Recent Science and Technology

Journal homepage: https:// www.tci-thaijo.org/index.php/rmutsvrj/index

ISSN: 3057-0786 (Online)

Research Article

การปรับปรุงคุณภาพทางโภชนะและการย่อยได้ของข้าวโพดสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค *in vitro*

Nutrient Quality and Digestibility Improvement of Suwan Corn Ensiled with Microorganisms by *in vitro* Technique

นัทธ์ชนัน บุญคง ชัญญา ปลื้มใจ พงศ์ธร คงมั่น ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ พนัดดา บึงศรีสวัสดิ์ เสวก เกียรติสมภพ และ ก.ทีปลักษณ์ ระงับเหตุ *

Natchanan Boonkong, Chanya Plumejai, Phongthorn Kongmun, Chaiyapoom Banchasak, Panatda Bungsrisawat, Savek Kiatsomphob and K.Teepalak Rangubhet *

ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2023-10-21
Revised: 2024-05-30
Accepted: 2024-07-23

Keywords:

corn silage;
Bacillus subtillis;
microbial activator super LDD2;
silage quality;
in vitro technique

Inoculation of *Bacillus subtillis* (BS) in corn silage improves the quality of the silage. Moreover, the microbial activator super LDD2 (LDD2) contains microorganisms that digest fiber and can produce lactic acid. Therefore, the objective is to use BS and LDD2 to ensile with corn to improve the quality of silage and its digestibility in the rumen. The experiment was designed as a 3 × 4 factorial, completely randomized design. Three Suwan corn varieties were used: 4452, 5731, and 5819 (factor 1) along with four groups of microorganism inoculations: whole plant corn, corn silage, corn silage ensiled with BS and corn silage ensiled with LDD2 (factor 2). The results showed that the corn varieties did not affect the quality and digestibility of corn silage ($P>0.05$), but did affect neutral detergent fiber and soluble carbohydrates ($P<0.05$). The interaction between corn varieties and microbial inoculation affected crude protein in corn silage ($P<0.05$). Inoculation of *Bacillus subtilis* and microbial activator super LDD2 resulted in an increase in crude protein ($P<0.05$). In addition, the digestibility of dry matter, crude protein, and neutral detergent fiber in the microbial inoculation treatments was better than the control corn silage ($P<0.05$). These treatments also resulted in a higher total bacterial count ($P<0.05$) and increased total volatile fatty acids in the rumen ($P<0.05$). Therefore, ensiling Suwan corn with BS and LDD2 can increase the quality of corn silage, affecting its nutritional value and digestibility, and can be considered an alternative option for improving roughage quality.

© 2025 Boonkong, N., Plumejai, C., Kongmun, P., Banchasak, C., Bungsrisawat, P., Kiatsomphob, S. and Rangubhet, K.T. Recent Science and Technology published by Rajamangala University of Technology Srivijaya

*** Corresponding author.**

E-mail address: *kteepalak.r@ku.ac.th*

Cite this article as:

Boonkong, N., Plumejai, C., Kongmun, P., Banchasak, C., Bungsrisawat, P., Kiatsomphob, S. and Rangubhet, K.T. 2025. Nutrient Quality and Digestibility Improvement of Suwan Corn Ensiled with Microorganisms by *in vitro* Technique. **Recent Science and Technology** 17(3): 261001.

บทคัดย่อ

การเสริม *Bacillus subtillis* (BS) ในข้าวโพดหมักเป็นการเพิ่มคุณภาพของอาหารหมัก นอกจากนี้สารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ยังประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใยและสามารถสร้างกรดแลคติกได้ ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์ในการใช้ BS และสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 หมักร่วมกับข้าวโพดเพื่อเพิ่มคุณภาพอาหารหมักและความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะรูเมน วางแผนการทดลองเป็น 3 × 4 แฟคทอเรียล แบบสุ่มสมบูรณ์ ใช้ข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณ จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ 4452 5731 และ 5819 (ปัจจัยที่ 1) ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ จำนวน 4 กลุ่ม คือ ข้าวโพดสด ข้าวโพดหมัก ข้าวโพดหมักร่วมกับ BS และข้าวโพดหมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 (ปัจจัยที่ 2) ผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ข้าวโพดไม่ส่งผลต่อคุณภาพและความสามารถในการย่อยได้ของข้าวโพดหมัก ($P>0.05$) แต่ส่งผลให้เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลางและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ต่างกัน ($P<0.05$) อิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์และการเสริมจุลินทรีย์ส่งผลต่อโปรตีนหยาบในข้าวโพดหมัก ($P<0.05$) การเสริม BS และสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ส่งผลให้โปรตีนหยาบเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) นอกจากนี้ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลางของข้าวโพดหมักด้วยจุลินทรีย์ ทุกกลุ่มให้ค่าดีกว่าข้าวโพดหมักกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่งผลให้มีปริมาณแบคทีเรียรวมที่ดีขึ้น ($P<0.05$) และเพิ่มผลผลิตกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะรูเมน ($P<0.05$) ดังนั้นการหมักข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณ ร่วมกับ BS และสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 สามารถเพิ่มคุณภาพของข้าวโพดหมัก ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนะและความสามารถในการย่อยได้ ซึ่งนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงคุณภาพอาหารหยาบสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

คำสำคัญ: ข้าวโพดหมัก, บาซิลลัส ซับทิลิส, สารเร่งซุปเปอร์ พด.2, คุณภาพอาหารหมัก, เทคนิค in vitro

1. บทนำ

พืชหมักเป็นการถนอมอาหารสัตว์ในช่วงขาดแคลนพืชอาหารสดสำหรับเลี้ยงสัตว์ ซึ่งวิธีการถนอมพืชอาหารสัตว์ สามารถทำได้ในรูปของพืชหมัก (silage) ทำได้ในทุกฤดูกาล โดยการหมักพืชอาหารสัตว์ในสภาวะไร้ออกซิเจน ทำให้อาหารสัตว์มีสภาพเป็นกรด จุลินทรีย์ก่อโทษไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงทำให้คุณภาพและคุณค่าทางโภชนะของพืชหมักนั้นยังคงสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน (Department of Livestock Development, 2001) ข้าวโพดสายพันธุ์สุวรรณปรับปรุงพันธุ์โดยศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติไร่สุวรรณ (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) เป็นการนำสายพันธุ์แท้เกษตรศาสตร์มาผสมได้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว เช่น พันธุ์สุวรรณ 4452 พันธุ์สุวรรณ 5731 พันธุ์สุวรรณ 5819 เป็นต้น เพื่อใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ลักษณะเด่น คือ ให้ผลผลิตต่อไร่สูง ลำต้นอวบ ฝักใหญ่ เมล็ดเต็ม และโปรตีนสูง เหมาะสำหรับการทำพืชอาหารหมักเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดสายพันธุ์อื่น ๆ อายุการเก็บเกี่ยวต้นข้าวโพดพร้อมฝัก 85 - 110 วัน ซึ่งมีปริมาณแป้ง 50 เปอร์เซ็นต์ (milk line 50%) ของเมล็ด ส่งผลให้มีความน่ากินสูง ย่อยได้ง่าย อุดมด้วยพลังงาน โปรตีน และวิตามิน ผลผลิตเฉลี่ย 1,430 - 1,861 กิโลกรัม/ไร่ นอกจากนี้ข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์สุวรรณต้านทานโรคราน้ำค้างและโรคราสนิมได้ (Aekatasanawan *et al*., 2015) ความต้องการทางโภชนะของสัตว์เป็นปัจจัยที่เกษตรกรให้ความสำคัญ เพื่อให้สัตว์มีสุขภาพดีส่งผลต่อผลผลิตที่ได้ตามมาตรฐานและมีคุณภาพ การใช้สารเสริมชีวนะ (probiotic) คือ การเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร เพื่อให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร นอกจากจะส่งผลดีต่อสุขภาพของสัตว์แล้ว ยังมีช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย การเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรค และทำให้สัตว์เจริญเติบโตมีสุขภาพดี ซึ่งถือเป็นการลดการใช้ยาต้านจุลินทรีย์ในการผลิตสัตว์ จุลินทรีย์ที่เสริมในพืชอาหารหมักสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรีย เช่น *Lactobacillus acidophilus* (Rahman *et al*., 2013), *Bacillus subtilis* (Davis *et al*., 2008) เป็นต้น เชื้อรา เช่น *Asprtgillus nigere* (Seo *et al*., 2010), *Candida pintolopesii* (DaŞkıran *et al*., 2012) และ *Saccharomyces cerevisiae* (Bai *et al*., 2013) เป็นต้น สารเร่งซุปเปอร์ พด.2 เป็นผลิตภัณฑ์จากกรมพัฒนาที่ดิน (Department of Land Development, 2023) ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์มีคุณสมบัติในการย่อยสลายองค์ประกอบของพืชที่มีลักษณะสด มีความชื้นสูง โดยดำเนินกิจกรรมทั้งในสภาพที่มีอากาศและในสภาวะไร้อากาศ ประกอบด้วยจุลินทรีย์ประเภทยีสต์ (*Pichia* sp.) แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (*Lactobacillus* sp.) แบคทีเรียย่อยสลายโปรตีน (*Bacillus* sp.) แบคทีเรียย่อยสลายไขมัน (*Bacillus* sp.) และแบคทีเรียย่อยสลายอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (*Burkholderia* sp.) ซึ่งจุลินทรีย์ที่ดีซึ่งจะช่วยควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ (Fuller,1989) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารและการดูดซึมสารอาหาร (Vieira *et al*., 2014) และช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน (Reid, 2008) ดังนั้นการหมักข้าวโพดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในปริมาณ 1×10^5 cfu/g มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักอาหารหยาบ ได้ผลผลิตเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก (Elferink *et al*., 2000; Guan *et al*., 2020) ซึ่งค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำลง เป็นผลมาจากกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการหมัก จึงทำให้คุณภาพของอาหารหมักยังคงสภาพ จึงทำการศึกษาวิจัยการปรับปรุงคุณภาพจากการหมักข้าวโพดลูกผสมสุวรรณร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกที่สร้างกรดแลคติกในอาหารหมัก และประเมินความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะโดยใช้เทคนิคแบบ *in vitro* เพื่อการใช้ประโยชน์จากข้าวโพดลูกผสมสุวรรณหมักสำหรับเป็นแหล่งอาหารหยาบของสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การทำข้าวโพดหมัก

สุ่มตัดข้าวโพดสายพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452, 5731 และ 5819 อายุ 85 - 90 วัน ณ ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร สถานีวิจัยลพบุรี (โคกเจริญ) เพื่อจัดเก็บเป็นตัวอย่างต้นข้าวโพดสดพร้อมฝัก และนำมาทำข้าวโพดหมักโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ 1. หมักร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ได้รับการสนับสนุนจากภาคเอกชน ในปริมาณ $1x10^5$ cfu ต่อกรัมของข้าวโพดสด 2. หมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 เพื่อช่วยเร่งกระบวนการหมักข้าวโพดให้ดีขึ้นทั้งด้านกายภาพ และคุณค่าทางโภชนะ ในปริมาณ 5 กรัมต่อน้ำหนักข้าวโพดสด 1 กิโลกรัม ซึ่งสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ง่าย จึงเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ จึงส่งผลต่อประชากรของจุลินทรีย์ จะมีจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแลคติกอยู่ $1x10^5$ cfu ต่อกรัมของข้าวโพดสด เพื่อให้ข้าวโพดหมักมีปริมาณกรดแลคติกในระดับที่เหมาะสม โดยทำการหมักข้าวโพดแต่ละกลุ่มการทดลองในถังหมักขนาด 1 กิโลกรัม จำนวนกลุ่มละ 5 ถัง เป็นเวลา 21 วัน

2.2 การวางแผนทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ 3×4 Factorial in Completely Randomized design (CRD) จำนวน 12 กลุ่มซึ่งมีข้าวโพดสดก่อนทำการหมักเป็นชุดควบคุม 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ซ้ำ จำนวนรวมทั้งสิ้น 60 หน่วยทดลอง โดยมี 2 ปัจจัยในการทดลอง คือ ปัจจัยแรก ศึกษาอิทธิพลของสายพันธุ์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452, พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5731 และ พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5819 ปัจจัยที่สอง ศึกษาอิทธิพลของการใช้จุลินทรีย์ ในการหมักข้าวโพด โดยมีกลุ่มอาหารทดลองดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารชุดควบคุม (Fresh) ประกอบด้วย

1. ข้าวโพดสดก่อนหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452
2. ข้าวโพดสดก่อนหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5731
3. ข้าวโพดสดก่อนหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5819

กลุ่มที่ 2 อาหารหมัก (Silage) ประกอบด้วย

1. ข้าวโพดหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452
2. ข้าวโพดหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5731
3. ข้าวโพดหมัก พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5819

กลุ่มที่ 3 อาหารหมักร่วมกับจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* (Silage+BS) ประกอบด้วย

1. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452 หมักร่วมกับ *Bacillus subtilis*
2. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5731 ร่วมกับ *Bacillus subtilis*
3. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5819 ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

กลุ่มที่ 4 อาหารหมักร่วมกับ สารเร่งซุปเปอร์ พด.2 (Silage+LDD2) ประกอบด้วย

1. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 4452 หมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด.2
2. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5731 หมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด.2
3. ข้าวโพด พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสุวรรณ 5819 หมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด.2

2.3 การประเมินคุณภาพด้านกายภาพของข้าวโพดหมัก

การประเมินคุณภาพของข้าวโพดหมักโดยจะให้คะแนนจากการประเมิน กลิ่น เนื้อพืชหมัก และสี โดยการสังเกต ตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter ตามหลักเกณฑ์ของ Panichpol *et al*. (2004)

2.4 การประเมินคุณค่าทางเคมีของข้าวโพดหมัก

การประเมินคุณค่าทางโภชนะของต้นข้าวโพดสด และข้าวโพดหมักที่กระบวนการหมักสมบูรณ์แล้ว 21 วัน ได้แก่ วัตถุแห้ง เถ้า โปรตีนหยาบ ไขมัน เยื่อใยหยาบ และพลังงาน ตามวิธีการวิเคราะห์ของ AOAC (1990) และ Goering and Van Soest (1970)

2.5 การประเมินความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในกระเพาะรูเมน

การประเมินความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในกระเพาะรูเมนของข้าวโพดหมัก โดยจำลองสภาพการหมักแบบไร้อากาศด้วยวิธี *In vitro* true digestibility โดยเครื่อง ANKOM DAISY II Incubator (Tassone *et al*., 2020) เพื่อหาปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ในกระเพาะรูเมน และวิเคราะห์ หาอัตราการย่อยสลายของโภชนะด้วยเครื่อง ANKOM^{RF} Gas Production โดยใช้น้ำลายเทียมจากการเตรียมสารเคมีร่วมกับน้ำย่อยจากกระเพาะรูเมนของโคที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์โคเนื้อ สหกรณ์กำแพงแสน จำกัด และสามารถคำนวณได้ ดังนี้ IVTDMD (%DM) = (100-(W3-(W1×C))×100/(W2×DM) เมื่อ C= น้ำหนักถุงไนล่อนเปล่าหลังอบ/น้ำหนักถุงเริ่มต้น W_1 = น้ำหนักถุงเปล่าW_2= น้ำหนักตัวอย่าง และW3 = น้ำหนักถุงพร้อมตัวอย่างหลังจากการย่อย NDF (Tassone *et al*., 2020)

2.6 ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี total bacteria culture plate โดยเก็บตัวอย่างของเหลวจากการทดลองด้วยเทคนิค *in vitro* และทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นในปริมาตร $10×10^{-5}$ มิลลิตร

จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ anaerobic bacteria ตามวิธีการของ Grubb and Dehority (1976) และบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อออกมานับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย การนับเซลล์โปรโตซัวจากกล้องจุลทรรศน์โดยเก็บตัวอย่างของเหลวจากการทดลองด้วยเทคนิค *in vitro* ในปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำมาผสมกับสารละลาย methyl green formalin saline เพื่อทำการตรึงโปรโตซัว เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมานับเซลล์ของโปรโตซัวโดยใช้ปริมาณ 0.1 มิลลิตรหยดลงบน counting chamber (0.1 ตารางมิลลิเมตร) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.7 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนของอิทธิพลในแต่ละปัจจัยโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2022) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มอาหารทดลองด้วยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05 โดยมีแบบจำลองทางสถิติของการทดลองดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ Y_{ijk} = ค่าสังเกตของหน่วยทดลองจากอิทธิพลร่วมระดับที่ i ของปัจจัย A, ระดับที่ j ของปัจจัย B ซ้ำที่ k, μ = ค่าเฉลี่ยรวมของค่าสังเกตทั้งหมดในการทดลอง, A_i = อิทธิพลของสายพันธุ์ข้าวโพด เมื่อ i = 1, 2, และ 3, B_j = อิทธิพลของการหมักข้าวโพดร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติก เมื่อ j = 1, 2, 3, และ 4, AB_{ij} = อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย A และ B, ε_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณและข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์

ผลการวิเคราะห์คุณภาพด้านลักษณะทางกายภาพ ดังแสดงใน Table 1 พบว่าสายพันธุ์ของข้าวโพดไม่มีอิทธิพลร่วมกับการหมักด้วยจุลินทรีย์ ข้าวโพดหมักกลุ่มที่เสริมจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* หรือกลุ่มที่เสริมด้วยสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 และข้าวโพดหมักที่ไม่ได้เสริมจุลินทรีย์ ให้คุณภาพทางกายภาพในระดับดีมากโดยไม่แตกต่าง (P>0.05) จากกลุ่มข้าวโพดสด ข้าวโพดหมักทั้ง 3 สายพันธุ์ กลิ่น เนื้อสัมผัส และค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ซึ่งสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อสีของพืชหมักและคะแนนทางกายภาพโดยรวม พบว่าข้าวโพดสุวรรณ 5819 ให้ค่าคะแนนของกลิ่นดีที่สุด 2.60 (P<0.05) และให้ค่าคะแนนรวมสูงสุด 21.52 คะแนน (P<0.05) และพบว่าการเสริมจุลินทรีย์ส่งผลให้คุณภาพทางกายภาพดีขึ้นในทุก ๆ ด้าน (P<0.05) ค่าคะแนนรวมของข้าวโพดหมักด้วยจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* และกลุ่มที่เสริมด้วยสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 เป็น 22.29 และ 21.04 ตามลำดับ มีค่าสูงกว่า (P<0.05) ข้าวโพดสด (20.08) และข้าวโพดหมักกลุ่มควบคุม (21.45) ข้าวโพดหมักทุกสายพันธุ์มีค่า pH ระหว่าง 3.5 – 4.2 เป็นค่าที่ดีที่สุดของอาหารหมัก (Panichpol *et al*., 2004) การเสริมจุลินทรีย์ส่งผลให้มีค่า pH ลดลง เนื่องจากในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจุลินทรีย์ *Lactobacillus* sp. มีคุณสมบัติในการหมักย่อยองค์ประกอบของพืชที่มีลักษณะสด อวบน้ำ (Department of Land Development, 2023) และมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ง่าย จุลินทรีย์สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในการผลิตกรดแลคติก ถ้ามีปริมาณกรดแลคติกที่มากขึ้นจะส่งผลต่อค่า pH ที่ลดต่ำลง ทำให้ข้าวโพดมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี (Lounglawan and Suksombat, 2015)

Table 1 Physical quality of Suwan corn and Suwan corn silage ensiled with microorganisms

Treatment		Smell	Texture	Color	pH	Total score[1]
Factor 1	**Factor 2**					
Suwan 4452	Fresh	8.20^{c}	3.90^{a}	2.10^{d}	4.91^{a}	20.11^{d}
	Silage	10.12^{b}	3.30^{b}	2.60^{b}	4.11^{b}	21.13^{c}
	Silage+BS[2]	11.50^{a}	3.10^{b}	2.75^{a}	3.54^{c}	21.89^{b}
	Silage+LDD2[3]	10.55^{b}	2.90^{b}	2.45^{c}	3.97^{b}	20.87^{c}
Suwan 5731	Fresh	8.40^{c}	3.70^{a}	2.00^{d}	4.96^{a}	20.06^{d}
	Silage	10.68^{b}	3.50^{b}	2.50^{b}	3.72^{bc}	21.40^{c}
	Silage+BS[2]	11.23^{a}	3.20^{b}	2.80^{a}	3.94^{b}	22.17^{ab}
	Silage+LDD2[3]	10.93^{ab}	2.80^{b}	2.50^{b}	3.66^{b}	20.89^{c}

Table 1 (Continuous)

Treatment		Smell	Texture	Color	pH	Total score[1]
Factor 1	**Factor 2**					
Suwan 5819	Fresh	8.10^{c}	3.80^{a}	2.20^{d}	4.97^{a}	20.07^{d}
	Silage	10.75^{b}	3.60^{b}	2.70^{ab}	3.77^{bc}	21.82^{b}
	Silage+BS[2]	11.84^{a}	3.30^{b}	2.90^{a}	3.76^{bc}	22.80^{a}
	Silage+LDD2[3]	11.12^{ab}	3.00^{b}	2.60^{b}	3.65^{bc}	21.37^{c}
SEM[4]		1.32	0.36	0.28	0.55	0.87
P-values	Treatment	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
P-values (Significant effect due to corn breed)	Suwan 4452	10.09	3.30	2.48 ^{b}	4.13	21.00 ^{b}
	Suwan 5731	10.31	3.30	2.45 ^{b}	4.07	21.13 ^{a}
	Suwan 5819	10.45	3.43	2.60 ^{a}	4.04	21.52 ^{a}
	Breed	0.204	0.226	<0.05	0.78	0.03
P-value (Significant effect due to inoculation)	Fresh	8.23 ^{c}	3.80 ^{a}	2.10 ^{c}	4.95 ^{a}	20.08 ^{c}
	Silage	10.52 ^{b}	3.47 ^{b}	2.60 ^{b}	3.87 ^{b}	21.45 ^{b}
	Silage+BS[2]	11.52 ^{a}	3.20 ^{b}	2.82 ^{a}	3.75 ^{b}	22.29 ^{a}
	Silage+LDD2[3]	10.87 $^{a\ b}$	2.90 ^{c}	2.52 ^{b}	3.76 ^{b}	21.04 ^{b}
	Inoculation	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Interaction	Breed* Treatment	0.33	0.07	0.55	0.57	0.64

[1] Total score 20 – 25 = excellent, 15 – 19 = good, 6 – 4 = medium, and 0 – 5 = bad.

[2] BS = *Bacillus subtilis*, [3]LDD2 = Microbial Activator Super LDD2, [4]SEM = standard error of mean.

[abcd] Means (n=5) with different superscripts within the same column under the same factor are significantly different among treatments (P < 0.05).

3.2 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางเคมีของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณและข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์

เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของข้าวโพดหมัก ให้ผลดังแสดงใน Table 2 โดยพบว่าสายพันธุ์ของข้าวโพดมีอิทธิพลร่วมกับการเสริมจุลินทรีย์ ซึ่งส่งผลต่อค่าอินทรีย์วัตถุ อนินทรีย์วัตถุ และกรดแลคติก (P< 0.05) ในขณะที่อิทธิพลเดี่ยวของสายพันธุ์ข้าวโพด และการเสริมจุลินทรีย์ไม่ส่งผลต่อค่าอินทรียวัตถุและอนินทรีย์วัตถุ (P>0.05) แต่สายพันธุ์ของข้าวโพดมีอิทธิพลต่อปริมาณกรดแลคติก (P<0.05) และปริมาณของโปรตีนหยาบ (P<0.05) โดยพบว่าข้าวโพดสุวรรณ 5731 และ 5819 ให้ค่ากรดแลคติก (6.01 และ 6.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ที่สูงกว่าข้าวโพดสุวรรณ 4452 (5.57 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากต้นข้าวโพดสดที่เก็บเกี่ยวในระยะเมล็ดแป้ง (85-110 วัน) จะมีค่า WSC สูงกว่าระยะเมล็ดแข็ง ซึ่งถ้าปริมาณ WSC เพียงพอจะทำให้แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเจริญเติบโตมีผลให้ค่า pH ลดลง และมีปริมาณของโปรตีนหยาบในข้าวโพดสุวรรณ 5731 และ 5819 (8.35 และ 7.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) สูงกว่าข้าวโพดสุวรรณ 4452 (5.57 เปอร์เซ็นต์) (P<0.05) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ (water soluble carbohydrate; WSC) ที่สูงขึ้น (P<0.05) ในข้าวโพดสุวรรณ 5731 ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องไปยังการผลิตกรดแลคติกขึ้นในอาหารหมัก โดยกระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์แบบไร้ออกซิเจนจะอาศัยจุลินทรีย์ประเภทยีสต์ (*Pichia* sp.) แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (*Lactobacillus* sp.) แบคทีเรียย่อยสลายโปรตีน (*Bacillus* sp.) แบคทีเรียย่อยสลายไขมัน (*Bacillus* sp.) และแบคทีเรียย่อย สลายอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (*Burkholderia* sp.) ซึ่งจะใช้คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้เป็นแหล่งพลังงาน มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักอาหารหยาบ โดยจุลินทีย์จะใช้คาร์โบไฮเดรตในส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้เป็นแหล่งพลังงาน และได้ผลผลิตเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก (Elferink *et al*., 2000; Guan *et al*., 2020) นอกจากจะเป็นจุลินทรีย์ที่ช่วยพัฒนาประสิทธิภาพในกระบวนการหมักของพืชแล้ว ยังเป็นจุลินทรีย์สำคัญที่ทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่าง ต่ำลงซึ่งเป็นผลมาจากกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการหมัก โดยไม่ใช้ออกซิเจนโดยการทำงานของแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติก ซึ่งถ้าการหมักมีการผลิตกรดแลคติกมากจะส่งผลต่อค่า pH ที่ลดต่ำลงจึงทำให้คุณภาพของอาหารหมักยังคงสภาพได้ เนื่องจากในสภาวะค่าความเป็นกรด – ด่างที่ต่ำลงนั้น ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้พืชหมักเกิดการเน่าเสีย (Lounglawan and Suksombat, 2015)

Table 2 Chemical compositions (% on DM basis) of Suwan corn and Suwan corn silage ensiled with microorganisms

Treatment		DM	Ash	OM	CP	EE	WSC	GE	Lactic acid
Factor 1	**Factor 2**								
Suwan 4452	Fresh	26.58^{b}	4.96	95.04	7.59^{d}	5.72	15.23^{a}	4.11	5.39^{d}
	Silage	24.53^{c}	5.05	94.95	7.10^{e}	5.52	12.25^{b}	4.08	5.25^{d}
	Silage+BS[2]	24.56^{c}	7.52^{a}	92.48	7.02^{ef}	5.33	12.10^{b}	4.07	6.78^{b}
	Silage+LDD2[3]	25.52^{b}	7.26^{a}	92.74	8.56^{b}	5.40	11.52^{c}	4.26	5.85^{cd}
Suwan 5731	Fresh	27.76^{a}	4.51	95.49	8.53^{b}	5.08	15.56^{a}	4.01	5.09^{e}
	Silage	24.22^{c}	5.31	94.69	7.94^{c}	5.30	12.55^{b}	4.03	5.39^{d}
	Silage+BS[2]	24.47^{c}	7.04^{b}	92.96	7.99^{c}	5.78	12.37^{c}	4.05	7.31^{a}
	Silage+LDD2[3]	25.76^{b}	7.21^{a}	92.79	8.94^{a}	5.35	12.52^{b}	4.05	6.23^{c}
Suwan 5819	Fresh	27.30^{a}	5.99	94.01	7.86^{c}	5.76	15.26^{a}	4.06	5.85^{cd}
	Silage	24.49^{c}	5.07	92.93	7.52^{d}	5.43	12.47^{b}	4.01	6.12^{c}
	Silage+BS[2]	24.54^{c}	6.40	93.60	6.85^{f}	5.19	12.24^{c}	4.04	7.29^{a}
	Silage+LDD2[3]	25.85^{b}	6.58	93.42	8.93^{a}	5.70	12.49^{b}	4.24	7.53^{a}
SEM[4]		1.21	1.04	1.04	0.72	0.23	1.42	0.08	0.99
P- values	Treatment	< 0.05	0.13	0.13	< 0.05	0.98	< 0.05	0.06	< 0.05
P-values (Significant effect due to corn breed)	Suwan 4452	25.30	6.20	93.80	7.57 ^{b}	5.49	12.78	4.13	5.57 ^{b}
	Suwan 5731	25.55	6.02	93.98	8.35 ^{a}	5.38	13.25	4.04	6.01 ^{a}
	Suwan 5819	25.55	6.01	93.49	7.79 ^{b}	5.52	13.12	4.09	6.70 ^{a}
	Breed	0.51	0.67	0.67	0.02	0.78	0.06	0.11	< 0.05
P-value (Significant effect due to inoculation)	Fresh	27.21 ^{a}	5.15	94.85	7.99 ^{b}	5.52	15.35 ^{a}	4.06	5.11 ^{b}
	Silage	24.41 ^{c}	5.14	94.19	7.52 $^{b c}$	5.42	12.42 ^{b}	4.04	5.59 ^{b}
	Silage+BS[2]	24.52 ^{c}	6.99	93.01	7.29 ^{c}	5.43	12.24 ^{b}	4.05	7.13 ^{a}
	Silage+LDD2[3]	25.71 ^{b}	7.02	92.98	8.81 ^{a}	5.48	12.18 ^{b}	4.18	6.54 ^{a}
	Treatment	< 0.05	0.06	0.06	< 0.05	0.97	< 0.05	0.06	< 0.05
Interaction	Breed* Treatment	0.97	0.02	0.02	0.79	0.48	0.57	0.46	0.01

[1] DM = dry matter, OM = organic matter, CP = crude protein, EE = ether extract, WSC = water soluble carbohydrate, GE= gross energy (kcal/g).

[2] BS = *Bacillus subtilis*, [3]LDD2 = Microbial Activator Super LDD2, [4]SEM = standard error of mean.

[abcdef] Means (n=5) with different superscripts within the same column under the same factor are significantly different among treatments (P < 0.05).

3.3 ผลการวิเคราะห์เยื่อใยและคาร์โบไฮเดรตของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณ และข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์

องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (neutral detergent fiber; NDF, acid detergent fiber; ADF, acid detergent lignin; ADL) และองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (non fiber carbohydrate; NFC) รวมทั้งองค์ประกอบที่เป็นเยื่อใยเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสในอาหารสัตว์ ดังแสดงใน Table 3โดยพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์ของข้าวโพดและการเสริมจุลินทรีย์ในอาหารหมักไม่ส่งผลต่อโครงสร้างคาร์โบไฮเดรต แต่มีแนวโน้มต่อการเปลี่ยนแปลงเยื่อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด (ADF) และลิกนิน (ADL) (P = 0.08 และ P = 0.06 ตามลำดับ) สายพันธุ์ของข้าวโพดส่งผลต่อเยื่อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกลาง (NDF) เยื่อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด (ADF) และเยื่อใยเซลลูโลส โดยพบว่าข้าวโพดสุวรรณ 5731 และ 5819 มีปริมาณ NDF ADF และเซลลูโลส น้อยกว่าข้าวโพดสุวรรณ 4452 (P<0.05) อาจเป็นสาเหตุจากระยะเวลาการตัดต้นข้าวโพดแต่ละสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันจึงส่งผลต่อปริมาณ NDF ADF และเซลลูโลส การเสริมจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* และกลุ่มที่เสริมด้วยสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 มีคุณสมบัติในการหมักย่อย และมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ง่าย จุลินทรีย์สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงาน ส่งผลต่อโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรต โดยทำให้มีปริมาณของ NDF ADF ADL และ

เซลลูโลส ลดลง (P<0.05) ส่งผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างคือ NFC เพิ่มมากขึ้น (P< 0.05) เนื่องจากกลุ่มที่มีเยื่อใยในปริมาณมากจะทำให้คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เยื่อใยลดลง ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบทางโปรตีนหยาบ ร่วมกับการลดลงของเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลางและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ เนื่องจากในกระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์ที่สมบูรณ์แล้วในระยะเวลา 21 วัน ทำให้มีปริมาณของไนโตรเจนเพิ่มขึ้น (Elferink *et al*., 2000) นอกจากนี้ยังมีการย่อยสลายเซลลูโลสและมีการใช้ประโยชน์จากแป้งและน้ำตาลในกระบวนการหมักในสภาวะไร้อากาศให้เป็นกรดแลคติก (Zhang *et al*., 2015) ทั้งนี้ผลการทดลองพบว่าค่า NDF และ WSC ที่ลดลงในข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 4452 มีความสอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลง โดยค่า pH ที่ลดลงอาจเป็นผลสืบเนื่องมากจากปริมาณกรดแลคติกที่ถูกผลิตขึ้นจากการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ นอกจากนี้ ข้าวโพดสายพันธุ์สุวรรณ 5731 และ 5819 ได้ถูกปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีคุณลักษณะของข้าวโพดอาหารสัตว์โดยมีพื้นฐานมาจากข้าวโพดสายพันธุ์ 4452 โดยปรับปรุงให้มีคาร์โบไฮเดรตในเมล็ดข้าวโพดที่ดีขึ้น (Aekatasanawan *et al*., 2015) จึงส่งผลให้มีค่า NDF ที่น้อยลงและมีค่า WSC มากขึ้น

Table 3 Structure and non - structure carbohydrate compositions (% on DM basis) of Suwan corn and Suwan corn silage ensiled with microorganisms

Treatment		NDF	ADF	ADL	Hemicellulose	Cellulose	NFC
Factor 1	**Factor 2**						
Suwan 4452	Fresh	66.75^{a}	34.94^{a}	5.59^{b}	31.81	29.35^{a}	15.28^{de}
	Silage	56.48^{c}	31.43^{b}	5.23^{c}	25.05	26.20^{ab}	25.85^{b}
	Silage+BS[2]	56.92^{c}	28.00^{cd}	4.57^{d}	28.92	23.43^{b}	23.21^{c}
	Silage+LDD2[3]	66.20^{a}	26.25^{de}	5.06^{e}	32.48	27.75^{a}	12.58^{e}
Suwan 5731	Fresh	65.45^{a}	32.63^{ab}	6.29^{a}	32.82	26.34^{ab}	16.03^{d}
	Silage	58.79^{b}	29.11^{c}	5.64^{b}	29.68	23.47^{b}	22.66^{c}
	Silage+BS[2]	59.73^{b}	27.39^{d}	5.57^{b}	32.34	21.82^{c}	19.46^{d}
	Silage+LDD2[3]	66.62^{a}	25.20^{e}	5.60^{b}	24.05	26.68^{ab}	11.88^{e}
Suwan 5819	Fresh	67.86^{a}	31.48^{b}	5.71^{b}	36.38	25.77^{b}	12.53^{e}
	Silage	55.60^{d}	24.12^{e}	4.69^{d}	31.48	19.43^{d}	24.38^{bc}
	Silage+BS[2]	54.24^{d}	23.03^{f}	4.35^{d}	31.21	18.68^{d}	27.32^{a}
	Silage+LDD2[3]	60.74^{b}	23.26^{f}	4.54^{d}	28.06	19.17^{d}	17.85^{d}
SEM[4]		5.01	3.91	0.60	3.45	3.58	4.71
P- values	Treatment	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.37	< 0.05	0.02
P-values (Significant effect due to corn breed)	Suwan 4452	61.59	30.16 ^{b}	5.11 ^{a}	29.57	26.68 ^{b}	19.23
	Suwan 5731	62.65	28.58 ^{b}	5.78 ^{b}	29.72	24.58 ^{b}	17.51
	Suwan 5819	59.61	25.47 ^{a}	4.82 ^{a}	31.78	20.76 ^{a}	20.52
	Breed	0.19	< 0.05	< 0.05	0.58	< 0.05	0.50
P-value (Significant effect due to inoculation)	Fresh	66.69 ^{a}	33.02 ^{a}	5.86 ^{a}	33.67	27.15 ^{a}	14.61 ^{b}
	Silage	56.96 ^{b}	28.22 ^{b}	5.19 ^{b}	28.74	23.03 $^{a\ b}$	24.30 ^{a}
	Silage+BS[2]	56.96 ^{b}	26.14 $^{b\ c}$	4.83 ^{b}	30.82	21.31 ^{b}	23.33 ^{a}
	Silage+LDD2[3]	64.52 ^{a}	24.90 ^{c}	5.07 ^{b}	28.20	24.53 $^{a\ b}$	14.10 ^{b}
	Treatment	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.25	0.02	< 0.05
Interaction	Breed* Treatment	0.95	0.08	0.06	0.68	0.18	0.73

[1] NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber, ADL = acid detergent lignin, NFC = non fiber carbohydrate.

[2] BS = *Bacillus subtilis*, [3]LDD2 = Microbial Activator Super LDD2, [4]SEM = standard error of mean.

[abcdef] Means (n=5) with different superscripts within the same column under the same factor are significantly different among treatments (P < 0.05).

3.4 ผลการประเมินความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในกระเพาะรูเมนด้วยเทคนิค in vitro ของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณและข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์

ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะดังแสดงใน Table 4 โดยพบว่าข้าวโพดหมักทุกกลุ่มการทดลองให้ค่าความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งเป็นผลสืบเนื่องมาจากทั้งสายพันธุ์ของข้าวโพดการเติมสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 และอิทธิพลที่เกิดร่วมกันทั้งสองปัจจัย ในขณะที่ความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนหยาบและเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลางเป็นผลมาจากอิทธิพลของการเสริมจุลินทรีย์ในข้าวโพดหมัก (P<0.05) พบว่า เมื่อเติมจุลินทรีย์ในอาหารหมัก จะทำให้มีการย่อยได้ที่ดีขึ้น นอกจากนี้สายพันธุ์ของข้าวโพดไม่มีผลต่อความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนหยาบและเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง การใช้จุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus subtilis* หมักร่วมกับข้าวโพดจะทำให้การย่อยสลายของเยื่อใยในส่วนของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินดีขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถผลิตน้ำย่อยเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสจึงทำให้เยื่อใยบางส่วนใน NDF ถูกย่อยสลายไปในกระบวนการหมัก จึงส่งผลให้มีการย่อยได้ของ NDF ดีขึ้น (Fugita *et al*., 2012) เอนไซม์ของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกมีผลต่อผนังเซลล์ของพืชรวมถึงการใช้ประโยชน์ได้ของสารประกอบที่ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น ส่งผลต่อการพัฒนาความสามารถในการย่อยได้ของพืชหมัก (Chang *et al*., 2021)

Table 4 *In vitro* rumen digestibility (% on DM basis) of Suwan corn and Suwan corn silage ensiled with microorganisms

Treatment		DMD	OMD	CPD	NDFD	DE
Factor 1	**Factor 2**					
Suwan 4452	Fresh	43.34^{d}	43.36^{d}	71.70^{c}	39.32^{c}	43.22^{d}
	Silage	48.56^{c}	48.55^{c}	74.75^{ab}	43.88^{b}	48.55^{c}
	Silage+BS[2]	51.32^{b}	50.00^{b}	75.71^{a}	44.05^{b}	50.09^{b}
	Silage+LDD2[3]	49.66^{bc}	48.98^{c}	70.55^{c}	46.84^{a}	50.84^{b}
Suwan 5731	Fresh	42.46^{d}	40.95^{e}	73.33^{b}	38.71^{c}	48.30^{c}
	Silage	50.87^{bc}	52.73^{b}	76.41^{a}	43.89^{b}	51.23^{ab}
	Silage+BS[2]	53.62^{b}	54.63^{a}	80.83^{a}	45.82^{ab}	53.81^{a}
	Silage+LDD2[3]	56.10^{a}	55.23^{a}	72.31^{bc}	48.38^{a}	55.37^{a}
Suwan 5819	Fresh	53.20^{b}	52.01^{b}	71.70^{c}	39.32^{c}	43.39^{d}
	Silage	54.20^{b}	53.65^{b}	74.75^{ab}	43.88^{b}	48.55^{c}
	Silage+BS[2]	57.60^{a}	56.54^{a}	75.71^{a}	44.05^{b}	50.09^{b}
	Silage+LDD2[3]	57.75^{a}	56.58^{a}	73.15^{b}	47.78^{a}	50.27^{b}
SEM		4.98	4.99	2.78	3.25	3.56
P- values	Treatment	< 0.05	0.02	0.02	< 0.05	< 0.05
P-values (Significant effect due to corn breed)	Suwan 4452	48.22 ^{a}	47.72 ^{b}	73.18	43.52	48.18 ^{a}
	Suwan 5731	50.76 ^{a}	50.89 ^{a}	75.72	44.20	52.18 ^{b}
	Suwan 5819	55.69 ^{b}	54.70 ^{a}	73.83	43.76	48.08 ^{a}
	Breed	< 0.05	0.03	0.08	0.39	< 0.05
P-value (Significant effect due to inoculation)	Fresh	46.33 ^{b}	45.44 ^{b}	72.24 ^{b}	39.12 ^{c}	44.97 ^{c}
	Silage	51.21 $^{a\ b}$	51.64 $^{a\ b}$	75.30 $^{a\ b}$	43.88 ^{b}	49.44 ^{b}
	Silage+BS[2]	54.18 ^{a}	53.72 ^{a}	77.42 ^{a}	44.64 ^{b}	51.33 ^{a}
	Silage+LDD2[3]	54.50 ^{a}	53.60 ^{a}	72.00 ^{b}	47.67 ^{a}	52.16 ^{a}
Interaction	Treatment	0.02	0.02	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	Breed* Treatment	0.04	0.13	0.87	0.27	0.07

[1] DMD = dry matter digestibility, OMD = organic matter digestibility, CPD = crude protein digestibility, NDFD = neutral detergent fiber digestibility, DE = digestible energy.

[2] BS = *Bacillus subtilis*, [3] LDD 2 = Microbial Activator Super LDD 2, [4] SEM = standard error of mean.

[abcdef] Means (n=5) with different superscripts within the same column under the same factor are significantly different among treatments (P < 0.05).

3.5 ผลการตรวจนับจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะรูเมน ของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณ และข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์

ผลของปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะรูเมนจากการทดลองของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมสุวรรณหมักร่วมกับจุลินทรีย์ดังแสดงใน Table 5 อิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์ของข้าวโพดและการเสริมจุลินทรีย์ข้าวโพดหมักพบว่าสามารถส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียและโปรโตซัวรวมทั้งหมดในกระเพาะรูเมน รวมทั้งมีอิทธิพลต่อปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมดที่ถูกผลิตขึ้นในกระเพาะรูเมนระหว่างกระบวนการหมักย่อย สายพันธุ์ของข้าวโพดส่งผลโดยตรงต่อปริมาณแบคทีเรียในกระเพาะรูเมน ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยพบว่า ข้าวโพดสุวรรณ 5819 มีจำนวนแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนมากที่สุด คือ 2.43 x 10^6 cfu ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 5731 ให้ผลไม่แตกต่างกับข้าวโพดสุวรรณ 4452 โดยมีค่า 2.18 x 10^6 และ 2.21 x 10^6 cfu ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่สายพันธุ์ของข้าวโพดไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณโปรโตซัวในกระเพาะรูเมน ในขณะที่ปริมาณกรดไขมันระเหยได้โดยรวม ให้ค่าสอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียโดยรวมในกระเพาะรูเมน ซึ่งพบว่า ข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 5819 มีปริมาณแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนมากที่สุดและส่งผลให้มีการผลิตกรดไขมันระเหยง่ายโดยรวมมากที่สุด (P<0.05) เมื่อมีการเสริมจุลินทรีย์ลงในข้าวโพดหมัก พบว่า ทำให้ปริมาณของแบคทีเรีย ในกระเพาะรูเมนเพิ่มมากขึ้นโดยการเสริมจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* และสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ให้ค่าปริมาณของจุลินทรีย์มากกว่า ข้าวโพดสดและข้าวโพดหมักกลุ่มควบคุม (P<0.05) ทั้งนี้การเสริมจุลินทรีย์ลงในข้าวโพดหมักไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณโปรโตซัว ในกระเพาะรูเมน ในระหว่างกระบวนการหมักย่อย แต่ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายโดยพบว่า เมื่อเสริมจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* และสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ทำให้มีปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายโดยรวมมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ทั้งนี้ ค่ากรดไขมันที่เพิ่มขึ้นมีความสอดคล้องกับค่าการย่อยได้ของ NDF ที่เพิ่มขึ้น โดยเป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมของจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียที่ย่อยเยื่อใย (Fugita *et al*., 2012) นอกจากนี้โปรโตซัวที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นยังเป็นผลสืบเนื่องจากปริมาณของ NFC ที่เพิ่มขึ้นจากการเสริมจุลินทรีย์ในอาหารหมัก ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (Chang *et al*., 2021)

Table 5 Rumen of microorganisms and total volatile fatty acid (VFA) production of Suwan corn and Suwan corn silage ensiled with microorganisms

Treatment		Total bacteria	Protozoa	Total VFA
Factor 1	**Factor 2**	**(10^6cfu/ml)**	**(10^5cell/ml)**	**(%)**
Suwan 4452	Fresh	2.11^{d}	2.10	55.32^{b}
	Silage	2.15^{c}	2.04	58.32^{b}
	Silage+BS[1]	2.23^{b}	1.95	61.24^{a}
	Silage+LDD2[2]	2.35^{ab}	1.83	61.58^{a}
Suwan 5731	Fresh	2.03^{d}	1.81	57.49^{b}
	Silage	2.14^{c}	1.98	60.24^{ab}
	Silage+BS[1]	2.31^{ab}	2.15	62.71^{a}
	Silage+LDD2[2]	2.25^{b}	2.19	62.35^{a}
Suwan 5819	Fresh	2.31^{ab}	2.37	59.32^{ab}
	Silage	2.45^{a}	2.16	60.23^{ab}
	Silage+BS[1]	2.48^{a}	1.92	63.04^{a}
	Silage+LDD2[2]	2.47^{a}	1.85	63.08^{a}
SEM		0.15	0.17	2.43
P- values	Treatment	< 0.05	0.94	< 0.05

Table 5 (Continuous)

Treatment		Total bacteria	Protozoa		Total VFA
Factor 1	**Factor 2**	**(10^6cfu/ml)**	**(10^5cell/ml)**		**(%)**
SEM			0.15	0.17	2.43
P- values		Treatment	< 0.05	0.94	< 0.05
P-values (Significant effect due to corn breed)		Suwan 4452	2.21 [b]	1.98	59.12 [b]
		Suwan 5731	2.18 [b]	2.03	60.70 [a]
		Suwan 5819	2.43 [a]	2.08	61.42 [a]
		Breed	< 0.05	0.82	< 0.05
P-value (Significant effect due to inoculation)		Fresh	2.15 [b]	2.09	57.38 [c]
		Silage	2.25 [a b]	2.06	59.60 [b]
		Silage+BS[1]	2.34 [a]	2.01	62.33 [a]
		Silage+LDD2[2]	2.36 [a]	1.96	62.34 [a]
		Treatment	< 0.05	0.86	< 0.05
Interaction		Breed* Treatment	< 0.05	0.02	0.05

[1] BS = *Bacillus subtilis*, [2]LDD2 = Microbial Activator Super LDD2, [4]SEM = standard error of mean.

[abc] Means (n=5) with different superscripts within the same column under the same factor are significantly different among treatments (P < 0.05).

4. สรุป

ข้าวโพดพืชอาหารสัตว์สายพันธุ์สุวรรณทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้ผลการหมักที่ไม่แตกต่างกัน การเสริมสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ให้คุณค่าทางโภชนะดีกว่าการเสริมจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* แต่การเสริมทั้ง 2 ชนิด จะช่วยเร่งกระบวนการหมัก พัฒนาคุณภาพข้าวโพดหมักให้ดีขึ้นทั้งด้านกายภาพ และคุณค่าทางโภชนะ ส่งผลโดยตรงต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการหายใจ ได้แก่ *Lactobacillus sp.* ซึ่งใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง และกลุ่มโปรโตซัวที่ใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้างหรือคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ ทำให้มีความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใยในข้าวโพดหมักได้ดีขึ้น นอกจากนี้การเสริมจุลินทรีย์ในข้าวโพดหมักยังมีค่า pH ลดต่ำลง ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้หญ้าหมักเกิดการเน่าเสีย จึงถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาอาหารหยาบสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องได้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่จากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถานีวิจัยลพบุรี (โคกเจริญ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนต้นข้าวโพดสด และสหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสนที่ให้การสนับสนุนน้ำย่อยจากกระเพาะรูเมนโคในการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

Aekatasanawan, C., Aekatasanawan, C., Changsaluk, S., Chaiwong, U. and Thala, P. 2015. **Grain and Seed Production Technology of Single Cross Hybrid Suwan 4452 breed.** National Corn and Sorghum Research Center. Available Source: https://www.thai-explore.net/file_upload/submitter/file_doc/ c33ce970 f2be31209818e46c611fc55e.pdf, January 25, 2024. (in Thai)

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry** (15thed). AOAC., Washington, D.C.

Bai, S.P., Wu, A.M., Ding, X.M., Lei, Y., Bai, J., Zhang, K.Y. and Chio, J.S. 2013. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. **Poultry science** 92(3): 663-670.

Chang, M., Ma, F., Wei, J., Liu, J., Nan, X. and Sun, P. 2021. Live Bacillus subtilis natto promotes rumen fermentation by modulating rumen microbiota *in vitro*. **Animals (Basel)** 11(6): 1519.

DaŞkıran, M., Önol, A.G., Cengiz, Ö., Ünsal, H., Türkyılmaz, S., Tatlı, O. and Sevim, Ö. 2012. Influence of dietary

probiotic inclusion on growth performance, blood parameters, and intestinal microflora of male broiler chickens exposed to posthatch holding time. **Journal of Applied Poultry Research** 21(3): 612-622.

Davis, M.E., Parrott, T., Brown, D.C., De Rodas, B.Z., Johnson, Z.B., Maxwell, C.V. and Rehberger, T. 2008. Effect of a Bacillus-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. **Journal of animal science** 86(6): 1459-1467.

Department of Livestock Development. 2001. **Silage.** Agricultural Cooperatives Association of Thailand Printing Company Limited, Bangkok.

Department of Land Development. 2023. **Production of Bio-Fermented solution by Microbial Activator PD.2.** Department of Land Development. Available Source: https://www.ldd.Source:nu_5wonder/ PDF/PD2. pdf, March 20, 2023. (in Thai)

Elferink, S.J.W.H.O., Driehuis, F., Gottschal, J.C. and Spoelstra, S.F. 2000. **Silage fermentation processes and their manipulation.** FAO Plant Production and Protection Papers.

Fugita, C.A., Prado, I.N.D., Jobim, C.C., Zawadzki, F., Valero, M.V., Pires, M.C.D.O. and Françozo, M.C. 2012. Corn silage with and without enzyme-bacteria inoculants on performance, carcass characteristics and meat quality in feedlot finished crossbred bulls. **Revista Brasileira de Zootecnia** 41: 154-163.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology** 66: 365-378.

Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. **Forage fiber analyses.** Agri Handbook, Washington.

Grubb, J. and Dehority B. 1976. Variation in colony counts of total viable anaerobic rumen bacteria as influenced by media and cultural methods. **Applied and Environmental Microbiology** 31(2): 262-267.

Guan, H., Shuai, Y., Yan, Y., Ran, Q., Wang, X., Li, D. and Zhang, X. 2020. Microbial community and fermentation dynamics of corn silage prepared with heat-resistant lactic acid bacteria in a hot environment. **Microorganisms** 8(5): 719.

Lounglawan, P. and Suksombat, W. 2015. **Effect of *Lactobacillus spp.* on Silage Fermentation**. Research reports, Suranaree University. Available Source: http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/ bitstream/ 123456789/5809/1/Fulltext.pdf, January 25, 2024. (in Thai)

Panichpol, V., Phaikaew, C., Phromma, S., Chinvaroj, S., Arananant, J. and Ritreuchai, V. 2004. **Silage Standard** (1st ed). Department of Livestock Development, Agricultural Cooperatives Association of Thailand Printing Company Limited, Bangkok. (in Thai)

Rahman, M.S., Mustari, A., Salauddin, M. and Rahman, M.M. 2013. Effects of probiotics and enzymes on growth performance and haematobiochemical parameters in broilers. **Journal of the Bangladesh Agricultural University** 11(1): 111-118.

Reid, G. 2008. Review: probiotics and prebiotics – progress and challenges. **International Dairy Journal** 18: 969-975.

SAS. 2022. **SAS®University Edition software.** In. SAS Institute Inc.

Seo, J.K., Kim, S.W., Kim, M.H., Upadhaya, S.D., Kam, D.K. and Ha, J.K. 2010. Direct-fed microbials for ruminant animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 23(12): 1657-1667.

Tassone, S., Fortina, R. and Peiretti, P.G. 2020. *In vitro* techniques using the Daisy^{II} incubator for the assessment of digestibility : A review. **Animals** 10(5): 775.

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

Vieira, V.A., Sforcini, M.P., Endo, V., Magioni, G.C. and Oliveira, M.D.S. 2014. Influence of probiotics on dairy cows' diet. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering** 8(7): 786-789.

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

Zhang, Q., Yu, Z. and Wang, X. 2015. Isolating and evaluating lactic acid bacteria strains with or without sucrose for effectiveness of silage fermentation. **Grassland science** 61(3): 167-176.