

ผลของการหมักอาหารหยาบชนิดต่างๆ แบบ *In Vitro* ต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้ง จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส การปล่อยแก๊สมีเทน และผลผลิตที่ได้จากการหมัก

Effects of *In Vitro* Fermentation of Different Roughage on Dry Matter Digestibility, Gas Production Kinetics, Methane Emission and Fermentation Products

พรรณทิพา วรรณพุด¹, อัญชลี คงประดิษฐ์¹, ภูมิพงศ์ บุญแสน¹ และสุริยา สะวานนท์^{1*}
Pantipa Wanaputh¹, Anchalee Khongpradit¹, Phoompong Boonsaen¹ and Suriya Sawanon^{1*}

Received date: 19 ม.ค. 69 Revised date: 18 มี.ค. 69 Accepted date: 3 เม.ย. 69

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2026.270426>

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการหมักอาหารหยาบ 6 ชนิด เพียงลำพังหรือหมักร่วมกับอาหารข้นในสัดส่วน 50 : 50 ด้วยการศึกษาแบบจำลองในห้องปฏิบัติการต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้ง จลนศาสตร์การผลิตแก๊ส และผลผลิตจากการหมักอาหารหยาบประกอบด้วย อ้อย (SC) ต้นข้าวโพดฝักอ่อน (BS) ต้นสับปะรด (PS) กระถิน (LC) ฟางข้าว (RS) และหญ้าเนเปียร์ (NG) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ผลการทดลองพบว่าอาหารหยาบเพียงลำพังของอาหาร SC, BS และ PS มีการย่อยได้เร็วและผลิตแก๊สสะสมมากกว่า RS และ NG ($P < 0.01$) ขณะที่ PS มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งและปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้นสูงสุดเมื่อทำการหมักที่ 24 ชั่วโมง อาหาร RS และ NG มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งและปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้นต่ำสุด ($p < 0.01$) การผลิตแก๊สต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้ง พบว่า SC มีค่าสูงสุด ขณะที่ PS มีการผลิตแก๊สต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งต่ำสุด ($p < 0.01$) เมื่อทำการหมักอาหารหยาบร่วมกับอาหารข้น พบว่า SC มีปริมาณการผลิตแก๊สสะสมมากกว่า LC, RS และ NG ($p < 0.01$) แม้ว่าอัตราเร็วในการผลิตแก๊สไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ขณะที่ PS มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งและปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้นสูงสุด ($p < 0.01$) อย่างไรก็ตาม SC มีการผลิตแก๊สรวม แก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งสูงที่สุด ($p < 0.01$) ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนของทุกกลุ่มทดลองไม่ต่างกัน ($p > 0.05$) สรุปได้ว่า PS เป็นอาหารหยาบที่มีศักยภาพสูงใกล้เคียงกับ BS ในด้านการย่อยได้ การผลิตกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น และการลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจก ในขณะที่ SC มีการย่อยได้ต่ำและการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกต่อปริมาณของการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้งสูงที่สุด

คำสำคัญ : คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใย อ้อยอาหารสัตว์ ข้าวโพดฝักอ่อน สับปะรด หญ้าเนเปียร์ กระถิน

Abstract

This study aimed to evaluate the fermentation characteristics of six types of roughages, either alone (100%) or in a 50:50 ratio with concentrate, using an *in vitro* technique. The parameters assessed were *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), gas production kinetics, and fermentation end-products. The roughage sources included sugarcane (SC), baby corn stover (BS), pineapple stalk (PS), leucaena (LC), rice straw (RS), and Napier grass (NG). The experimental design followed a Completely Randomized Design (CRD). The results revealed that when fermented alone, SC, BS, and PS exhibited significantly higher digestion rates and cumulative gas production compared to RS and NG ($P < 0.01$). Furthermore, PS showed the highest values for IVDMD and short-chain fatty acid (SCFA) concentrations at 24 hours of fermentation. The RS and NG groups exhibited the lowest IVDMD and SCFA concentrations ($p < 0.01$). Regarding gas production per gram of dry matter digested, SC recorded the highest value, whereas PS showed the lowest ($P < 0.01$). When fermented in combination with concentrate, SC exhibited higher cumulative gas production than LC, RS, and NG ($p < 0.01$), although gas production rates did not differ significantly ($p > 0.05$). Meanwhile, PS achieved the highest IVDMD and SCFA concentrations ($p < 0.01$). However, SC recorded the highest total gas, methane, and carbon dioxide production per gram of dry matter digested ($p < 0.01$). Ammonia nitrogen concentrations were not significantly different across all treatment groups ($p > 0.05$). In conclusion, PS is a promising roughage, comparable to BS, for enhancing digestibility and mitigating greenhouse gases, whereas SC exhibits lower digestibility and higher relative gas emissions.

Keywords: non-fiber carbohydrate, forage sugarcane, baby corn stover, pineapple, napier grass, Leucaena

¹ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140

*Corresponding author: agrsusa@ku.ac.th

บทนำ

พืชอาหารสัตว์ที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูง เช่น หญ้าเนเปียร์ และอ้อยอาหารสัตว์ หรือพืชตระกูลถั่ว เช่น กระถิน รวมทั้งผลพลอยได้จากการปลูกพืช เช่น ฟางข้าว ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรด พืชเหล่านี้มีสารอาหารที่สามารถนำมาใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง (โคเนื้อ โคนม กระบือ แพะและแกะ) พืชอาหารสัตว์มีองค์ประกอบของเซลล์ที่แตกต่างกัน ทั้งส่วนที่เป็นผนังเซลล์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรง (neutral detergent fiber; NDF) ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่สามารถถูกย่อยสลายได้ และมีส่วนของลิกนินที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ลินทรีย์ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Sawanon, 2018) นอกจากนี้เซลล์พืชยังมีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใย (non-fibrous carbohydrate; NFC) ได้แก่ แป้ง ฟรุคแทน กรดอินทรีย์ และน้ำตาลต่างๆ ในปริมาณที่แตกต่างกัน (Villalba et al., 2021) นอกจากนี้เซลล์พืชยังมีส่วนประกอบอื่น เช่น โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน ส่วนประกอบของ NFC ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เป็นพื้นฐานของการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์ในรูปของสารอาหารที่ย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrients; TDN) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดค่าพลังงานที่ย่อยได้ของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่จำเป็นสำหรับการผลิตเนื้อและน้ำนม (Van Soest, 1994) พืชอาหารสัตว์ที่เจริญเติบโตในเขตร้อนชื้นมีสัดส่วนของ NDF สูง และ NFC ต่ำเมื่อเทียบกับพืชอาหารสัตว์ที่เจริญเติบโตในเขตอบอุ่นจะมีสัดส่วนของ NDF ต่ำ และ NFC สูง ทำให้พืชอาหารสัตว์ในเขตอบอุ่นสัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าพืชอาหารสัตว์ในเขตร้อนชื้น เนื่องจาก NFC มีแบคทีเรียหลากหลายชนิดในกระเพาะหมักที่สามารถหมักย่อย NFC ได้เร็ว หรือเรียกแบคทีเรียกลุ่มย่อยแบ่งและน้ำตาล เช่น *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium*, *Ruminobacter amylophilus*, *Succinomonas amylolytica* และ *Streptococcus bovis* ในขณะที่ NDF มีแบคทีเรียเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถหมักย่อยได้อย่างช้าๆ หรือเรียกแบคทีเรียกลุ่มย่อยเยื่อใย เช่น *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* และ *R. albus* (Sawanon, 2018)

การให้พืชอาหารสัตว์คุณภาพดีที่มีปริมาณโปรตีนสูง เช่น พืชตระกูลถั่ว หรือการให้พืชอาหารสัตว์ร่วมกับอาหารข้นที่มีปริมาณโปรตีนมากเกินไปแต่มี NFC ไม่เพียงพอ จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักอาจเกิดการย่อยสลายกรดอะมิโนเพื่อให้ได้พลังงานมาใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และทำให้มีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาในปริมาณมากซึ่งส่งผลให้มีการสูญเสียไนโตรเจนและปลดปล่อยออกสู่สภาวะแวดล้อมในปริมาณมาก (Haynes and Williams, 1993) นอกจากนี้พืชอาหารสัตว์ที่มีปริมาณ NFC (แป้งและน้ำตาล) สูง แบคทีเรียที่เข้ามาทำการหมักย่อยส่วนใหญ่จะได้ผลผลิตสุดท้ายจากการหมักย่อยเป็นกรดโพรพิโอนิก และมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาน้อย จึงทำให้มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เป็นสารตั้งต้นให้กับจุลินทรีย์นำไปสังเคราะห์แก๊สมีเทนได้น้อยลง (Sawanon, 2018) พืชอาหารหลายแต่ละชนิดที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปจะมีกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันและมีผลต่อการผลิตแก๊สมีเทนที่แตกต่างกันด้วย อาหารหลายที่มีปริมาณ NFC ต่ำ เช่น หญ้าแพงโกล่าแห้งหรือฟางข้าว (10.4 หรือ 9.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) (Working Committee of Thai Feeding Standard for Ruminant, 2008) จะมีอัตราส่วนการผลิตกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิกและแก๊สมีเทนต่อหน่วยอินทรีย์วัตถุแห้งที่ถูกย่อยสูงกว่าอาหารหลายที่มี NFC สูง ขณะที่พืชตระกูลถั่วและอาหารหลายบางชนิดสามารถให้ค่าการผลิตแก๊สมีเทนในระดับปานกลาง แต่ยังคงมีความสามารถในการย่อยได้สูงและมีการสร้างโพรพิโอนิกมากขึ้น (Parnian-Khajehdizaj and Moharramnejad, 2025) อย่างไรก็ตามผลพลอยได้จากการเพาะปลูกพืชผลบางชนิด เช่น ต้นและใบสับปะรด เป็นพืชที่มีปริมาณ NFC สูง แต่มีเยื่อใยที่ย่อยได้ยากสูงด้วยเช่นกัน (Hattakum et al., 2019; Zainuddin et al., 2014) และมีรายงานการวิจัยการใช้ต้นและใบสับปะรดเป็นแหล่งอาหารหลายสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องน้อยมาก นอกจากนี้การหมักอาหารหลายร่วมกับอาหารข้นในสัดส่วน 50 ต่อ 50 สำหรับการเลี้ยงโคในบางระยะที่มีการใช้อาหารข้นและอาหารหลายในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน เพื่อให้โคมีอัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาโครงสร้างอย่างเหมาะสม เช่น ระยะโครั่นก่อนขุน หรือโคสาวทดแทน เป็นต้น (Kraiprom et al., 2021) โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลของการหมักต่อการผลิตแก๊สมีเทน ซึ่งเป็นแก๊สเรือนกระจกที่สำคัญต่อการเกิดภาวะโลกร้อนที่กำลังเป็นปัญหาของมนุษยชาติในปัจจุบัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการหมักย่อยอาหารหลายที่มีปริมาณ NFC แตกต่างกัน และเมื่อนำอาหารหลายนั้นมาหมักย่อยร่วมกับอาหารข้นที่มีปริมาณ NFC สูง ที่มีต่อผลผลิตจากการหมักย่อยและการผลิตแก๊สมีเทนภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลองในการศึกษานี้ขึ้นอยู่กับอยู่ภายใต้การกำกับดูแลของคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (หมายเลขการอนุญาต ACKU66-AGK-012) ซึ่งเป็นไปตามแนวทางของคณะกรรมการกำกับและส่งเสริมการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ที่ให้การรับรองโดยสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

สัตว์ทดลอง และการเตรียมจุลินทรีย์รวมจากกระเพาะหมัก

โคเนื้อลูกผสมบราห์มันเพศผู้ตอนที่ได้รับการเจาะกระเพาะหมัก น้ำหนักเฉลี่ย 400 กิโลกรัม จำนวน 2 ตัว โคถูกเลี้ยงภายในคอกขังเดี่ยวบนพื้นคอนกรีต (ขนาดคอก 2.5 x 5.0 ตารางเมตร) โรงเรือนแบบเปิด ของหน่วยวิจัยสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โคได้รับอาหารข้น 3 กิโลกรัม/วัน และฟางข้าว 3 กิโลกรัม/วัน โดยแบ่งให้อาหาร 2 ครั้ง/วัน มื้อเช้า 7.30 น. และมื้อเย็น 15.30 น. มีน้ำสะอาดให้โคกินได้อย่างอิสระตลอดเวลา โคถูกปรับสภาพการเลี้ยงและการให้อาหารเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก (rumen fluid) เพื่อเป็นแหล่งของจุลินทรีย์รวม ผ่านทางท่อที่ผ่าตัดติดช่องท้องและกระเพาะหมัก (rumen fistula) ก่อนให้

อาหารมื้อเช้าในวันที่ 15 ของการทดลอง ทำการกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองใส่ภาชนะที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 38 องศาเซลเซียส และอยู่ในสภาวะปราศจากออกซิเจนนำเข้าห้องปฏิบัติการโดยทันที

อาหารทดลองและการเตรียมตัวอย่าง

อาหารทดลองประกอบด้วย อาหารชั้น และอาหารหยาบ 6 ชนิด (Table 1) ได้แก่ อ้อย (SC) ต้นอ้อยอาหารสัตว์ปลูกที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ (ไร่สุวรรณ) อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครราชสีมา ตัดที่อายุการปลูก 4 เดือน ทำการตัดสูงจากพื้นดิน 5-10 เซนติเมตร ต้นข้าวโพดฝักอ่อน (BS) ปลูกที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ตัดทันทีหลังจากเก็บผลผลิตฝักอ่อนแล้วที่อายุการปลูก 65 วัน ทำการตัดสูงจากพื้นดิน 5-10 เซนติเมตร ต้นสับปะรด (PS) ปลูกที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ตัดหลังจากเก็บผลสับปะรดแล้ว ทำการตัดสูงจากพื้นดิน 5 เซนติเมตร ใช้ส่วนลำต้นและใบที่มีสีเขียวและล้างทำความสะอาด กระถิน (LC) ปลูกที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ตัดเอาเฉพาะส่วนยอดที่กิ่งอ่อนสีเขียว ใบและก้าน ฟางข้าว (RS) ได้จากการปลูกข้าวนาปรังในอำเภอรือทอง จังหวัดสุพรรณบุรี และหญ้าเนเปียร์ (NG) ปลูกที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ตัดที่อายุการแตกกอ 70 วัน ทำการตัดสูงจากพื้นดิน 5-10 เซนติเมตร จากนั้นนำพืชอาหารหยาบทั้งหมดมาทำการสับหรือตัดให้สั้นแล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง อาหารชั้นประกอบด้วย มันสำปะหลัง 30% รำข้าวสากัดน้ำมัน 30% กากปาล์มเนื้อในสีกัดน้ำมัน 20% กากถั่วเหลือง 19.5% และพรีมิกซ์ 0.5% (พรีมิกซ์ประกอบด้วยวิตามิน เอ 2,160,000 IU วิตามิน บี3 100,000 IU วิตามิน อี 5,000 IU แมกนีเซีย 8.5 กรัม สังกะสี 6.4 กรัม ทองแดง 1.6 กรัม แมกนีเซียม 16 กรัม โคบอลต์ 0.32 กรัม ไอโอดีน 0.8 กรัม ซีลีเนียม 0.032 กรัม) ทั้งอาหารชั้นและอาหารหยาบถูกบดผ่านตะแกรงขนาด 0.2 มิลลิเมตร เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

การศึกษากลศาสตร์การผลิตแก๊สด้วยเทคนิค *In vitro*

ทำการศึกษาในหลอดทดลองเพื่อประเมินค่า IVDMD ของอาหารหยาบดัดแปลงตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) โดยเตรียมสารละลายน้ำลายเทียม (McDougall's artificial saliva) (McDougall, 1948) ผสมกับของเหลวจากกระเพาะหมักของโคทั้ง 2 ตัว ที่ผ่านการกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น และนำของเหลวจากกระเพาะหมักมาผสมกับน้ำลายเทียมในอัตราส่วน 1:1 ทำในสภาวะที่มีแก๊สไนโตรเจนบริสุทธิ์ จากนั้นดูดสารละลายผสมน้ำลายเทียมและของเหลวจากกระเพาะหมักปริมาตร 40 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดขึ้นขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุตัวอย่างอาหาร 0.4 กรัม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1 อาหารหยาบเพียงอย่างเดียว (100 เปอร์เซ็นต์) น้ำหนัก 0.4 กรัมต่อขวด มีทั้งหมด 9 ขวด (ซ้ำ)/ชนิดของอาหาร

ชุดที่ 2 อาหารหยาบ 0.2 กรัมต่อขวด และอาหารชั้น 0.2 กรัมต่อขวด (50:50) มีทั้งหมด 9 ขวด (ซ้ำ)/ชนิดของอาหาร

นำขวดตัวอย่างอาหารที่ใส่สารละลายผสมน้ำลายเทียมและของเหลวจากกระเพาะหมัก ปิดฝาด้วยจุกยางและฝาเกลียวพลาสติก เข้าบ่มในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ทำการวัดปริมาตรแก๊สที่ผลิตขึ้นทุก 1-2 ชั่วโมงในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการบ่ม และจากนั้นทำการบันทึกผลทุก 3-4 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นบันทึกปริมาตรแก๊สทุก 6 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 72 นำค่าผลผลิตแก๊สที่ได้มาคำนวณหาค่า a , b และ c โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป fit curve เพื่ออธิบายกลศาสตร์การผลิตแก๊สตามแบบจำลองสมการ (Ørskov and McDonald, 1979) $y = a + b [(1 - \text{Exp}^{-ct})]$ เมื่อ y = ผลผลิตแก๊สที่เกิดขึ้น ณ เวลา t ค่า a = จุดตัดแกน y ค่า b = ปริมาตรแก๊ส ณ จุดที่เส้นกราฟราบเรียบ ค่า c = อัตราเร็วการผลิตแก๊สเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการหมักในหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง และ Exp = exponential

หลังจากนั้นนำค่า a และ b ที่ได้จากสมการนี้ ประเมินค่าศักยภาพในการผลิตแก๊ส (d) จากสมการ $d = |a+b|$ หรือ ค่าสมบูรณ์ของ $a + b$ โดย a เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการย่อยสลายสารอาหารที่สามารถละลายได้ เพื่อป้องกันว่าวัตถุดิบชนิดใดมีค่าการละลายน้ำได้ต่ำหรือสูง (Menke and Steingass, 1988) ค่า b แสดงถึงศักยภาพในการย่อยสลายของวัตถุดิบอาหารสัตว์หากมีค่าสูงแสดงว่ามีศักยภาพในการย่อยสลายได้สูง เนื่องจากปริมาณแก๊สที่ผลิตได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่า IVDMD ของวัตถุดิบ

การศึกษาย่อยสลายได้ของวัตถุแห้ง (*In vitro* dry matter digestibility : IVDMD) และการผลิตแก๊ส

ทำการเตรียมตัวอย่างเหมือนกับการศึกษากลศาสตร์การผลิตแก๊ส นำตัวอย่างเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส และทำการวัดปริมาณแก๊สและเก็บตัวอย่างแก๊สเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ในแต่ละครั้งทำการสุ่มตัวอย่าง จำนวน 3 ขวด/ชนิดอาหาร แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อหยุดกิจกรรมของจุลินทรีย์ แล้วนำไปวัดปริมาตรแก๊สและวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ทันที ส่วนของเหลวและเศษอาหารที่เหลือนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman 1, CAT No. 1001-090) ที่ทราบน้ำหนัก จากนั้นนำส่วนของแข็งที่เหลือบนกระดาษกรองไปอบที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง เพื่อทำการวิเคราะห์ IVDMD ส่วนของเหลวที่ได้จากการกรองนำไปวัดความเป็นกรดต่าง (pH) วิเคราะห์กรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น (SCFA) และแอมโมเนียไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ต่อไป

การศึกษาค่าประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารหยาบทั้ง 6 ชนิดและอาหารชั้น ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) และเถ้า (ash) ตามวิธีการของ AOAC (2019) และ ISO/IEC 17025 วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อใย ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) และปริมาณลิกนิน (acid detergent lignin, ADL)

ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (2016) และ ISO/IEC 17025 (2017) โดยทำการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

การวัดปริมาณแอมโมเนีย การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์

นำหลอดทดลองที่แช่ในน้ำเย็นหลังการบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มาวัดแรงดันแก๊สด้วยเกจวัดแรงดัน (A ϕ 60B, GL Science, Tokyo, Japan) จากนั้นทำการเก็บแก๊สปริมาตร 0.2 mL ด้วยไซริงค์ล๊อคแก๊ส (TRAJAN® #SGE Syringe, Trajan Scientific Australia Pty Ltd., Australia) และนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas chromatograph (GC-8A; Shimadzu, Kyoto, Japan) ซึ่งบรรจุคอลัมน์ (3 mm i.d. x 3 m length, mesh range 80/100; GL Science, Tokyo, Japan) โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นแก๊สจากตัวอย่างที่ฉีดกับแก๊สมาตรฐาน ได้แก่ แก๊สมีเทน 1% และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 10% (บจ. แมสเซอร์ สเปเชียลตี้ ก๊าซ จังหวัดนครปฐม) โดยทำการวิเคราะห์ที่ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

การวิเคราะห์กรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น

การวิเคราะห์กรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น ทำตามวิธีของ Khongpradit et al. (2020) โดยผสมตัวอย่าง 100 μ L กับ 5 N H₂SO₄ ใน metaphosphoric acid 20 ไมโครลิตร แช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 16,000 x g นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำของเหลวที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง 50 ไมโครลิตร ผสมกับ crotonic acid ที่มีความเข้มข้น 3 มิลลิโมล/เดซิลิตร เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และใช้กรดไขมันระเหยง่ายที่ทราบความเข้มข้นเป็นสารมาตรฐานภายนอก (external standard) ทำการฉีดตัวอย่างที่เตรียมแล้วจำนวน 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (CP9001; Chrompack, Shimadzu, Japan) ที่บรรจุคอลัมน์ ขนาดความกว้าง 0.53 มิลลิเมตร และความยาว 30 เมตร (Shinwa, Kyoto, Japan) และแปลผลจากพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างโดยเทียบกับสารมาตรฐานที่เป็นกรดไขมันระเหยง่ายชนิดต่างๆ

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ค่า NH₃-N ถูกวิเคราะห์โดยเทคนิค phenol-hypochlorite ด้วย UV-Vis spectrophotometer (Multiskan SkyHigh Microplate Reader; Thermo Fisher Scientific, Singapore) โดยใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 660 นาโนเมตร (Khongpradit et al., 2020)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแต่ละชุดการทดลอง (100 และ 50:50) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของอาหารหยาบแต่ละชนิดด้วยวิธี Tukey's Multiple Comparison test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป R version 4.5.2 (R Core Team, 2024)

ผลการทดลองและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

คุณค่าทางโภชนาของอาหารหยาบ 6 ชนิด และอาหารชั้นแสดงใน Table 1 พบว่าต้นสับปะรดเป็นอาหารหยาบที่มีปริมาณ NFC สูงที่สุด (38.27%) ซึ่งใกล้เคียงกับอาหารชั้น (40.01%) อาหารหยาบที่มีปริมาณ NFC สูงรองจากต้นสับปะรด คือ อ้อย (35.08%) และกระถิน (35.16%) ส่วนต้นข้าวโพดฟักอ่อนมี NFC 30.19 เปอร์เซ็นต์ ฟางข้าวและหญ้านเปี้ยร์มีปริมาณ NFC ต่ำที่ 18.58 และ 12.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่กระถินมีปริมาณ NDF ต่ำที่สุด (32.64%) ต่ำกว่าอาหารชั้น (36.92%) ส่วนต้นสับปะรด ต้นข้าวโพดฟักอ่อน อ้อย ฟางข้าว และหญ้านเปี้ยร์ มีปริมาณ NDF เท่ากับ 52.17, 56.79, 59.00, 64.64 และ 67.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ปริมาณ NFC มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณ NDF โปรตีน ไขมัน และเถ้าในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Villalba et al., 2021) จะเห็นได้ว่าฟางข้าวและหญ้านเปี้ยร์มีปริมาณ NDF และเถ้าสูง แต่ปริมาณโปรตีนค่อนข้างต่ำจึงส่งผลให้มีปริมาณ NFC ต่ำที่สุด กระถินมีปริมาณโปรตีนและเถ้าสูง แต่ปริมาณ NDF ต่ำ จึงทำให้กระถินมีค่า NFC สูง ขณะที่ต้นข้าวโพดฟักอ่อน อ้อย ต้นสับปะรด เป็นอาหารหยาบที่มีปริมาณ NDF สูงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าใกล้เคียงกัน จึงทำให้ปริมาณ NFC สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นสับปะรดมีปริมาณ NFC สูงที่สุด นั้นแสดงว่าต้นสับปะรดมีส่วนประกอบของแป้งสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งแป้งที่ถูกสะสมไว้ในส่วนของลำต้น (Pintadis et al., 2020) ดังนั้นต้นสับปะรดจึงเป็นพืชอาหารหยาบที่สามารถหมักย่อยได้ง่าย (Khongpradit et al., 2022) อ้อยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตัดที่อายุ 120 วัน มีปริมาณ NDF ต่ำกว่าการรายงานของ Morthong et al. (2012) เนื่องจากสายพันธุ์อ้อยแตกต่างกัน จึงทำให้อ้อยอาหารสัตว์ในการศึกษานี้มีปริมาณ NFC สูง ต้นข้าวโพดฟักอ่อนในการศึกษานี้มีปริมาณ NDF ต่ำกว่าการรายงานของ Hattakum et al. (2019) ที่รายงานไว้ที่ 62.7 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นต้นข้าวโพดที่ตัดทันทีหลังจากเก็บผลผลิตฟักอ่อนจึงทำให้มีปริมาณ NDF ต่ำ และทำให้ปริมาณ NFC สูง ส่วนกระถินในการศึกษานี้มีปริมาณ NDF ต่ำกว่ากระถินหมักที่รายงานโดย Cherdthong et al. (2015) เนื่องจากในกระบวนการหมักกระถินจะมีจุลินทรีย์ที่นำ NFC ไปใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตและผลิตกรดแลกติกจึงทำให้ปริมาณ NDF ของกระถินหมักสูงกว่ากระถินที่ไม่ผ่านการหมัก

Table 1 The chemical composition of roughage sources and concentrate diet

Chemical composition (%DM)	Roughage sources ^{1/}						Concentrate
	SC	BS	PS	LC	RS	NG	
Crude protein	2.71	6.88	4.69	20.00	5.77	6.21	13.42
Ether extract	0.80	1.04	1.44	3.53	1.06	0.72	2.48
Ash	2.41	5.10	3.43	8.67	9.95	12.81	7.17
Neutral detergent fiber	59.00	56.79	52.17	32.64	64.64	67.58	36.92
Acid detergent fiber	38.00	40.49	31.58	30.90	43.94	49.09	31.66
Acid detergent lignin	7.61	7.10	7.83	11.99	4.80	7.70	10.10
Non-fibrous carbohydrate ^{2/}	35.08	30.19	38.27	35.16	18.58	12.69	40.01

^{1/} SC = Sugarcane, BS = Baby corn stalk, PS = Pineapple stem and leaves, LC = Leucaena, RS = Rice straw, NG = Napier grass

^{2/} Non-fibrous carbohydrate = 100 - (%Neutral detergent fiber + %Crude protein + %Fat + %Ash)

การผลิตแก๊สและจลนศาสตร์การผลิตแก๊ส

จลนศาสตร์การผลิตแก๊สจากการหมักย่อยอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว (100) แสดงใน Table 2 พบว่าอ้อย ต้นสับปะรด และต้นข้าวโพดฟักอ่อนมีปริมาตรการผลิตแก๊สสะสมที่ 48 และ 72 ชั่วโมงสูงกว่ากระถิน หญ้าเนเปียร์ และฟางข้าว ($p < 0.01$) ขณะที่ค่า c ของต้นสับปะรด (0.07 มิลลิลิตร/ชั่วโมง) สูงที่สุด รองลงมาคือ ต้นข้าวโพดฟักอ่อนและกระถิน (0.06 มิลลิลิตร/ชั่วโมง) สูงกว่าอ้อย (0.05 มิลลิลิตร/ชั่วโมง) หญ้าเนเปียร์ (0.04 มิลลิลิตร/ชั่วโมง) และฟางข้าว (0.02 มิลลิลิตร/ชั่วโมง) ($p < 0.01$) แสดงให้เห็นว่าการหมักย่อยอ้อยและต้นสับปะรดโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีการผลิตแก๊สรวมมากที่สุด และใกล้เคียงกับต้นข้าวโพดฟักอ่อน ขณะที่กระถิน หญ้าเนเปียร์ และฟางข้าวการหมักย่อยจะทำให้มีการผลิตแก๊สรวมต่ำ เมื่อพิจารณา ค่า a พบว่าต้นสับปะรดมีค่าต่ำที่สุด แต่อ้อยและกระถินมีค่าสูงสุด ($p < 0.01$) ขณะที่ค่า b และ d ของอาหารหยาบทั้ง 6 ชนิดไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าต้นสับปะรดเป็นอาหารหยาบที่มีปริมาณ NFC สูงและเป็นอาหารที่จุลินทรีย์สามารถหมักย่อยได้ดีและเร็วกว่าอาหารหยาบที่มีปริมาณ NFC ต่ำ เช่น ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์ สอดคล้องกับรายงานของ Villalba et al. (2021) และ Hanlon et al. (2023) ที่รายงานว่าอาหารที่มีปริมาณแป้งและน้ำตาลสูงมีการย่อยได้สูงกว่าอาหารที่มีปริมาณแป้งและน้ำตาลต่ำ

Table 2 Gas accumulation and kinetics of *in vitro* fermentation of roughage sources (100) and roughage: concentrate ratio (50:50)

Roughage ratios	Parameter	Roughage sources ^{1/}						SEM	P-value
		SC	BS	PS	LC	RS	NG		
100	Gas accumulation at 48 hr (mL)	106.45 ^a	103.58 ^a	103.58 ^a	81.09 ^b	84.49 ^b	79.12 ^b	10.06	<0.01
	Gas accumulation at 72 hr (mL)	112.90 ^a	106.63 ^{ab}	110.75 ^a	86.20 ^b	86.73 ^b	84.05 ^b	9.41	<0.01
	Kinetic gas productions ^{2/}								
	a	-0.93 ^a	-2.65 ^{ab}	-5.12 ^b	-2.03 ^a	-2.44 ^{ab}	-2.49 ^{ab}	1.98	<0.01
	b	111.98	103.71	111.07	86.87	101.59	101.19	14.95	0.51
	c	0.05 ^b	0.06 ^{ab}	0.07 ^a	0.06 ^{ab}	0.02 ^c	0.04 ^b	0.013	<0.01
	d	111.05	101.06	105.95	84.84	99.15	98.79	11.40	0.57
50:50	Gas accumulation at 48 hr (mL)	130.02 ^a	103.85 ^b	90.86 ^{bc}	84.59 ^{bc}	82.35 ^c	81.63 ^c	0.69	<0.01
	Gas accumulation at 72 hr (mL)	148.38 ^a	118.46 ^{ab}	96.24 ^b	89.78 ^b	86.20 ^b	86.30 ^b	0.82	<0.01
	Kinetic gas productions ^{2/}								
	a	-3.026 ^c	-1.127 ^b	-0.717 ^{ab}	-0.219 ^{ab}	0.802 ^a	-0.212 ^{ab}	1.26	<0.01
	b	130.81 ^a	98.14 ^b	85.05 ^b	82.36 ^b	83.16 ^b	77.98 ^b	14.95	<0.01
	c	0.08	0.09	0.09	0.11	0.08	0.10	81.89	0.31
	d	127.79 ^a	97.01 ^b	84.32 ^b	82.14 ^b	83.96 ^b	77.76 ^b	14.11	<0.01

^{a,b,c} Significant difference at $p < 0.05$, SEM = standard error of the mean

^{1/} SC = Sugarcane, BS = Baby corn stalk, PS = Pineapple stem and leaves, LC = Leucaena, RS = Rice straw, NG = Napier grass

^{2/} a = the intercept, which ideally reflects the fermentation of the soluble fraction, b = the fermentation of the insoluble fraction, c = rate of gas production, d = potential extent of gas production

จลนศาสตร์การผลิตแก๊สจากการหมักย่อยอาหารหยาบร่วมกับอาหารข้น (50:50) แสดงใน Table 2 พบว่าอ้อยเมื่อหมักย่อยมีปริมาณการผลิตแก๊สสะสมที่ 48 และ 72 ชั่วโมง และ ค่า b สูงที่สุด รองลงมาคือ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน ต้นสับปะรด กระถิน ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์ตามลำดับ ($p < 0.01$) ขณะที่ค่า c ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าอ้อยเมื่อหมักร่วมกับอาหารข้นจุลินทรีย์สามารถผลิตและปลดปล่อยแก๊สออกสู่สภาวะแวดล้อมได้สูงที่สุด เนื่องจากอ้อยร่วมกับอาหารข้มนมีค่า a สูงมากที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีสารอาหารที่ย่อยสลายได้หรือละลายได้ง่ายอยู่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนที่เป็นน้ำตาลซึ่งทำให้การหมักย่อยเกิดได้เร็ว (Hanlon et al., 2023)

การย่อยสลายได้ของวัตถุแห้ง และความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

การหาค่า IVMDM ของอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว ค่าความเป็นกรดต่าง และความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ หลังการบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง (Table 3) พบว่าต้นสับปะรดมีค่า IVMDM หลังการบ่ม 24 ชั่วโมงสูงที่สุด รองลงมาคือ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน อ้อย กระถิน หญ้าเนเปียร์ และฟางข้าวต่ำที่สุด ($p < 0.01$) ซึ่งตรงกันข้ามกับค่าความเป็นกรดต่าง พบว่าต้นสับปะรดมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำที่สุด ขณะที่ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์มีค่าความเป็นกรดต่างสูงที่สุด ($p < 0.01$) เนื่องจากอาหารหยาบที่มี NFC สูง จุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะใช้ประโยชน์จากน้ำตาลและแป้งได้ดี และเจริญเติบโตได้เร็ว จุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยแป้งและน้ำตาลส่วนใหญ่เมื่อหมักย่อยสารอาหารแล้วจะได้ผลผลิตสุดท้าย คือกรดโพรพิโอนิก และกรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรดลดลง ในทางตรงกันข้ามอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ หรือมีเยื่อใยสูง จุลินทรีย์ที่สามารถหมักย่อยเยื่อใยเจริญเติบโตอย่างช้าๆ และผลิตกรดอะซิติกเป็นส่วนใหญ่ทำให้ความเป็นกรดต่างลดลงอย่างช้าๆ (Sawanon, 2018) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการหมักย่อยต้นสับปะรดซึ่งเป็นอาหารหยาบที่มี NFC สูง ที่ 24 ชั่วโมงจะมีค่า IVMDM สูง ขณะที่ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์มีการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งต่ำที่สุด ความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ฟางข้าวมีแนวโน้มต่ำกว่าอาหารหยาบชนิดอื่น ($p = 0.05$) เนื่องจากฟางข้าวมีโปรตีนและ NFC ต่ำการย่อยสลายโปรตีนเพื่อเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียจึงเกิดขึ้นได้น้อย อย่างไรก็ตามกระถินเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (20.0%) กลับพบว่าความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ มีค่าใกล้เคียงกับอาหารหยาบชนิดอื่น ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าโปรตีนในกระถินถูกย่อยและเปลี่ยนไปเป็น $\text{NH}_3\text{-N}$ ได้น้อย หรือเป็นโปรตีนที่หมักย่อยได้น้อยในกระเพาะหมักและสามารถไหลผ่านกระเพาะหมักได้ดี เนื่องจากโปรตีนที่อยู่กระถินส่วนใหญ่จะมีโครงสร้างสัมพันธ์คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) (Stifkens et al., 2022)

ค่า IVMDM ของอาหารหยาบ หลังการบ่ม 48 ชั่วโมง พบว่าต้นสับปะรดมีค่า IVMDM สูงที่สุดใกล้เคียงกับต้นข้าวโพดฟักอ่อนแต่สูงกว่าอ้อย กระถิน หญ้าเนเปียร์ และฟางข้าว ($p < 0.01$) ซึ่งตรงกันข้ามกับค่าความเป็นกรดต่าง พบว่าต้นสับปะรดมีค่าความเป็นกรดต่ำที่สุด ขณะที่อ้อยมีค่าความเป็นกรดต่ำ รองลงมาคือ ต้นสับปะรด และต้นข้าวโพดฟักอ่อน ขณะที่ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์มีค่าสูงที่สุด ($p < 0.01$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าต้นสับปะรด ต้นข้าวโพดฟักอ่อนและอ้อย เป็นอาหารหยาบที่มี NFC สูง จุลินทรีย์ที่เข้ามาหมักย่อยเจริญเติบโตได้เร็ว และผลิตผลผลิตสุดท้ายที่ทำให้ความเป็นกรดลดลงได้เร็ว ในสภาวะการหมักในหลอดทดลองที่เป็นระบบปิดผลผลิตสุดท้ายที่สะสมอยู่ในหลอดทดลองเหล่านี้จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยเยื่อใยทำให้การย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งหลังบ่มที่ 24 ชั่วโมงไปแล้วไม่ได้เพิ่มขึ้น ขณะที่อาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ จุลินทรีย์ที่เข้ามาหมักย่อยเยื่อใยเจริญเติบโตอย่างช้าๆ และผลผลิตจากการหมักย่อยค่อยๆ เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดลดลงอย่างช้า ค่า IVMDM หลังการบ่มที่ 48 ชั่วโมงจึงเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการบ่มที่ 24 ชั่วโมง แต่เมื่อถึงจุดหนึ่งจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยเยื่อใยซึ่งมีความสามารถในการทนต่อความเป็นกรดได้น้อยกว่าจุลินทรีย์กลุ่มที่หมักย่อยแป้งและน้ำตาลจะหยุดการเจริญเติบโตและค่า IVMDM จะคงที่ (Sawanon, 2018) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการหมักย่อยที่ 48 ชั่วโมงของอาหารหยาบที่มี NFC สูง เช่น อ้อย ต้นสับปะรด และต้นข้าวโพดฟักอ่อนมีค่าความเป็นกรดต่ำกว่าการหมักย่อยอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ เช่น ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์

ค่า IVMDM ของอาหารหยาบร่วมกับอาหารข้น ค่าความเป็นกรดต่าง และความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนหลังการบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง (Table 3) พบว่าต้นสับปะรด หญ้าเนเปียร์ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และกระถิน มีค่า IVMDM หลังการบ่ม 24 ชั่วโมงสูงกว่าอ้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ขณะที่ค่าความเป็นกรด และความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อทำการบ่มนาน 48 ชั่วโมงพบว่าต้นสับปะรด ฟางข้าว ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และกระถิน มีค่า IVMDM สูงกว่าอ้อย และหญ้าเนเปียร์ ($p < 0.01$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ว่าอาหารข้มนที่มีปริมาณ NFC สูง เมื่อนำมาหมักย่อยร่วมกับอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ เช่น ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์ แป้งและน้ำตาลที่อยู่ในอาหารข้มนจะไปส่งเสริมให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ประโยชน์จากแป้งและน้ำตาลเจริญเติบโตได้เร็ว จึงทำให้ค่า IVMDM ที่ 24 ชั่วโมงใกล้เคียงกับอาหารหยาบที่มี NFC สูง นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักย่อยในระยะยาว (48 ชั่วโมง) อาหารข้มนยังส่งเสริมให้ค่า IVMDM ของอาหารหยาบที่มี NFC สูง (ต้นสับปะรด และต้นข้าวโพดฟักอ่อน) รวมทั้งอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ (ฟางข้าว) เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Padlom et al. (2018) ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์จะย่อยได้มากขึ้นเมื่อทำการบ่มนานขึ้น และเมื่อใช้อาหารหยาบร่วมกับอาหารข้มนในรูปแบบอาหารผสมครบส่วนค่า IVMDM เพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้อาหารข้มนหรืออาหารหยาบเพียงอย่างเดียว เนื่องจากในอาหารข้มนนอกจากจะมี NFC สูงแล้ว อาหารข้มนยังมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อย่างครบถ้วน ทั้งวิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ ดังนั้นการให้อาหารข้มนร่วมกับอาหารหยาบจึงทำให้ค่า IVMDM ของอาหารสูงกว่าการให้อาหารหยาบเพียงอย่างเดียว

จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักทำการหมักย่อยสารอาหารคาร์โบไฮเดรตในกลุ่มแป้งและน้ำตาลได้เร็วกว่าเยื่อใย โดยเฉพาะในอาหารข้มนจะมีแป้งสูงกว่าอาหารหยาบ ดังนั้นการหมักย่อยอาหารหยาบร่วมกับอาหารข้มนจึงมีค่า IVMDM สูงกว่าการหมักย่อยอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว (เมื่อวัดที่ 24 หรือ 48 ชั่วโมง) ขณะที่อาหารหยาบที่มี NFC สูงจะหมักย่อยได้ดีกว่าอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นข้าวโพดฟักอ่อนและต้นสับปะรดจุลินทรีย์ทำการหมักย่อยได้เร็วที่สุด การหมักย่อยสารอาหารที่มี

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นแอมโมเนียม โดยปกติจุลินทรีย์จะทำการหมักย่อยเยื่อที่นิยมใช้ในสูตรอาหารชั้นได้เร็วกว่าโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ส่วนโปรตีนที่มีโครงสร้างสัมพันธ์คอนเดนส์แทนนินจะทำการหมักย่อยได้ช้ากว่าโปรตีนทั่วไป (Stifkens et al., 2022) ดังนั้นเมื่อทำการหมักย่อยอาหารชั้นร่วมกับอาหารหยาบจะพบความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ สูงกว่าการหมักย่อยอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว และจากผลการศึกษานี้อาหารหยาบที่มีปริมาณโปรตีนสูง (กระถิน) ความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ มีค่าไม่แตกต่างกับอาหารหยาบชนิดอื่น นั้นแสดงให้เห็นว่าการหมักย่อยโปรตีนในกระถินไม่ได้สูงตามสัดส่วนของโปรตีนที่มีอยู่ในอาหารหยาบนั้น

Table 3 *In vitro* dry matter digestibility (IVDMD), $\text{NH}_3\text{-N}$ and pH of *in vitro* fermentation of roughage sources (100) and roughage: concentrate ratio (50:50) incubation for 24 and 48 hr

Roughage ratios	Parameter	Roughage sources ^{1/}						SEM	P-value
		SC	BS	PS	LC	RS	NG		
100	Incubation for 24 hr								
	pH	6.60 ^{ab}	6.57 ^{ab}	6.48 ^b	6.57 ^{ab}	6.63 ^a	6.65 ^a	0.04	<0.01
	IVDMD (%DM)	13.43 ^d	18.95 ^b	21.53 ^a	12.77 ^d	11.01 ^e	14.61 ^c	0.40	<0.01
	NH ₃ -N (mgN/L)	17.8	19.6	19.1	16.6	15.0	17.4	0.01	0.05
	Incubation for 48 hr								
	pH	6.46 ^c	6.53 ^{bc}	6.52 ^{bc}	6.56 ^b	6.61 ^{ab}	6.68 ^a	0.04	0.65
	IVDMD (%DM)	14.29 ^b	20.30 ^a	21.60 ^a	14.01 ^b	15.98 ^b	15.91 ^b	1.14	<0.01
	50:50	Incubation for 24 hr							
pH		6.57	6.53	6.49	6.48	6.56	6.48	0.04	0.08
IVDMD (%DM)		16.20 ^b	19.84 ^a	21.82 ^a	19.72 ^a	18.28 ^{ab}	20.81 ^a	1.16	<0.01
NH ₃ -N (mgN/L)		30.67	31.81	36.51	28.34	36.18	41.34	7.72	0.13
Incubation for 48 hr									
pH		6.51	6.50	6.47	6.43	6.47	6.53	0.08	0.65
IVDMD (%DM)		20.16 ^b	23.51 ^a	24.62 ^a	21.84 ^{ab}	24.09 ^a	19.48 ^b	1.14	<0.01

a,b,c,d,e Significant difference at $P < 0.05$, SEM = standard error of the mean

^{1/} SC = Sugarcane, BS = Baby corn stalk, PS = Pineapple stem and leaves, LC = Leucaena, RS = Rice straw, NG = Napier grass

ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยง่าย

ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยง่ายที่ผลิตได้หลังจากการหมักย่อยอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว หรือหมักร่วมกับอาหารชั้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Table 4) พบว่าการหมักย่อยต้นสับปะรด และต้นข้าวโพดฟักอ่อนเพียงอย่างเดียวได้กรดไขมันระเหยง่ายรวม กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริกสูงกว่าอ้อย กระถิน หญ้าเนเปียร์ และฟางข้าว ($p < 0.01$) เมื่อพิจารณาสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิกพบว่าการหมักย่อยอาหารหยาบที่มี NFC สูงทำให้สัดส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิกต่ำกว่าการหมักย่อยอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ เช่น ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์ รวมทั้งกระถินอาหารหยาบที่มีค่า NFC ค่อนข้างสูง ($p < 0.01$) นั้นแสดงให้เห็นว่าอาหารหยาบที่มี NFC สูงจุลินทรีย์สามารถหมักย่อยได้เร็วและจุลินทรีย์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะผลิตกรดโพรพิโอนิกออกมาค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์กลุ่มที่หมักย่อยเยื่อ (Sawanon, 2018) จึงส่งผลให้สัดส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิกต่ำกว่าการหมักย่อยอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ เมื่อนำอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำมาทำการหมักย่อยร่วมกับอาหารชั้นจะเห็นได้ว่าเป็นการเพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันระเหยง่ายรวม กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริกให้เพิ่มสูงขึ้นได้ใกล้เคียงกับการหมักย่อยอาหารชั้นร่วมกับอาหารหยาบที่มี NFC สูง ยกเว้นการหมักย่อยอาหารชั้นร่วมกับอาหารหยาบที่มี NFC สูงและมีโปรตีนสูง (กระถิน) จะผลิตกรดไขมันระเหยง่าย (กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริก) ได้ต่ำกว่าอาหารหยาบชนิดอื่น ($p < 0.01$) อาจเป็นเพราะการหมักย่อยกระถินมีจุลินทรีย์ที่เข้ามาใช้ประโยชน์ได้แตกต่างจากจุลินทรีย์ที่หมักย่อยอาหารหยาบหรืออาหารชั้นที่มี NFC สูง (Villalba et al., 2021) และจุลินทรีย์ที่เข้ามาหมักย่อยกระถินสามารถผลิตผลผลิตสุดท้ายได้แตกต่างจากจุลินทรีย์ที่หมักย่อยแป้งและน้ำตาล นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักย่อยอาหารที่มี NFC สูง เช่นการหมักย่อยอาหารชั้นร่วมกับอาหารหยาบ ทั้งอาหารหยาบที่มี NFC สูงและต่ำ จะทำให้สัดส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิกลดลง หรือมีการผลิตกรดโพรพิโอนิกในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นหรือในทางกลับกันการผลิตกรดอะซิติกมีสัดส่วนลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มที่หมักย่อยแป้งหรือน้ำตาลเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

ผลผลิตแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์

ผลผลิตแก๊สรวม แก๊สมีเทน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตได้หลังจากการหมักย่อยอาหารหยาบเพียงอย่างเดียว หรือหมักร่วมกับอาหารชั้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Table 5) พบว่าการหมักย่อยต้นสับปะรดเพียงอย่างเดียวมีการผลิตแก๊สรวม (88.59 มิลลิลิตร/กรัมวัตถุดิบ) แก๊สมีเทน (14.46 มิลลิลิตร/กรัมวัตถุดิบ) และคาร์บอนไดออกไซด์ (72.13 มิลลิลิตร/กรัมวัตถุดิบ) สูงที่สุด รองลงมาเป็นอาหารหยาบที่มี NFC สูง (ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และอ้อย) ส่วนอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ (ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์) และกระถินมีการผลิตแก๊สต่ำที่สุด ($p < 0.01$) แต่เมื่อพิจารณาปริมาตรแก๊สที่ผลิตได้ต่อปริมาณวัตถุดิบที่ย่อยได้กลับพบว่า

การหมักย่อยอ้อยมีการผลิตแก๊สรวม แก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์สูงที่สุด รองลงมาคือ ฟางข้าว กระถิน หญ้าเนเปียร์ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรดมีการผลิตแก๊สต่อปริมาณวัตถุดิบที่น้อยสลายได้ต่ำที่สุด ($p < 0.01$) นั้นแสดงให้เห็นว่าอาหารหยาบที่มี NFC สูง (ต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรด) เมื่อมีการหมักย่อยแล้วจะปลดปล่อยแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาน้อยกว่าอาหารหยาบที่มี NFC ต่ำ (ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์) ในขณะที่อาหารหยาบที่มี NFC สูง (อ้อย และกระถิน) มีการปลดปล่อยแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาสูงซึ่งน่าจะเกิดจากโครงสร้างของเยื่อใยหรือองค์ประกอบชนิดอื่นนอกจาก NFC ที่มีผลต่อการปลดปล่อยแก๊ส เนื่องจากจุลินทรีย์ที่หมักย่อยเยื่อใยจะผลิตกรดไขมันระเหยง่ายทั้งกรดอะซิติก กรดบิวทิริก และคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาได้มากกว่าจุลินทรีย์ที่หมักย่อยแป้ง ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์บางส่วนจะถูกจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนเจนนำไปสังเคราะห์เป็นแก๊สมีเทนต่อไป (Sawanon, 2018) จึงทำให้การหมักย่อยอาหารที่มี NFC สูงมีการผลิตแก๊สมีเทนสูงกว่าอาหารที่มี NFC ต่ำ (Li et al., 2021)

Table 4 The short-chain fatty acid (SCFA) concentration of *in vitro* fermentation of roughage sources (100) and roughage: concentrate ratio (50:50) incubation for 24 hr

Roughage ratios	Parameters (mmol/L)	Roughage sources ^{1/}						SEM	P-value
		SC	BS	PS	LC	RS	NG		
100	Total VFA	328.64 ^b	346.79 ^{ab}	385.16 ^a	328.12 ^b	250.14 ^c	258.29 ^c	20.94	<0.01
	Acetic acid	236.24 ^{abc}	251.06 ^{ab}	281.06 ^a	239.34 ^{abc}	208.76 ^{bc}	194.0 ^c	26.57	<0.01
	Propionic acid	52.46 ^a	57.33 ^a	58.71 ^a	43.37 ^b	36.18 ^b	38.20 ^b	3.82	<0.01
	Butyric acid	20.11 ^b	23.72 ^a	26.76 ^a	18.08 ^{bc}	16.41 ^{cd}	14.44 ^d	1.61	<0.01
	Iso-butyric acid	1.64 ^b	1.95 ^{ab}	2.12 ^a	1.95 ^{ab}	1.72 ^{ab}	1.65 ^b	0.24	<0.05
	Isovaleric acid	8.14 ^b	9.96 ^{ab}	13.40 ^a	10.10 ^{ab}	8.16 ^b	8.10 ^b	0.24	<0.05
	Valeric acid	1.99 ^{ab}	2.75 ^{ab}	3.12 ^a	2.64 ^{ab}	1.81 ^b	1.88 ^b	0.60	<0.05
	Acetate/Propionate ratio	4.51 ^c	4.38 ^c	4.79 ^{bc}	5.52 ^{ab}	5.75 ^a	5.07 ^{abc}	0.47	<0.01
50:50	Total VFA	301.97 ^{ab}	327.03 ^a	339.59 ^a	250.14 ^b	327.03 ^a	298.40 ^{ab}	25.43	<0.01
	Acetic acid	196.30 ^{ab}	217.30 ^a	218.15 ^a	162.74 ^b	211.73 ^a	205.09 ^a	17.10	<0.01
	Propionic acid	51.68 ^{bc}	58.46 ^{ab}	66.06 ^a	46.40 ^c	47.58 ^c	49.69 ^{bc}	4.52	<0.01
	Butyric acid	33.71 ^{bc}	37.12 ^{ab}	40.45 ^a	31.69 ^{bc}	32.90 ^{bc}	30.49 ^c	3.18	<0.01
	Iso-butyric acid	0.43 ^c	2.44 ^{ab}	2.69 ^a	2.03 ^b	2.47 ^{ab}	2.43 ^{ab}	0.84	<0.01
	Iso-valeric acid	6.98 ^b	7.99 ^{ab}	8.21 ^a	6.89 ^b	7.35 ^{ab}	7.43 ^{ab}	0.42	<0.05
	Valeric acid	3.40 ^{ab}	3.68 ^{ab}	4.00 ^a	3.54 ^{ab}	3.19 ^b	3.25 ^{ab}	0.39	<0.05
	Acetate/Propionate ratio	3.80 ^{ab}	3.71 ^{ab}	3.31 ^b	3.81 ^{ab}	3.87 ^{ab}	4.14 ^a	0.33	<0.05

^{a,b,c} Significant difference at $p < 0.05$, SEM = standard error of the mean

^{1/} SC = Sugarcane, BS = Baby corn stalk, PS = Pineapple stem and leaves, LC = Leucaena, RS = Rice straw, NG = Napier grass

เมื่อทำการหมักย่อยอาหารหยาบร่วมกับอาหารข้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอ้อยมีการผลิตแก๊สรวม และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณวัตถุดิบของอาหารหยาบสูงที่สุด ($p < 0.01$) รองลงมา คือ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน ต้นสับปะรด กระถิน ฟางข้าว และหญ้าเนเปียร์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาตรแก๊สรวม มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตได้ต่อปริมาณวัตถุดิบที่น้อยได้ พบว่าการหมักย่อยอ้อยร่วมกับอาหารข้นมีการปลดปล่อยแก๊สสูงที่สุด ($p < 0.01$) รองลงมา คือ ต้นข้าวโพดฟักอ่อน หญ้าเนเปียร์ กระถิน ฟางข้าว และต้นสับปะรด ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอ้อย (อาหารหยาบที่มี NFC สูง) เมื่อหมักย่อยเพียงลำพังหรือหมักร่วมกับอาหารข้นจะผลิตแก๊ส โดยเฉพาะแก๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงที่สุด ในขณะที่อาหารหยาบที่มี NFC สูง (ต้นสับปะรด) กลับให้ผลในทางตรงข้ามกัน คือเป็นอาหารหยาบที่หมักย่อยแล้วมีการปลดปล่อยแก๊สออกมามากที่สุดซึ่งน่าจะเกิดจากโครงสร้างของเยื่อใยหรือสารอาหารบางชนิดที่มีผลต่อการเข้ามาหมักย่อยของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน (Sawanon, 2018) ในขณะที่การหมักย่อยกระถินจะมีการผลิตแก๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ระหว่างอาหารหยาบที่มี NFC สูงและต่ำ เนื่องจากกระถินมีสารประกอบแทนนินค่อนข้างสูง สอดคล้องกับ Piñeiro-Vázquez et al. (2018); Montoya-Flores et al. (2020) และ Stifkens et al. (2022) ได้รายงานไว้ว่ากระถินมีคอนเดนส์แทนนินสูงเมื่อนำมาใช้ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจะช่วยลดการผลิตแก๊สมีเทนจากการหมักย่อยในกระเพาะหมักได้ ส่วนฟางข้าว (อาหารหยาบที่มี NFC สูง) เมื่อหมักย่อยเพียงลำพังจะปลดปล่อยแก๊สออกมาสูงกว่าหญ้าเนเปียร์ แต่เมื่อนำฟางข้าวหมักร่วมกับอาหารข้นกลับพบว่าปลดปล่อยแก๊สออกมาน้อยกว่าหญ้าเนเปียร์ นั้นแสดงให้เห็นว่าอาหารหยาบคุณภาพต่ำ (ฟางข้าว) เมื่อหมักย่อยเพียงลำพังจุลินทรีย์จะมีการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกออกมาสูง แต่เมื่อหมักย่อยร่วมกับอาหารข้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยดีขึ้นและลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจก

Table 5 The methane and carbon dioxide productions of *in vitro* fermentation of roughage sources (100) and roughage: concentrate ratio (50:50) incubation for 24 hr

Roughage ratios	Parameters	Roughage sources ^{1/}						SEM	p-value
		SC	BS	PS	LC	RS	NG		
100	Total gas (mL/g DM)	79.33 ^a	78.61 ^a	88.59 ^a	63.56 ^b	64.93 ^b	62.96 ^b	8.44	<0.05
	Total CO ₂ (mL/g DM)	66.09 ^b	66.01 ^b	74.13 ^a	55.11 ^c	53.22 ^d	51.71 ^e	0.29	<0.01
	Total CH ₄ (mL/g DM)	13.24 ^b	12.59 ^c	14.46 ^a	8.45 ^e	11.71 ^d	11.25 ^d	0.30	<0.01
	Total gas (mL/g IVDMD)	590.69 ^a	414.82 ^e	411.47 ^f	497.72 ^c	589.73 ^b	430.94 ^d	0.00	<0.01
	Total CO ₂ (mL/g IVDMD)	492.10 ^a	348.35 ^e	344.33 ^f	431.56 ^c	483.37 ^b	353.95 ^c	1.70	<0.01
	Total CH ₄ (mL/g IVDMD)	98.59 ^b	66.47 ^d	67.15 ^d	66.17 ^d	106.37 ^a	76.98 ^c	1.70	<0.01
50:50	Total gas (mL/g DM)	107.35 ^a	81.54 ^b	71.86 ^{bc}	72.16 ^{bc}	68.28 ^{bc}	66.73 ^c	9.49	<0.01
	Total CO ₂ (mL/g DM)	68.82 ^a	52.54 ^b	46.03 ^d	48.64 ^c	42.46 ^e	42.05 ^e	0.94	<0.01
	Total CH ₄ (mL/g DM)	38.53 ^a	29.00 ^b	25.83 ^c	23.52 ^d	25.81 ^c	24.67 ^{cd}	1.47	<0.01
	Total gas (mL/g IVDMD)	532.49 ^a	346.83 ^b	291.88 ^e	330.43 ^d	283.44 ^f	342.56 ^b	0.00	<0.01
	Total CO ₂ (mL/g IVDMD)	341.37 ^a	223.47 ^b	186.96 ^c	222.69 ^b	176.26 ^d	215.88 ^b	4.42	<0.01
	Total CH ₄ (mL/g IVDMD)	191.12 ^a	123.36 ^b	104.92 ^c	107.71 ^c	107.17 ^c	126.67 ^b	4.41	<0.01

a,b,c Significant difference at $p < 0.05$, SEM = standard error of the mean

^{1/} SC = Sugarcane, BS = Baby corn stalk, PS = Pineapple stem and leaves, LC = Leucaena, RS = Rice straw, NG = Napier grass

สรุปผลการทดลอง

การหมักย่อยต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรดเพียงลำพังมีความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ การผลิตแก๊สสะสม และการดักไขมันระเหยง่ายสายสั้นสูงกว่าย่อย กระถิน กล้วยเนเปียร์ และฟางข้าว ในขณะที่เดียวกันการหมักย่อยต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรดมีการปลดปล่อยแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณวัตถุดิบที่ย่อยได้ต่ำกว่าอาหารหยาบชนิดอื่น เมื่อทำการหมักย่อยต้นข้าวโพดฟักอ่อน และต้นสับปะรดร่วมกับอาหารข้น (50:50) ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบสูงใกล้เคียงกับอาหารหยาบชนิดอื่น แต่มีการผลิตแก๊สสะสม และมีการปลดปล่อยเรื้อนกระจก (แก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์) ต่อปริมาณวัตถุดิบที่ย่อยได้ต่ำ ดังนั้นต้นข้าวโพดฟักอ่อนและต้นสับปะรดเป็นอาหารหยาบที่มีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องและในกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีการปลดปล่อยแก๊สเรื้อนกระจกน้อยกว่าอาหารหยาบชนิดอื่น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรม จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (สัญญาเลขที่ N41A670191) ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และสมมุติฐาน: พรรณทิพา วรณพุม, สุริยะ สะวานนท์. การออกแบบการทดลอง การเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผลและวิจารณ์ผล การแสดงการเปรียบเทียบข้อมูลกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้หรือทฤษฎี: พรรณทิพา วรณพุม, อัญชลี คงประดิษฐ์, สุริยะ สะวานนท์. การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความ การตรวจสอบความถูกต้องของไวยากรณ์: พรรณทิพา วรณพุม, อัญชลี คงประดิษฐ์, ภูมิพงศ์ บุญแสน, สุริยะ สะวานนท์.

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (2016). **Official Methods of Analysis**. Association of Official Analysis Chemists.
 AOAC. (2019). **Official Methods of Analysis**. Association of Official Analysis Chemists.
 Cherdthong, A., Rakwongrit, D., Wachirapakorn, C., Haitook, T., Khantharin, S., Tangmutthapattarakun, G., & Saising, T. (2015). Effect of leucaena silage and Napier Pakchong 1 silage supplementation on feed intake, rumen ecology and growth

- performance in Thai native cattle. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 40(Suppl.1), 484-490. (in Thai). https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=P018%20Ani_35.pdf&id=1885&keeptrack=2.
- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). **Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications)**. U.S.D.A. Agricultural Research Service.
- Hattakum, C., Kanjanapruthipong, J., Nakthong, S., Wongchawalit, J., Piamya, P., & Sawanon, S. (2019). Pineapple stem by-product as a feed source for growth performance, ruminal fermentation, carcass and meat quality of Holstein steers. *South African Journal of Animal Science*, 49(1), 147-155. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i1.17>.
- Haynes, R. J., & Williams, P. H. (1993). Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. *Advances in Agronomy*, 49(1), 119-199. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60794-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60794-4).
- Hanlon, M. E., Simoni, M., Moorby, J. M., Righi, F., Tsiplakou, E., Kantas, D., & Foskolos, A. (2023). Effects of the addition of non-fibre carbohydrates with different rumen degradation rates in dairy cow high-forage diets using the Rumen Simulation Technique. *Animal*, 17(4), 100732. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100732>.
- ISO/IEC 17025. (2017). **General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories**. International Organization for Standardization.
- Khongpradit, A., Boonsaen, P., Homwong, N., Suzuki, Y., Koike, S., Sawanon, S., & Kobayashi, Y. (2020). Effect of pineapple stem starch feeding on rumen microbial fermentation, blood lipid profile, and growth performance of fattening cattle. *Animal Science Journal*, 91(1), e13459. <https://doi.org/10.1111/asj.13459>.
- Khongpradit, A., Boonsaen, P., Homwong, N., Buaphan, S., Maitreejit, W., Karnjanasirm, K., & Sawanon, S. (2022). Effect of pineapple stem starch in concentrate diet on rumen fermentation in beef cattle and *in situ* dry matter degradability. *Agriculture and Natural Resource*, 56, 277-286. <https://doi.org/10.34044/j.anres.2022.56.2.06>.
- Kraiprom, T., Latah, A., & Jantararat, S. (2021). The effects of level concentrate and napier grass silage as feed in postweaning female goat. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49(Suppl.2), 951-959. (in Thai). https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=130_082-641.pdf&id=4655&keeptrack=1
- Li, Y., Lv, J., Wang, J., Zhou, S., Zhang, G., Wei, B., Sun, Y., Lan, Y.-X., Dou, X., & Zhang, Y. (2021). Changes in carbohydrate composition in fermented total mixed ration and its effects on *in vitro* methane production and microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.738334>.
- McDougall, E. (1948). Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 43(1), 99-109.
- Menke, H. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28(1), 7-55.
- Montoya-Flores, M. D., Molina-Botero, I. C., Arango, J., Romano-Muñoz, J. L., Solorio-Sánchez, F. J., Aguilar-Pérez, C. F., & Ku-Vera, J. C. (2020). Effect of dried leaves of *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, rumen microbial population, and enteric methane production in crossbred heifers. *Animals*, 10(2), 300-317. <https://doi.org/10.3390/ani10020300>.
- Morthong, N., Pattarajinda, V., & Sangsritavong, S. (2012). Effect of different cutting date-sugarcane silage to replace corn silage on dairy cattle performance. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 40(Suppl.2), 133-136. (in Thai). <https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=294.pdf&id=696&keeptrack=19>.
- Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499- 503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>.
- Padlom, A., Homwong, N., Boonsaen, P., Buaphan, S., & Sawanon, S. (2018). Kinetic gas production and diet digestibility in *in vitro* of Napier hay, rice straw, concentrate and total mix rations with or without palm oil. In **Proceedings of the 15th National Academic Conference, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus**, pp. 98-105. Kasetsart University. (in Thai).
- Parnian-khajehdzaj, F., & Moharramnejad, S. (2025). Forage maize type influences on methane emissions, nutrient degradation, and fermentation profiles in ruminants. *Scientific Reports*, 15(1), 19433. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-03936-2>.
- Piñeiro-Vázquez, A. T., Canul-Solis, J. R., Jiménez-Ferrer, G. O., Alayón-Gamboa, J. A., Chay-Canul, A. J., Ayala-Burgos, A. J., Aguilar-Pérez, C. F., & Ku-Vera, J. C. (2018). Effect of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, methane production and population of rumen protozoa in heifers fed low-quality forage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(11), 1738-1746. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0192>.
- Pintadis, S., Boonsaen, P., Hattakum, C., Homwong, N., & Sawanon, S. (2020). Effects of concentrate levels and pineapple stem on growth performance, carcass and meat quality of dairy steers. *Tropical Animal Health and Production*, 52(4), 1911-1917. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02195-4>.
- R Core Team. (2024). **R: A Language and Environment for Statistical Computing [Software]**: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from: <https://www.r-project.org>.
- Sawanon, S. (2018). **Rumen Microbes and Utilization**. 2nd Ed. Magic Publication. (in Thai).
- Stifkens, A., Matthews, E. M., McSweeney, C. S., & Charmley, E. (2022). Increasing the proportion of *Leucaena leucocephala* in hay-fed beef steers reduces methane yield. *Animal Production Science*, 62(7), 622-632. <https://doi.org/10.1071/AN21576>.
- Working Committee of Thai Feeding Standard for Ruminant. (2008). **Nutrient Requirements of Beef Cattle in Thailand**. Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives. (in Thai). <https://nutrition.dld.go.th/images/knowledge/NRCthai2008.pdf>.

- Van Soest, P. J. (1994). **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Cornell University Press. <https://doi.10.7591/9781501732355>.
- Villalba, J. J., Ates, S., & MacAdam, J. W. (2021). Review: non-fiber carbohydrates in forages and their influence on beef production systems. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 5(1), 566338. <https://doi.10.3389/fsufs.2021.566338>.
- Zainuddin, M. F., Shamsudin, R., Mokhtar, M. N., & Ismail, D. (2014). Physicochemical properties of pineapple plant waste fibres from the leaves and stems of different varieties. **BioResources**, 9(3), 5311-5324. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5311-5324>.