. However, these contents of all treated FTMR were similar. These studies suggested that the fermentation quality and chemical compositions of FTMR were improved by applying the FJLB as an additive at least 0.25% (w/w).
Keywords: fermented juice, lactic acid bacteria, total mixed ration silage, fermentation quality

บทนำ

อาหารผสมครบส่วน (total mixed ration, TMR) เป็นการนำเอาอาหารข้นและอาหารหยาบมาผสมเข้าด้วยกันในปริมาณและสัดส่วนที่ได้คำนวณคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมและนำไปเลี้ยงโคนม โคเนื้อ เพื่อลดปัญหาการจัดการและการเลือกกินอาหารข้นของสัตว์ แต่การผสมอาหารหยาบกับอาหารข้นให้เข้ากันค่อนข้างมีปัญหาในการแยกตัวของอาหารหยาบและอาหารข้น โดยเฉพาะการนำฟางข้าวมาเป็นแหล่งอาหารหยาบ การผสมกับอาหารข้นต้องนำมาสับให้ละเอียดก่อน ทำให้มีลักษณะเป็นฝุ่นผง ดังนั้นในการผสมจึงจำเป็นต้องใช้น้ำเป็นตัวเชื่อมเพื่อให้อาหารสามารถผสมเข้ากันได้ดียิ่งขึ้น แต่จากสภาพอากาศร้อนชื้นของไทย ทำให้อาหารที่ทำขึ้นเน่าเสียง่าย ทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน ในต่างประเทศการทำอาหารผสมครบส่วน จะใช้หญ้าหมักผสมกับอาหารข้น ซึ่งพบว่าทำให้อาหารข้นมีสภาพคงทนต่อการเน่าเสียจากกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ และปรับปรุงพลังงานและการใช้โปรตีนของกระเพาะรูเมน (Coppock et al., 1981; Fyksen, 2007) แต่ยังไม่มีรายงานการทำอาหารผสมครบส่วนหมักโดยตรง นอกจากจะเป็นการเก็บรักษาหรือปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบเหลือใช้จากอุตสาหกรรมที่มีความชื้นสูง แต่ยังมีคุณค่าทางโภชนะอยู่ เพื่อนำมาเป็นอาหารสัตว์ โดยนำมาหมักร่วมกับอาหารข้นชนิดอื่น (Xu et al., 2004; Wang and Nishino, 2008) จากการศึกษาของ Xu et al. (2007) ที่ศึกษาคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนะของอาหารผสมครบส่วนหมักที่ส่วนผสมกากกาแฟบด โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* Chikuso-1 เป็นเชื้อตั้งต้น พบว่าอาหารหมักที่ได้มีคุณภาพการหมักที่ดี จากรายงานของ Yuangklang et al. (2004) ศึกษาเปรียบเทียบอาหารผสมครบส่วนและอาหารผสมครบส่วนหมักในโคนมเพศผู้เจาะกระเพาะ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะในโคที่ได้รับอาหารผสมครบส่วนหมักมีค่าสูงกว่าในโคที่ได้รับอาหารผสมครบส่วน นอกจากนี้ ไกรสิทธิและคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาโดยการนำอาหารผสมครบส่วนมาหมักในถัง พบว่าอาหารหมักที่ได้มีความน่ากินและเมื่อนำไปใช้กับโคนมเพศผู้เจาะกระเพาะพบว่า ค่าการย่อยได้หรือความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในโคนมที่ได้รับอาหารผสมครบส่วนหมักมีค่าสูงกว่าโคนมที่ได้รับอาหารผสมครบส่วนแบบที่ให้ปกติ แต่การทำอาหารผสมครบส่วนหมัก ยังมีปัญหาในเรื่องการเกิดเชื้อราในถังหมัก ซึ่งเชื้อราที่เกิดขึ้นทำให้เกิดการสูญเสียด้านคุณค่าทางโภชนะ และเมื่อนำไปเลี้ยงสัตว์อาจมีผลต่อสุขภาพสัตว์ด้วย เป็นที่ทราบกันดีว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคเข้าสู่กระบวนการหมัก จะทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้อาหารหมักเป็นกรดเร็วขึ้น ลดการเกิดของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการได้ และลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนะระหว่างการหมัก แต่การใช้แบคทีเรียกรดแลคติคเป็นสารเสริมมีราคาแพง และมีขั้นตอนการนำไปใช้ที่ยุ่งยาก ด้วยเหตุนี้การใช้เทคโนโลยีการเติมเชื้อเพื่อเป็นเชื้อ

เริ่มต้นในกระบวนการหมักจึงไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการทำน้ำพืชหมักของพืชอาหารสัตว์ที่มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติคเป็นส่วนใหญ่มาใช้เป็นสารเสริมในกระบวนการหมัก แนวคิดในการทำน้ำพืชหมักคือการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติคที่มีในพืชสดเอง โดยการปั่นพืชสดผสมน้ำและกรองด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำพืชปั่นไปเติมน้ำตาลและบ่มที่อุณหภูมิ 32 °ซ เป็นเวลาสองวัน (Ohshima et al., 1996; 1997) หลังจากการบ่มพบว่าปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติคเพิ่มขึ้นจาก 10^5 เป็น 10^{8-9} cfu/ml เนื่องจากน้ำพืชหมักประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติคหลากหลายชนิดและมีจำนวนมาก ดังนั้นการเติมในกระบวนการหมัก จึงทำให้เกิดการความเป็นกรดและ ค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็ว (Masuko et al., 2002; Bureenok et al.,2005; 2006) และจากการศึกษาของ Bureenok et al. (2004) พบว่าการเติมน้ำพืชหมักในอาหารผสมครบส่วนหมักสำหรับสุกร ทำให้อาหารหมักที่ได้มีค่า pH ต่ำ แต่มีปริมาณของกรดแลคติคสูงและไม่พบการเกิดเชื้อรา และพบว่าปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงการใช้น้ำพืชหมักเป็นเชื้อตั้งต้นในกระบวนการหมักอาหารผสมครบส่วนหมัก เพื่อปรับปรุงคุณภาพการหมักและลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนะจากกระบวนการหมัก

วิธีการศึกษา

การเตรียมน้ำพืชหมักจากหญ้าเนเปียร์

ก่อนการทำอาหารผสมครบส่วนหมัก 2 วัน นำหญ้าเนเปียร์สด 200 กรัมมาสับให้ละเอียด เติมน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 1 ลิตร (Bureenok et al., 2006) ปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ กรองสารละลายที่ได้ด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เก็บสารละลายที่ได้ในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปเติมน้ำตาลกลูโคส ร้อยละ 2 (w/v) ปิดขวดให้สนิท นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 2 วัน

การทำอาหารผสมครบส่วนหมัก

โดยอาหารผสมครบส่วนเตรียมได้จากฟางข้าวบด (บดผ่านตะแกรงขนาด 1 ซม.) มันเส้น ถั่วเหลืองป่นเมล็ดฝ้าย กากมะเขือเทศ กากเบียร์ กากน้ำตาล ยูเรีย และแหล่งของแร่ธาตุ - ไวตามิน ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ 20.35:40.79:7.24:10.0:5.04:5.04:7.33:1.37:2.84 ของวัตถุแห้ง ตามลำดับ นำวัตถุดิบของอาหารผสมครบส่วนมาผสมกัน ปรับระดับความชื้นของอาหารผสมครบส่วนทั้งหมดด้วยน้ำให้ได้ความชื้นที่ร้อยละ 45 และทำการหมักโดยใช้สารเสริมดังต่อไปนี้

1. แบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0 (w/w) (ไม่ใช้สารเสริม)
2. แบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.10 (w/w)
3. แบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.25 (w/w)
4. แบคทีเรียกรดแลคติคจากน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.5 (w/w)

ทำอาหารผสมครบส่วนหมัก โดยใช้สารเสริมแต่ละชนิดๆ ละสามซ้ำ ทำในถังพลาสติกขนาด 30 กก. อัดให้แน่นและปิดฝาให้สนิท เก็บถังอาหารครบส่วนหมักไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 28-30°ซ เก็บตัวอย่างที่ใช้ทำอาหารผสมครบส่วนหมัก เพื่อวัดคุณค่าทางโภชนะเบื้องต้น และนำตัวอย่างน้ำพืชหมักที่ใช้เป็นสารเสริมไปนับปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติค (Kozaki et al., 1992)

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ทางเคมี

1. สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารผสมครบส่วนหมักที่เวลา 1, 3, 5, 7, 14 และ 25 วันของการหมัก

2. นำอาหารผสมครบส่วนหมัก 20 กรัม ผสมน้ำกลั่น 70 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 (Whatman, England) และนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH/Temperature meter (Lab 860, Schott) หาปริมาณกรดแลคติคและกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย ได้แก่ acetic acid (AA), propionic acid (PA), butyric acid (BA) โดยใช้เครื่อง HPLC (Aminex® HPX-87H, 300 mm x 7.8 mm i.d; column temperature, 40 °C; flow rate, 0.60ml/min, Shimazu Co., Ltd., Kyoto, Japan) และวิเคราะห์หาค่าแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) โดยวิธี steam distillation technique (Japan Grassland Farming Forage Seed Association, 1994)

3. ตรวจนับปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติคที่พบในน้ำพืชหมักและอาหารผสมครบส่วนหมักตามวิธีของ Kozaki et al.(1992) โดยการนับจำนวนโคโลนีที่สามารถมองเห็น (colony forming unit, cfu)

4. นำตัวอย่างอาหารผสมครบส่วนหมักที่อายุการหมักที่ 25 วัน ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดผ่านตะแกรงขนาด 1 มล. นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนะ ได้แก่ วัตถุแห้ง, เถ้าและโปรตีนหยาบ ตามวิธีการของ AOAC (2000) วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) และลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ แผนงานทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1985) วิเคราะห์ Orthogonal polynomial เพื่อหาแนวโน้มที่เกิดจากการเพิ่มระดับของสารเสริมน้ำพืชหมัก และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสารเสริมแต่ละชนิดโดยวิธี Duncan's new multiple range test (Steel and Torrie, 1980)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

คุณภาพการหมักของอาหารผสมครบส่วนหมัก

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารผสมครบส่วนก่อนการหมักและคุณสมบัติของน้ำพืชหมักก่อนใช้เป็นสารเสริม แสดงดัง **Table 1** ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติคที่เติมในกระบวนการหมักควรมีมากกว่าในวัตถุดิบที่ต้องการหมัก เพื่อให้เชื้อที่เติมสามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อที่มีอยู่ได้ (Pitt, 1990) จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติคที่มีในน้ำพืชหมักที่ทำจากหญ้าเนเปียร์ก่อนใช้เป็นสารเสริมในการทดลองครั้งนี้ พบว่ามีปริมาณ 7.11 log_{10} cfu/ml ซึ่งเป็นจำนวนที่เพียงพอต่อการควบคุมการเกิดกระบวนการหมัก เนื่องจากอาหารผสมครบส่วนที่นำมาหมักอยู่ในสภาพอาหารแห้ง จึงน่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบน้อย ทำให้แบคทีเรียกรดแลคติคที่เติมลงไป สามารถเจริญเติบโตได้เร็วและเป็นกลุ่มหลักในการทำให้เกิดกระบวนการหมัก ในวันแรกของกระบวนการหมักพบว่าอาหารหมักที่เสริมด้วยน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.25 และ 0.5 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติคประมาณ 8.47 log_{10} cfu/ กรัม (**Figure 1a**) และพบว่ามีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติคในอาหารผสมครบส่วนหมักสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริมน้ำพืชหมัก ($P<0.05$) แต่หลังจากวันที่ 3 ของการหมักพบว่า จำนวนแบคทีเรียกรด แลคติคมีแนวโน้มลดจำนวนลงเรื่อยๆ และมีประมาณ 3.6 log10 cfu/กรัม ในวันสุดท้ายของการหมัก โดยจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติคไม่มีความแตกต่างกันในอาหารหมักทุกชนิด การเติมน้ำพืชหมักในกระบวนการหมักทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติค

Table 1 Chemical composition of total mixed ration (TMR) and the counts of lactic acid bacteria in the fermented juice of lactic acid bacteria (FJLB) prior to ensiling.[1]

Item	TMR
Crude protein (% DM)	18.00±1.74
Neutral detergent fiber (% DM)	32.69±0.89
Acid detergent fiber (% DM)	23.55±1.28
Acid detergent lignin (% DM)	7.67±0.41
Ash (% DM)	6.30±0.14
Fermented juice of lactic acid bacteria (FJLB)	
pH	3.67
Lactic acid bacteria (log_{10} cfu/ml)	7.11

[1] Mean values of triplicate analysis.

ในวันแรกเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่เติม การใช้แบคทีเรียกรดแลคติคในกระบวนการหมักมักนิยมใช้ในรูปแบบผงแห้งและของเหลว แต่การเติมแบคทีเรียกรดแลคติคในวัตถุดิบที่มีความชื้นต่ำ การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติคจะถูกยับยั้งเนื่องจากขาดความชื้นในกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งการเติมเชื้อในรูปของเหลวอย่างน้ำพืชหมัก จะทำให้แบคทีเรียมีความชื้นเพื่อการเจริญเติบโต จากการรายงานของ Whiter and Kung (2001) พบว่าการเติมเชื้อในรูปแบบของเหลวในอัลฟัลฟ่าที่ทำให้เหี่ยวก่อนหมัก ซึ่งมีปริมาณวัตถุแห้ง 550 กรัม/กก. มีประสิทธิภาพมากกว่าการเติมเชื้อแบบผงแห้ง นอกจากนั้นการนำเชื้อไปเพาะเลี้ยงในน้ำและอาหารประมาณ 12-24 ชั่วโมง ก่อนนำไปเติมในกระบวนการหมัก จะทำให้อัตราการเกิดกระบวนการหมักเร็วกว่า เนื่องจากเชื้อที่เติมใช้เวลาในการปรับตัวในอาหารใหม่ (lag time) สั้นกว่าการเติมในรูปแบบผง (Merry et al., 1995) ซึ่งการเตรียมแบคทีเรียกรดแลคติคในน้ำพืชหมัก โดยการเติมน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารเชื้อจะถูกกระตุ้นและเพิ่มจำนวนมากขึ้น เมื่อนำไปเติมในกระบวนการหมักในรูปแบบของเหลวที่มีอาหารเหลืออยู่ จะทำให้เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตในแหล่งอาหารใหม่ได้เร็วขึ้น โดยเฉพาะในอาหารผสมครบส่วนหมักที่มีความชื้นต่ำ ขณะที่ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติคมีแนวโน้มลดลงหลังจากสัปดาห์แรกของการหมัก แสดงให้เห็นว่ากระบวนการหมักเข้าสู่สภาวะคงที่อย่างรวดเร็ว เนื่องจากสามารถผลิตกรดแลคติคที่มีปริมาณเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นรวมถึงแบคทีเรียกรดแลคติคเองด้วย ซึ่งการเกิดกระบวนการหมักที่รวดเร็วทำให้เหลือสารอาหารหรือโภชนะที่มีประโยชน์ต่อสัตว์สูงกว่า (McDonald et al.,1991)

หลังจากการหมักวันแรก พบว่าระดับของ pH ในอาหารหมักที่ใช้น้ำพืชหมักเป็นสารเสริมทุกระดับลดลงอย่างรวดเร็ว (**Figure 1b**) ส่วนกลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริมมีค่า pH สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ในทุกช่วงของการหมัก โดยมีค่า pH ที่สูงกว่าอาหารผสมครบส่วนหมักชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในช่วงสุดท้ายของการหมักพบว่าค่า pH ของอาหารผสมครบส่วนหมักที่ใช้สารเสริมน้ำพืชหมักที่ระดับต่างๆ มีค่าต่ำกว่าอาหารผสมครบส่วนหมักที่ไม่ใช้สารเสริม ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ใช้สารเสริมน้ำพืชหมักระดับต่างๆ ($P>0.05$) การเติมน้ำพืชหมักทำให้อัตราการเกิดกระบวนการหมักในอาหารเร็วขึ้น เนื่องจากในอาหารผสมครบส่วนหมักมีกากน้ำตาลเป็นส่วนผสมอยู่ ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับแบคทีเรีย

กรดแลคติค เพื่อผลิตกรดแลคติค ทำให้ค่า pH ของกระบวนการหมักลดลงและคงที่อย่างรวดเร็วภายในสัปดาห์แรก อย่างไรก็ตามอาหารหมักที่ได้มีค่า pH ที่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานหญ้าหมักที่ดี (pH < 4.2) ซึ่งอาจจะเกิดจากยูเรียในสูตรอาหารผสมครบส่วนหมัก ยูเรียมีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อนๆ และมีค่า buffering capacity ต่ำ แต่การแตกตัวของยูเรียเป็นแอมโมเนียทำให้ค่า buffering capacity สูงขึ้น ซึ่งจะยับยั้งการลดลงของค่า pH ในกระบวนการหมัก ส่งผลให้ค่า pH ของอาหารผสมครบส่วนหมักสูง สอดคล้องกับผลการทดลองอื่นๆ (Shirley et al., 1972; Yunus et al., 2000)

ปริมาณกรดแลคติคของอาหารผสมครบส่วนหมักกลุ่มที่ใช้น้ำพืชหมักเป็นสารเสริมมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและคงที่หลังจากวันที่ 7 ของการหมักจนถึงระยะสุดท้ายของการหมัก และมีปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้ในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการหมัก ($P<0.05$) (**Figure 1c**) อย่างไรก็ตาม ในระยะสุดท้ายของการหมักอาหารหมักที่ไม่ใช้สารเสริมและกลุ่มที่ใช้สารเสริมน้ำพืชหมัก มีปริมาณกรดแลคติคไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำพืชหมักทำให้ผลิตกรดแลคติคได้เร็วกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริมในช่วง 2 สัปดาห์แรก ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาการผลิตกรดแลคติคในกระบวนการหมักนานกว่ากลุ่มที่เสริมน้ำพืชหมัก และเมื่อพิจารณาอาหารผสมครบส่วนหมักทุกกลุ่มพบว่ามีปริมาณซึ่งเป็นกรดอินทรีย์มีกรดแลคติคเป็นกรดอินทรีย์ที่มีปริมาณมากที่สุด โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 7.26-7.71 ของปริมาณวัตถุแห้ง (**Table 2**) และในอาหารหมักกลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริมมีสัดส่วนของกรดแลคติคต่อกรดอะซิติคน้อยที่สุด ขณะที่ปริมาณกรดบิวทีริคมีแนวโน้มลดปริมาณลง (**Figure 1d**) โดยอาหารหมักที่ไม่ใช้สารเสริมมีปริมาณกรดบิวทีริคสูงกว่าอาหารหมักกลุ่มที่ใช้สารเสริมในช่วงแรกของการหมัก ($P<0.05$) ซึ่งกรดบิวทีริคที่พบในอาหารผสมครบส่วนหมักมีผลต่อการกินได้ของสัตว์ จากการศึกษาของ Kawamoto et al. (2009) ซึ่งได้ทำการศึกษาถึงวิธีป้องกันการลดความน่ากินของหญ้าหมัก (orchardgrass, *Dactylis glomerata* L.) โดยการนำมาหมักร่วมกับอาหารผสมครบส่วนอีกครั้ง พบว่าหญ้าหมักที่หมักร่วมกับอาหารผสมครบส่วนหมัก มีความน่ากินมากกว่าการให้อาหารผสมครบส่วนที่ผสมใหม่ร่วมกับหญ้าหมัก และพบว่ากรดบิวทีริคที่มีในหญ้าหมักมีผลทำให้ความน่ากินลดลง จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปริมาณกรดอะซิติคมีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลคติค และไม่พบกรดบิวทีริคในช่วงสุดท้ายของการหมัก สรุปได้ว่าอาหารหมักที่ได้มีคุณภาพการหมักที่ดี (Okine et al., 2005; Xu et al., 2007) ส่วนในวันที่ 25 ของการหมัก พบว่าปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนรวม (NH_3-N/TN) ในอาหารผสมครบส่วนหมักที่ไม่ใช้สารเสริมมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มที่ใช้สารเสริมทุกชนิด ($P<0.05$) ส่วนระดับของการใช้น้ำพืชหมักพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณการใช้น้ำพืชหมัก จะทำให้ปริมาณ NH_3-N/TN ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (**Table 2**) ซึ่งปริมาณ NH_3-N ที่พบในการหมักเกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม Proteolytic bacteria ที่เปลี่ยนโปรตีนไปเป็นแอมโมเนียที่ระเหยได้ (volatile basic nitrogen) เอมีน (amine) เอไมด์ (amide) ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการในการหมัก (McDonald et al., 1991) อาหารหมักที่มีคุณภาพดีควรมีปริมาณ NH_3-N น้อยกว่าและเท่ากับร้อยละ 11 ของปริมาณไนโตรเจนรวม (Carpintero et al.1969) ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า อาหารผสมครบส่วนหมักกลุ่มที่ไม่ใช้สารเสริมมีการสูญเสียโปรตีนในกระบวนการหมักมากที่สุด และปริมาณ NH_3-N/TN ลดลงเมื่อเพิ่มระดับการเสริมน้ำพืชหมัก แสดงให้เห็นว่าการแตกตัวของโปรตีนระหว่างการหมักอาจจะถูกยับยั้ง โดยกระบวนการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติค

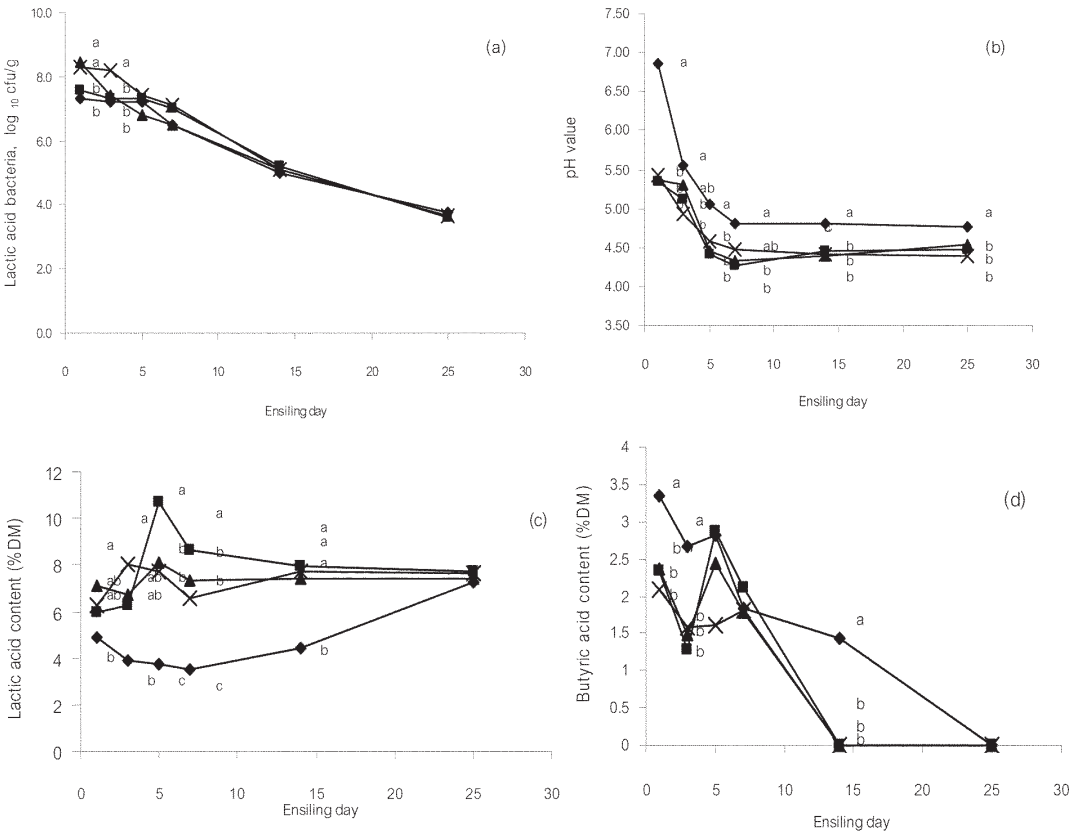

Figure 1 a, b, c and d. Changes in the counts of LAB, pH value, LA and BA contents with (♦) 0%FJLB; (■) 0.1%FJLB; (▲) 0.25%FJLB; (✕) 0.5%FJLB during the ensiling period. Values are means of three TMR silages samples. Means within rows with different letters differ (P< 0.05).

Table 2 Fermentation quality of total mixed ration silages at 25 days of ensiling.

	0% FJLB	0.1% FJLB	0.25% FJLB	0.5% FJLB	SEM	Effect[a]
pH	4.77a	4.47b	4.53b	4.39b	0.03	L (P< 0.005)
(% DM)						
LA	7.26	7.71	7.41	7.67	0.28	-
AA	0.51	0.29	0.31	0.34	0.05	-
PA	0.06	0.20	0.04	0.02	0.05	-
BA	nd	nd	nd	nd	-	-
LA:AA	14.28	26.59	23.89	22.82	2.77	-
NH_3-N (%TN)	9.70a	6.58b	5.48c	4.22d	0.20	L (P< 0.0001)

DM = dry matter, LA = lactic acid, AA = acetic acid, PA = propionic acid, BA = butyric acid.

NH_3-N = ammonia-nitrogen, TN = total nitrogen, nd = not detected. SEM = standard error of the mean.

[a] L: linear effect of Fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria (FJLB) level.

Means within the some row

องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารผสมครบส่วนหมัก

องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารผสมครบส่วนหมักที่อายุการหมัก 25 วัน แสดงดัง **Table 3** จากการทดลองพบว่า ปริมาณวัตถุแห้งของอาหารผสมครบส่วนหมักทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกัน (P>0.05) และพบว่าปริมาณโปรตีนที่เสริมด้วยน้ำพืชหมักมีแนวโน้มสูงกว่าอาหารผสมครบส่วนหมักที่ไม่ใช้สารเสริม อาจเนื่องจากการใช้สารเสริมทำให้ช่วยลดการสูญเสียโปรตีนในรูปของ NH_3-N ทำให้หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักมีปริมาณของโปรตีนเหลืออยู่เพิ่มขึ้น ส่วนการเพิ่มระดับของสารเสริมไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน

ส่วนปริมาณ NDF และ ADF มีค่าลดลงหลังการหมัก เมื่อเทียบกับปริมาณในอาหารผสมครบส่วนก่อนการหมัก โดยอาหารผสมครบส่วนหมักที่เสริมด้วยน้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.25 มีปริมาณเยื่อใย NDF ต่ำกว่าการเสริมที่ระดับต่างๆ โดยเฉพาะที่การเสริมที่ระดับร้อยละ 0.1 (P<0.05) โดยมีปริมาณเยื่อใย NDF อยู่ในช่วงร้อยละ 30.80-32.50 ของปริมาณวัตถุแห้ง ส่วนปริมาณ ADF อยู่ในช่วงร้อยละ 21.49-22.21 ของปริมาณวัตถุแห้ง

สรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้สารเสริมน้ำพืชหมักในของอาหารผสมครบส่วนหมัก ทำให้กระบวนการหมักเข้าสู่สภาวะคงที่เร็วขึ้น มีผลต่อการลดค่า pH และปริมาณ NH_3-N/TN ในอาหารผสมครบส่วนหมัก ส่วนการเพิ่มระดับของน้ำพืชหมัก มีผลต่อค่า pH และปริมาณ NH_3-N/TN ในอาหารผสมครบส่วนหมัก ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อระดับการเสริมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การใช้น้ำพืชหมักที่ระดับร้อยละ 0.25 จะปริมาณ CP ในอาหารผสมครบส่วนหมักสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เติม ดังนั้นการเติมน้ำพืชหมักอย่างน้อยร้อยละ 0.25 (w/w) ในกระบวนการหมักสามารถปรับปรุงคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนะของอาหารผสมครบส่วนหมักได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากเครือข่ายบริหารการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551

เอกสารอ้างอิง

ไกรสิทธิ วสุเพ็ญ, เฉลิมพล เยื้องกลาง และสุนทร วิทยาคุณ. 2548. ผลของอาหารผสมครบส่วนและอาหารผสมครบส่วนหมักต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและค่าการย่อยได้ของโภชนะในโคนมเพศผู้. น. 78-79. ใน: การสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2548 ระหว่างวันที่ 24-25 มกราคม 2548. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington. VA.

Bureenok, S., S. Enokawa, T. Namihira and Y. Kawamoto. 2004. Effect of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria (FJLB) on the fermentative quality of TMR silage for swine. In Proceeding 50th of Japanese Society of Grassland Science. 50: 430-431.

Bureenok, S., T. Namihira, M. Tamaki, S. Mizumachi, Y. kawamoto and T. Nakada. 2005. Fermentative quality of guineagrass silage by using fermented juice of the epiphytic lactic acid bacteria (FJLB) as a silage additive. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 18 (6): 807-811.

Bureenok, S., T. Namihira, S. Mizumachi, Y. kawamoto and T. Nakada. 2006. The effect of epiphytic lactic acid bacteria with or without different byproduct from defatted rice bran and green tea waste on napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach) silage. J. Sci. Food Agric. 86: 1073-1077.

Coppock, C.E., D.L. Bath and B. Harris. 1981. From feeding to feeding systems. J. Dairy Sci. 64: 1230-1249.

Fyksen, J. 2007. Additives make silage, TMRS more stable. Agri-view 33: 1-3.

Japan Grassland Farming Forage Seed Association. 1994. Guide Book for Quality Evaluation of forage. Tokyo.

Kawamoto, H., J. Zhang, Y. Aoki and M. Kamo. 2009. Preventing a decrease in the palatability of round-baled silage by preserving it as fermented total mixed ration. Grassl. Sci. 55: 52-56.

Kozaki, M., T. Uchimura and S. Okada.1992. Experimental Manual of Lactic Acid Bacteria. p 6-16. Asakurashoten, Tokyo.

Lin, C.J., K.K Bolsen, B.E. Brent, R.A. Hart, J.T. Dickerson, A.M. Fyerherm and A.R. Aimutis. 1992. Epiphytic microflora on alfalfa and whole plant corn. J. Dairy Sci. 75: 2484-2493.

McDonald, P., A.R., Henderson and S.J.E. Heron. 1991. The Biochemistry of silage, 2nd ed. Chalcombe Publications, Marlow.

Masuko, T., Y. Hariyama, Y. Takahashi, L. Cao, M. Goto and M. Ohshima. 2002. Effect of addition of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria prepared from Timothy and Orchardgrass on fermentation quality of silages. Grassl. Sci. 48: 120-125.

Merry, R.J., M.S. Dhanoa and M.K. Theodorou. 1995. Use of a freshly cultured lactic acid bacteria as silage inoculants. Grass Forage Sci. 50:112-123.

Ohshima, M., L. Cao, E. Kimura, Y. Ohshima and H. Yokota. 1997. Influence of addition of previously fermented juice to alfalfa ensiled at different moisture contents. J. Jpn. Grassl. Sci. 43: 56-58.

Okine, A., M. Hanada, Y. Aibibula and M. Okamoto. 2005. Ensiling of potato pulp with or without bacterial inoculants and its effect on fermentation quality, nutrient composition and nutritive value. Anim. Feed Sci. Technol. 121: 329-505.

Ohshima, M., E. Kimura and H. Yokota. 1996. A method of making good silage from direct cut alfalfa by spraying previously fermented juice. Anim. Feed Sci. Technol. 66: 129-137.

Pitt, R.E. 1990. The probability of inoculant effectiveness in alfalfa silages. Tran. ASAE33: 1771-1778.

SAS, 1985. The SAS systems for windows v6.12. SAS Inst. Inc., Cary, N.C.

Shirley, J.E., L.D. Brown, F.R. Toman and W.H. Stroube. 1972. Influence of varying amount of urea on the fermentation pattern and nutritive value of corn silage. J. Dairy Sci. 55: 805-810.

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

Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Wang, F. and N. Nishino. 2008. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. Anim. Feed Sci. and Technol. 149: 265-274.

Whiter, A.G. and L. Kung, Jr. 2001. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Sci. 84: 2195-2202.

Xu, C.C., Y. Cai, K. Tamaki, M. Morinobu, H. Kawamoto and M. Murai. 2004. Silage Preparation of Total Mixed Ration with Green Tea Grounds and its Fermentation Quality and Nutritive Value. Grassl. Sci. 50: 40-46.

Xu, C.C, Y. Cai, J.G. Zhang and M. Ogawa. 2007. Fermentation quality and nutritive value of a total mixed ration silage containing coffee grounds at ten or twenty percent of dry matter. J. Anim. Sci. 85: 1024-1029.

Yuangklang, C., K. Wasupen, S. Wittayakun, C. Sukho and P. Srinanaun. 2004. Effects of fermented total mixed ration on feed intake, ruminal fermentation, nutrient digestibility and blood metabolites in dairy cows. p 18-20. In: Proceeding of the 11th Animal Science Congress, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, 5-9th September 2004, Kuala Lumpur.

Yunus, M., N. Ohba, M. Shimojo, M. Furuse and Y. Masuda. 2000. Effects of adding urea and molasses on Napiergrass silage quality. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 13 (11): 1542-1547.