บทคัดย่อ

หญ้าหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่ได้จากกระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์สด โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์เพื่อการถนอมพืชอาหารสัตว์ ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าหญ้าแห้ง ไว้ใช้ในฤดูกาลที่ไม่สามารถผลิตพืชสดได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนารูปแบบของกล้าเชื้อหญ้าหมัก จากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์เด่นที่พบในหญ้าหมักที่ผลิตในประเทศไทยและในทางเดินอาหารของโคที่มีความเหมาะสมทั้งใช้เป็นกล้าเชื้อและสารเสริมชีวนะสำหรับโค จากแบคทีเรียกรดแล็กติกที่นำมาศึกษาจำนวน 191 ไอโซเลต คัดเลือกได้ 11 ไอโซเลต (สายพันธุ์) ซึ่งสามารถระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาได้ คือ *Lactobacillus acidophilus* SUTC-T2R15, *L. brevis* SUTC-SL17, *L. fermentum* SUTC-P46, *L. paracasei* SUTC-T1R18, *L. plantarum* SUTC-T1R28, *L. rhamnosus* SUTC-T8F1, *Lactococcus lactis* SUTC-D44, *Leuconostoc mesenteroides* SUTC-FL36, *Pediococcus damnosus* SUTC-MCN23, *Pediococcus pentosaceus* SUTC-M2D3 และ *Pediococcus* sp. SUTC-F20 เมื่อศึกษาส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อลดต้นทุนการผลิตกล้าเชื้อจากส่วนประกอบของอาหารมาตรฐาน พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาได้ประกอบด้วย น้ำตาลทรายที่ผลิตจากอ้อย แอมโมเนียมซัลเฟต สารสกัดจากยีสต์ โซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต และแมงกานีสซัลเฟต ร้อยละ 2.0, 3.0, 0.5, 0.5, 0.2, 0.02 และ 0.004 ตามลำดับ มีสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ไม่มีการให้อากาศ แบคทีเรียกล้าเชื้อที่คัดเลือกทุกสายพันธุ์มีรูปแบบของการเจริญคล้ายคลึงกันที่ให้ปริมาณเซลล์สูงโดยเฉลี่ย 10^8-10^9 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเจริญได้ 18-20 ชั่วโมง จากการทดลองหารูปแบบของกล้าเชื้อเพื่อใช้หมักพืชอาหารสัตว์สด ด้วยการเตรียมเป็นกล้าเชื้อเดี่ยวที่สามารถเตรียมเป็นกล้าเชื้อผสมก่อนการใช้งานได้ง่าย พบว่ารูปแบบเชื้อแห้ง (ความชื้นประมาณร้อยละ 13-16) ที่มีกากถั่วเหลืองเป็นสารตัวกลางบรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิทปริมาณ 500 กรัมต่อถุง ช่วยรักษาการมีชีวิตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด และให้ความสะดวกในการกระจายเชื้ออย่างทั่วถึงในวัสดุหมักได้ง่าย สามารถเก็บกล้าเชื้อรูปแบบนี้ที่อุณหภูมิห้องได้นานอย่างน้อย 30 วัน และที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 2-6 เดือน ขึ้นกับสายพันธุ์ของแบคทีเรียกล้าเชื้อ เมื่อทดลองใช้กล้าเชื้อในรูปแบบที่พัฒนาได้ ผลิตหญ้าหมักจากหญ้าเนเปียร์ ณ ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโค ด้วยเชื้อเริ่มต้นในวัสดุหมักประมาณ 10^5-10^6 เซลล์ต่อกรัม หมักเป็นเวลา 21 วัน หญ้าหมักมีกลิ่นหอมของการหมัก หญ้าหมักที่เติมกล้าเชื้อมีความเป็นกรด-ด่างโดยเฉลี่ย 4.2-4.5 ซึ่งต่ำกว่าหญ้าหมักที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (มีความเป็นกรด-ด่างโดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.7) จัดได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์หญ้าหมักที่มีคุณภาพดี กล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* SUTC-D44, *Lactobacillus acidophilus* SUTC-T2R15, *L. paracasei* SUTC-T1R18, *L. plantarum* SUTC-T1R28 และ *L. rhamnosus* SUTC-T8F1 มีศักยภาพสูงในการใช้ผลิตหญ้าหมัก และให้ผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่สัตว์สามารถบริโภคอาหารพร้อมแบคทีเรียกล้าเชื้อที่มีชีวิตที่สามารถให้ประโยชน์ต่อในด้านสารเสริมชีวนะ

Silage is an animal feed product obtained from controlled microbial fermentation of green forage crop retaining high moisture content and preserving the forage crop to be used as succulent feed during periods of feed scarcity. This study aimed to develop silage inoculant formula from dominant strains of lactic acid bacteria inhabiting natural silage produced in Thailand and from cow's digestive tract. The bacterial strains should be suitable for applying as both silage inoculants and probiotics. Eleven lactic acid bacterial isolates (strains) identified by their morphological and physiological characteristics as belonging to *Lactobacillus acidophilus* SUTC-T2R15, *L. brevis* SUTC-SL17, *L. fermentum* SUTC-P46, *L. paracasei* SUTC-T1R18, *L. plantarum* SUTC-T1R28, *L. rhamnosus* SUTC-T8F1, *Lactococcus lactis* SUTC-D44, *Leuconostoc mesenteroides* SUTC-FL36, *Pediococcus damnosus* SUTC-MCN23, *Pediococcus pentosaceus* SUTC-M2D3, and *Pediococcus* sp. SUTC-F20, were selected from the total of 191 isolates to be used as silage inoculants. These bacterial strains could grow very well in the cheap developed medium compared to lactic acid bacterium standard medium. The developed medium composed of cane sugar, ammonium sulphate, yeast extract, sodium acetate tri-hydrate, di-potassium hydrogen phosphate, magnesium sulfate, and manganese sulfate at concentrations of 2.0, 3.0, 0.5, 0.5, 0.2, 0.02, and 0.004%, respectively. The suitable cultivation conditions were at 30-35 degree Celsius without aeration. All 11 selected bacterial strains had similar growth profiles. Their high cell counts of 10^8-10^9 CFU per milliliter could be achieved after cultivation for 18-20 hours. The silage inoculant formula was then investigated. The best formula comprising only single strain of starter culture, which could be easily mixed to prepare mixed starter cultures before using, was the dry culture formula using soybean meal as supporting medium and containing approximately 13-16% moisture contents, in sealed plastic bag (500 grams per bag). The dry formula could preserve live inoculant bacteria during storage at room temperature for at least 30 days, and at 4 degree Celsius for 2-6 months depending on bacterial strains. It was also convenient for mixing to plant raw material for preparing silage. The dry culture formula was tested for producing silages using fresh Napier grass in a cattle farm. Silage prepared without adding inoculant (control) was compared to products with adding the bacterial inoculants (10^5-10^6 cells per gram of raw material). After incubation for 21 day, the animal feed products were very similar in appearance, and good qualities. The average pH of the grass silages with inoculants were 4.2-4.5, which were lower than the control silage (pH 4.7). Five strains of the silage inoculants belonging to *Lactococcus lactis* SUTC-D44, *Lactobacillus acidophilus* SUTC-T2R15, *L. paracasei* SUTC-T1R18, *L. plantarum* SUTC-T1R28, and *L. rhamnosus* SUTC-T8F1 had high potential as inoculants to produce silage from fresh Napier grass, and could be performed as probiotics in cattle.