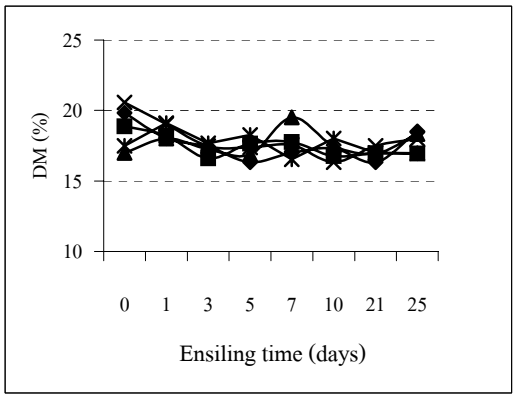
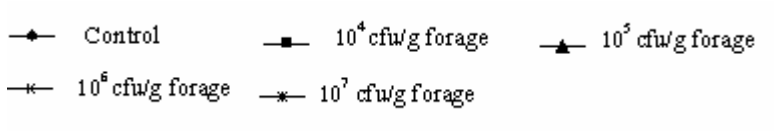
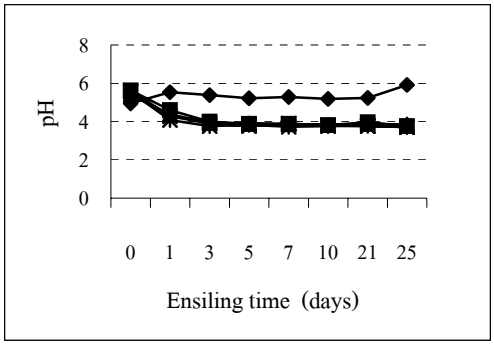
1. วัตถุแห้ง (dry matter, DM) พบว่า ปริมาณหัวเชื้อในกลุ่มทดลองต่าง ๆ ไม่ทำให้ DM ของ ไซเลจแตกต่างกันชัดเจน (P>0.05) แต่ระยะเวลาในการหมักที่ยาวนานออกไปทำให้ DM ลดลง อย่างไรก็ตาม วันที่ 25 ของการหมัก DM กลับมีแนวโน้มสูงขึ้น อาจเนื่องจากการระเหยของน้ำในระหว่างทดสอบการทนต่อสภาพอากาศ (aerobic stability test) โดยทั่วไป DM ของไซเลจจะผันแปรอยู่ในช่วงแคบ ๆ DM ที่ลดลงในระหว่างการหมักอาจเกิดจากการจัดการหมักที่ไม่ดีพอซึ่งทำให้จุลินทรีย์จำพวกยีสต์ ราเส้นใย และคลอสตริเดียมแสดงกิจกรรมได้ ผลที่ตามมาคือการสูญเสีย DM และพลังงาน (Kung Jr., 1997) รวมทั้งความน่ากินของไซเลจลดลง (Kunkle and Chambliss, 2004; Woolford and Pahlow, 1998) การเปลี่ยนแปลงของ DM ตลอดระยะเวลาการหมักของไซเลจแสดงดังภาพที่ 6



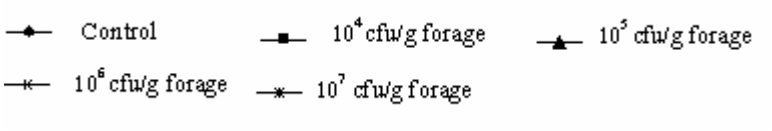
ภาพที่ 6 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณวัตถุแห้งในไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

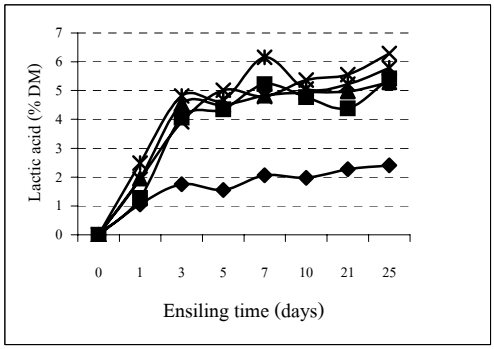


2. พีเอช ผลิตภัณฑ์จากการหมักและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า ไซเลจมีพีเอชต่ำลงเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อในปริมาณที่มากขึ้น แต่การหมักด้วยหัวเชื้อปริมาณ 10^5-10^7 cfu/g ของพืชสด ไม่ทำให้พีเอชของไซเลจแตกต่างกัน (P>0.05) ระดับพีเอชที่ลดลงสอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น โดยไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณตั้งแต่ 10^5-10^7cfu/g ของพืชสดมีปริมาณกรดแลคติกไม่แตกต่างกัน (P>0.05) แต่มากกว่าไซเลจกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณ 10^4cfu/g ของพืชสด (P<0.05) การเปลี่ยนแปลง พีเอช และปริมาณกรดแลคติก แสดงดังภาพที่ 7 และ 8

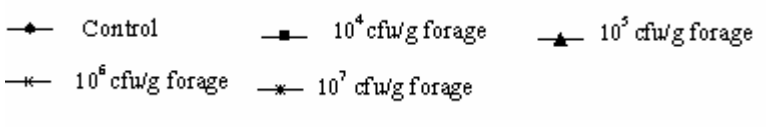


ภาพที่ 7 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อค่าพีเอชของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน



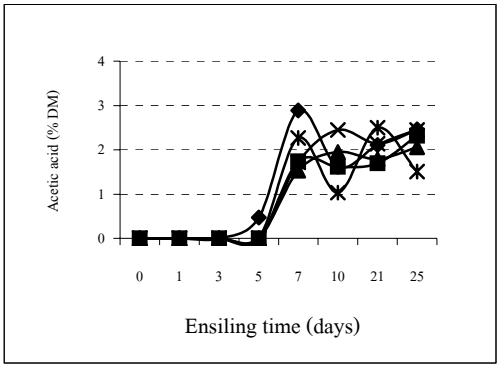


ภาพที่ 8 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณกรดแลคติกของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

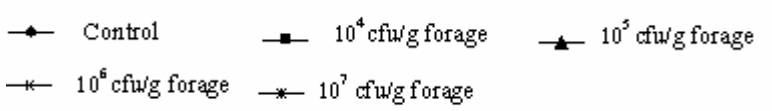


จะเห็นว่า ไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อทุกกลุ่มทดลอง มีพีเอชลดลงจนกระทั่งถึงระดับ 3.8-4.2 ซึ่งเป็นช่วงพีเอชในไซเลจคุณภาพดี (Tjandraatmadja, 1989) ภายใน 3 วันแรกของการหมัก ในขณะที่กลุ่มควบคุมยังคงมีพีเอชสูง แสดงว่าเชื้อ *L. pentosus* KUB ST10-1 ที่เติมลงในพืชก่อนการหมักสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในพืชหมัก (Muck, 1996) จึงทำให้พีเอชลดลงได้อย่างรวดเร็ว ค่าพีเอชและปริมาณกรดแลคติกของไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ มีระดับค่อนข้างคงที่ตั้งแต่วันที่ 3 จนกระทั่งถึงวันที่ 21 ของการหมัก และช่วงการทดสอบการทนต่อสภาพอากาศเป็นเวลา 5 วัน ในขณะที่ไซเลจกลุ่มควบคุม มีพีเอชในช่วงดังกล่าวลดลงเล็กน้อย สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม พีเอชของไซเลจกลุ่มนี้มีค่าสูงขึ้นภายหลังการเปิดถุงไซเลจให้สัมผัสอากาศ เนื่องจากกรดอะซิติกถูกผลิตมาปริมาณมากขึ้น (ภาพที่ 9) Spoelstra *et al.*

(1988) รายงานว่า เชื้อที่ผลิตกรดอะซิติกชอบสภาวะที่มีอากาศและทนต่อสภาพความเป็นกรด ดังนั้นในช่วงที่เปิดถุงเพื่อให้ไซเลจสัมผัสอากาศจึงทำให้จุลินทรีย์ดังกล่าวเติบโตและผลิตกรดอะซิติกออกมาได้รวดเร็ว ทำให้พีเอชสูงขึ้น นอกจากนี้ หากไซเลจมีปริมาณกรดไม่พอเพียงต่อการยับยั้งการเติบโตขั้นที่ 2 ของเชื้อจุลินทรีย์ในช่วงการสัมผัสอากาศก็เป็นเหตุให้พีเอชสูงขึ้น (Kung and Shaver, 1997)



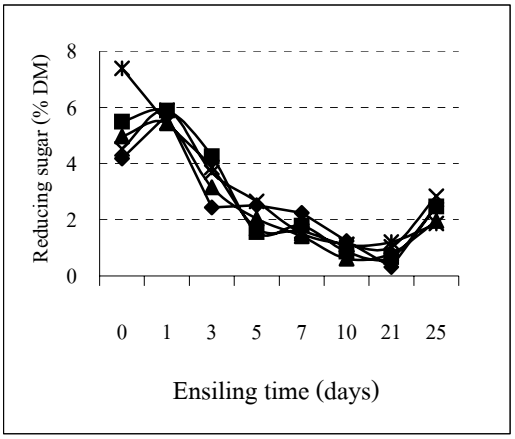
ภาพที่ 9 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกในไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน



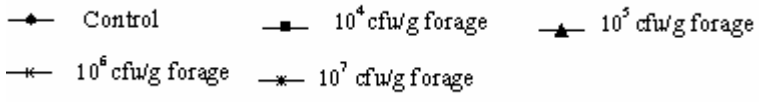
การทดลองครั้งนี้ตรวจไม่พบกรดโปรปิโอนิคและกรดบิวทิริคในไซเลจทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ แสดงถึงการมีปริมาณเชื้อคลอสตริเดียมในไซเลจไม่มาก นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์จากการหมัก เช่น กรดแลคติกจะไม่ถูกใช้เป็นสับสเตรท เนื่องจากในสภาวะการหมักที่เหมาะสม คลอสตริเดียมจะเปลี่ยนกรดแลคติกให้เป็นกรดโปรปิโอนิคและกรดบิวทิริคได้ (Woolford and Pahlow, 1998) การไม่พบปริมาณกรดทั้ง 2 ชนิดนี้ สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นในไซเลจทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ

สำหรับน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันแรกของการหมัก แสดงว่ามีการย่อยคาร์โบไฮเดรตจากโครงสร้างของพืช (ทองเลียน, 2542) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงรวดเร็วในช่วง 1-5 วันแรกของการหมักในไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ จากนั้นการลดลงเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงวันที่ 10 และคงระดับอยู่ถึงวันที่ 21 ของการหมัก ส่วนการลดลงของปริมาณน้ำตาลในกลุ่มควบคุมเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-3 วัน จากนั้นจึงค่อย ๆ ลดลงจนกระทั่ง

ถึงวันที่ 21 ของการหมัก ดังภาพที่ 10 ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงในลักษณะดังกล่าว แสดงว่าถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ในกระบวนการหมักได้เร็ว สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น และค่าพีเอชที่ลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Harrison *et al.* (1989) ที่พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ในไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการหมัก จากนั้นจะยังคงระดับอยู่จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองที่ระยะการหมัก 57 วัน อย่างไรก็ตาม ไซเลจกลุ่มควบคุมซึ่งแม้ว่าน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงในระดับที่ใกล้เคียงกับไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อก็ตาม แต่ปริมาณกรดแลคติกมีค่าต่ำและค่าพีเอชยังคงไม่ลดลง แสดงให้เห็นว่าการหมักไซเลจด้วยหัวเชื้อ *L. pentosus* ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมักได้ชัดเจน นอกจากนี้ การที่น้ำตาลถูกใช้อย่างรวดเร็วและยังคงมีปริมาณเหลืออยู่มากในไซเลจเมื่อสิ้นสุดระยะการหมักหรือก่อนนำไปใช้ประโยชน์ ยังเป็นการย้ำให้เห็นถึงประสิทธิภาพการหมักที่ดีของไซเลจ (Harrison *et al.*, 1989) การลดลงของน้ำตาลในการทดลองนี้เกิดขึ้นลักษณะเดียวกับการศึกษาของ Hristov and McAllister (2002) และ Whiter and Kung (2001) ในช่วงทดสอบการทนต่อสภาพอากาศ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไซเลจทุกกลุ่มสูงขึ้น อาจเกิดจากจุลินทรีย์บางชนิดที่ย่อยโครงสร้างของพืชให้เป็นน้ำตาลสามารถเติบโตและแสดงกิจกรรมได้ อย่างไรก็ตาม หากปริมาณน้ำตาลมากขึ้นในช่วงนี้อาจเป็นเหตุให้ความน่ากินลดลง เนื่องจากยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ (Kunkle and Chambliss, 2004)

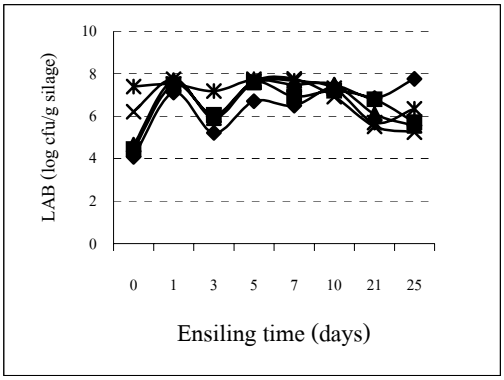


ภาพที่ 10 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

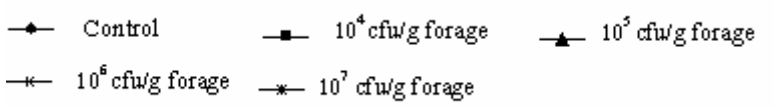


3. ปริมาณจุลินทรีย์ จุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของไซเลจ เนื่องจากมีบทบาททั้งในด้านการรักษาและการทำลายคุณภาพของไซเลจ จุลินทรีย์ที่สำคัญในกระบวนการหมักไซเลจได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก เอนเทอโรแบคทีเรีย ยีสต์และราเส้นใย และคลอสตริเดียม

3.1 แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria; LAB) มีบทบาทในการรักษาคุณภาพของไซเลจโดยจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกซึ่งทำให้พีเอชลดลงมากกว่ากรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ผลการทดลองครั้งนี้พบว่า ไซเลจกลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเริ่มต้นต่ำที่สุด ในขณะที่กลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อมีปริมาณสูงขึ้นตามปริมาณของหัวเชื้อที่เสริมลงไปในพืชก่อนการหมัก แต่เนื่องจากจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในพืชตามธรรมชาติมีปริมาณมาก ในขณะที่แบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปก่อนการหมักมีจำกัด จึงทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดแตกต่างกันไม่ชัดเจน ยกเว้นไซเลจกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อปริมาณ 10^7 cfu/g ของพืชสดที่มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่าไซเลจกลุ่มอื่น ๆ ชัดเจน (ภาพที่ 11) ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในวันแรกหลังการปิดภาชนะหมัก ยกเว้นในไซเลจกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อในปริมาณ 10^7 cfu/g ของพืชสดที่ยังคงมีปริมาณไม่เปลี่ยนแปลง จากนั้นปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกจะเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ๆ จนกระทั่งถึงวันที่ 10 และมีปริมาณลดลงในช่วงวันที่ 21 ของการหมักในไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อ ส่วนไซเลจกลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสิ้นสุดระยะการทดสอบความคงทนต่อสภาพอากาศ ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่ไม่เพิ่มขึ้นแต่กลับลดลงในช่วง 10-21 วันของการหมักในไซเลจกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้ออาจเกิดจากพีเอชของไซเลจลดลงจนกระทั่งยับยั้งการเติบโตของตัวเอง ซึ่งMuck (1996) รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งการเติบโตเมื่อพีเอชของไซเลจต่ำกว่า 5 สำหรับไซเลจกลุ่มควบคุมซึ่งมีพีเอชค่อนข้างสูงตลอดการทดลองจึงทำให้แบคทีเรียกรดแลคติกเติบโตต่อไปได้ นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของไซเลจกลุ่มควบคุมยิ่งสูงขึ้นในช่วงการทดสอบความทนต่อสภาพอากาศ เนื่องจากช่วงนี้มีปริมาณน้ำตาลและพีเอชที่สูงขึ้นจึงยิ่งส่งเสริมให้แบคทีเรียกรดแลคติกมีการเติบโตได้ดี การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณหัวเชื้อที่เติมลงไปในพืชก่อนการหมัก ระยะเวลาในการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในไซเลจอย่างชัดเจน ($P<0.01$) อย่างไรก็ตาม ปริมาณหัวเชื้อที่เติมลงไปในพืชก่อนการหมัก 10^4 -10^5cfu/g ของพืชสดไม่ทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกมีความแตกต่างไปจากไซเลจกลุ่มควบคุม แต่มีผลต่อลักษณะทางการหมักอื่น ๆ ชัดเจน

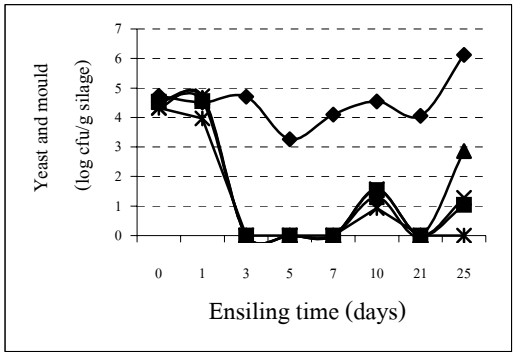


ภาพที่ 11 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณ LAB ของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

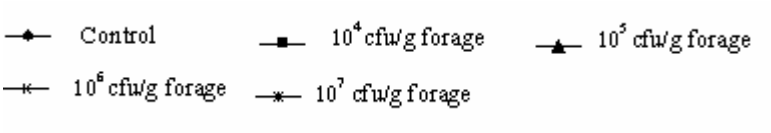


3.2 ยีสต์และราเส้นใย (yeasts and moulds) ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอธานอล (ethanol) และ คาร์บอนไดออกไซด์ (Schlegel, 1987) ส่วนในสภาวะที่มีอากาศ ยีสต์จะเปลี่ยนกรดแลคติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งทำให้พีเอชของไซเลจสูงขึ้น สำหรับราเส้นใยซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มักเจริญบนผิวหน้าของไซเลจ ทำให้คุณค่าทางโภชนะและความน่ากินของไซเลจลดลง นอกจากนี้ ราเส้นใยยังอาจจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพของคนและสัตว์อีกด้วย (May, 1993) ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การหมักไซเลจด้วยหัวเชื้อ *L. pentosus* KUB ST10-1 ปริมาณต่าง ๆ มีผลทำให้ปริมาณยีสต์และราเส้นใยในไซเลจแตกต่างกันอย่างชัดเจน ($P<0.01$) โดยไซเลจกลุ่มควบคุมมีปริมาณยีสต์และราเส้นใยมากกว่ากลุ่มที่หมักโดยเติมหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ ในขณะที่ไซเลจที่หมักโดยเติมหัวเชื้อปริมาณต่าง ๆ มีปริมาณเชื้อดังกล่าวไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$)

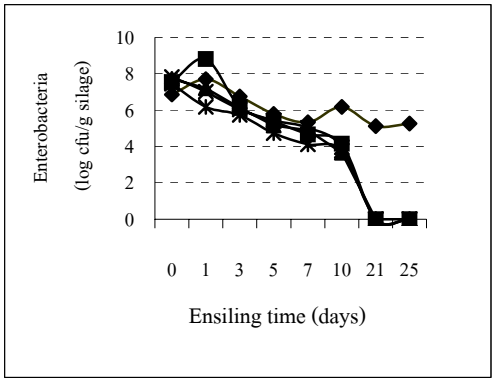
ปริมาณยีสต์และราเส้นใยของไซเลจทุกกลุ่มยังคงระดับอยู่ในช่วงวันแรกของการหมัก อาจเนื่องจากในถุงไซเลจยังคงมีอากาศและระดับพีเอชที่สูง จากนั้นปริมาณยีสต์และราเส้นใยในไซเลจกลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อลดลงอย่างมากเมื่อทำการหมักได้ 3 วัน และคงระดับอยู่จนกระทั่งถึงระยะเวลาการหมัก 21 วัน ส่วนในไซเลจกลุ่มควบคุมยังคงมีเชื้อยีสต์และราเส้นใยจำนวนมากในช่วงดังกล่าว และยิ่งมากขึ้นในช่วงการทดสอบความคงทนต่อสภาพอากาศดังภาพที่ 12



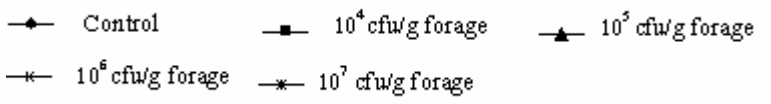
ภาพที่ 12 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณยีสต์และราเส้นใยของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน



3.3 เอนเทอโรแบคทีเรีย (entrobacteria) อาจเรียกว่า Acetic acid bacteria หรือ Coliform bacteria (McDonald *et al.*, 1995) เป็นจุลินทรีย์ที่ชอบอากาศ แต่สามารถเติบโตได้ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) จุลินทรีย์ชนิดนี้จะแข่งขันการใช้น้ำตาลกับแบคทีเรียกรดแลคติก รวมทั้งยังสามารถสลายโปรตีนซึ่งไม่เพียงจะทำให้คุณค่าทางโภชนะของไซเลจลดลง แต่ยังอาจก่อให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษ เช่น Biogenic amines ได้อีกด้วย (Woolford, 1984) นอกจากนี้ การสลายโปรตีนยังก่อให้เกิดแอมโมเนียซึ่งทำให้ค่าบัฟเฟอริงคาปาซิตีของไซเลจสูงขึ้น การลดลงของพีเอชจะช้า โดยทั่วไปจะตรวจพบเชื้อชนิดนี้ได้มากในช่วง 5 วันแรกของการหมัก จากนั้นจะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากสภาพการขาดอากาศและพีเอชในไซเลจต่ำลง (Woolford and Pahlow, 1998) ปริมาณเอนเทอโรแบคทีเรียในไซเลจทุกกลุ่มของการศึกษาครั้งนี้ค่อย ๆ ลดลงตั้งแต่วันแรกจนกระทั่งถึงวันที่ 10 ของการหมัก จากนั้น กลุ่มที่หมักด้วยหัวเชื้อจะมีปริมาณจุลินทรีย์ชนิดนี้ลดลงอย่างมากในการตรวจนับวันที่ 21 และภายหลังการเปิดถุงไซเลจให้สัมผัสอากาศเป็นเวลา 5 วัน ส่วนไซเลจกลุ่มควบคุมยังคงมีปริมาณเอนเทอโรแบคทีเรียไม่เปลี่ยนแปลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองดังภาพที่ 13 Muck (1996) รายงานว่า เชื้อเอนเทอโรแบคทีเรียจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดอะซิติกซึ่งจะทำให้พีเอชของไซเลจสูงขึ้น และภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศและมีพีเอชสูง เชื้อเอนเทอโรแบคทีเรียยังคงเติบโตได้ แต่จะถูกยับยั้งเมื่อพีเอชต่ำกว่า 5 ดังนั้นไซเลจกลุ่มควบคุมในการศึกษานี้ ซึ่งมีพีเอชสูงกว่า 5 จึงตรวจพบเชื้อดังกล่าวได้มากตลอดการทดลอง



ภาพที่ 13 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อปริมาณเอนเทอโรแบคทีเรียของไซเลจที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน



3.4 คลอสตริเดียม (clostridium) เป็นจุลินทรีย์ที่มีเอนโดสปอร์และเจริญได้ในสภาพไม่มีอากาศ คลอสตริเดียมหลายชนิดสามารถเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนให้เป็นกรดบิวทิริคและBiogenic amines (Oude Elferink and Driehuis, 2004) นอกจากนี้ คลอสตริเดียมยังสามารถหมักกรดแลคติกให้เป็นกรดบิวทิริคซึ่งทำให้พีเอชของไซเลจสูงขึ้น ส่งผลให้มีการสลายโปรตีนหรือสารประกอบไนโตรเจนได้ดียิ่งขึ้น (Woolford and Pahlow, 1998) การทดลองครั้งนี้ตรวจพบเชื้อคลอส ตริเดียมเฉพาะไซเลจกลุ่มควบคุมและไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อในปริมาณ 10^4 cfu/g ของพืชสดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนไซเลจที่หมักด้วยหัวเชื้อกลุ่มอื่น ๆ ตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวที่อัตราการเจือจาง 10^{-2}cfu/g ของไซเลจ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดบิวทิริคที่ตรวจไม่พบตลอดการทดลอง

3.2 ผลของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เสริมในพืชต่อประสิทธิภาพการหมักไซเลจ

เนื่องจากพืชอาหารสัตว์เขตร้อนมักมีปริมาณน้ำตาลที่จะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสในช่วงที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวต่ำ (Titterton and Bareeba, 2004) การผลิตไซเลจจากพืชดังกล่าวจึงมีคุณภาพต่ำและมีความแปรปรวนสูง เพื่อเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงทำการศึกษาระดับกลูโคสที่เหมาะสมในการเสริมลงในพืชก่อนการหมัก ซึ่งได้ผลการทดลองดังตารางที่ 23