

โปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ใช้เสริมในอาหารมนุษย์และสัตว์ โดยมีวัตถุประสงค์ในการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ดังนั้นจุลินทรีย์โปรไบโอติกจะต้องมีความสามารถในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูงในกระเพาะอาหารและสามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่หลังในลำไส้เล็กได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตั้งตำรับนำส่งเชื้อโปรไบโอติกรูปแบบต่าง ๆ พร้อมทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมสัตว์ปีกต่อไป

จากการทดลองตั้งตำรับนำส่งเชื้อ 2 รูปแบบ คือ ตำรับชนิดแกรนูลและตำรับชนิดแคลเซียมอัลจิเนตบีด โดยใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0 % (w/v) เป็นสารช่วยยึดเกาะ พบว่า ตำรับชนิดแกรนูลและแคลเซียมอัลจิเนตบีด สามารถกักเก็บเซลล์โปรไบโอติกได้ประมาณ 12 - 13 log cfu/g และ 16 cfu/g ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 69 - 77 % และ 84 % ตามลำดับ จากความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์เท่ากับ 20 log cfu/ml และจากการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับแกรนูล พบว่า ความแข็งแรงของแกรนูลที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่เพิ่มขึ้น ในทางกลับกันความสามารถในการแตกตัวของแกรนูลจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเพิ่มขึ้น สำหรับตำรับแคลเซียมอัลจิเนตบีดเมื่อตรวจดูลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า มีเซลล์ของโปรไบโอติกเป้าหมายยึดเกาะกับ matrix ของแคลเซียมอัลจิเนต เมื่อทดสอบตำรับนำส่งเชื้อทั้ง 2 รูปแบบ กับ stimulated gastric fluid (SGF) pH 1.8 เป็นเวลา 120 นาที simulated intestinal fluid (SIF) pH 6.5 เป็นเวลา 180 นาที พบว่า แกรนูลสามารถแตกตัวปลดปล่อยเซลล์โปรไบโอติกได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 60 นาที แรกที่สัมผัสกับ SGF และแกรนูลทุกสูตรมีเซลล์เหลือรอดชีวิตเมื่อสิ้นสุดการทดลองประมาณ 2 - 3 log cfu/ml สำหรับแคลเซียมอัลจิเนตบีดจะค่อย ๆ ปลดปล่อยเซลล์ออกมาและปลดปล่อยเซลล์ออกมาได้มากที่สุดเมื่อสัมผัสกับ SGF เป็นเวลา 120 นาที สำหรับแคลเซียมอัลจิเนตที่เตรียมจากสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1.0 และ 1.5 % (w/v) แต่ที่ความเข้มข้น 2.0 % (w/v) แคลเซียมอัลจิเนตจะปลดปล่อยเซลล์ได้ไม่เต็มที่เนื่องจากแตกตัวได้ไม่สมบูรณ์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองแคลเซียมอัลจิเนตทุกสูตรให้เซลล์ที่รอดชีวิตสูงกว่าตำรับแกรนูล และแคลเซียมอัลจิเนตที่เตรียมจากสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1.5 % (w/v) จะให้เซลล์ที่มีชีวิตเหลือรอดมากที่สุดเท่ากับ 9.30 log cfu/ml คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เซลล์รอดชีวิต เท่ากับ 61.61% ดังนั้นจึงคัดเลือกตำรับนี้มาทดสอบคุณสมบัติการคงสภาพ พบว่า แคลเซียมอัลจิเนตยังคงมีเชื้อที่มีชีวิตอยู่ในระดับที่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน และผู้วิจัยได้เลือกการใช้เทคนิคอัลชัน ในการเพิ่มปริมาณแคลเซียมอัลจิเนตบีดเพื่อศึกษาการส่งเสริมภูมิคุ้มกันในไก่เนื้อ

เมื่อเสริมริชีสแทนท์สตาร์ช (ฟรีไบโอติก) 3% โปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) และฟรีไบโอติก 3% ร่วมกับโปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) แล้ววัดประสิทธิภาพการผลิต ระดับกรด-ด่างในลำไส้เล็กส่วนอีเลียมและไส้ตัน ความสูงของวิลโล ความลึกของครีปและสัดส่วนของวิลโลต่อครีป บริเวณลำไส้เล็กส่วนอีเลียม ค่าคะแนนจำนวนแบคทีเรียในลำไส้ ภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล จำนวนจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* และ *Salmonella* spp. ผลการศึกษาพบว่าฟรีไบโอติก 3% มีผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตของไก่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) และฟรีไบโอติก 3% ร่วมกับโปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) โปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) มีผลเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. และลดจำนวนจุลินทรีย์ชนิด *E. coli* และ *Salmonella* spp. สำหรับการใส่ฟรีไบโอติก 3% ร่วมกับโปรไบโอติก ( $10^7$  cfu/ml) พบว่ามีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตและจำนวนจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ไม่ชัดเจนเท่ากับการใส่ฟรีไบโอติกหรือโปรไบโอติกอย่างเดียวอย่างหนึ่ง

Probiotics are microorganisms which settle in the intestine medium and render healthful effects on the host (humans or animals), substantially via maintenance and improvement of the microbial balance of the intestine. Therefore, they should be survived in highly acidic condition of the stomach and highly basic condition of bile salt of the intestinal. The objective of this research is to develop process of entrapment of probiotics. Study of improvement the of immune system of the poultry was also performed in order to apply in poultry industry.

Two processes of enclosure of probiotics are probiotic granules and calcium alginate beads. Sodium alginate solution at three concentration (1.0, 1.5 and 2.0 %(w/v)) as binder was used. The results showed that  $20 \log \text{cfu/ml}$  initial concentration of cells could be entrapped by the granules and calcium alginate beads with probiotic amount of  $12 - 13 \log \text{cfu/g}$  and  $16 \text{cfu/g}$ , respectively. Survival percentages were 69 – 77 % and 84 %, respectively. Physical properties of granules revealed that the granule strength increase with increasing of sodium alginate solution concentration. On the other hand, the granule dissolution decreased. Study of calcium alginate bead structure by using SEM found that there are a number of probiotic cells adhere with matrix of calcium alginate. Probiotic granules completely release the enclosure cells within 60 min after suspend in stimulate gastric fluid (SGF) pH 1.8 and finally, all formula of granule have survival cells amount of  $2 - 3 \log \text{cfu/ml}$ . Calcium alginate beads gradually released bacterial cells and completely released in SGF within 120 min (Calcium alginate beads formulated from sodium alginate solution 1.0 and 1.5 %(w/v)). 2.0 %(w/v) sodium alginate solution formulation could not completely release probiotics. Calcium alginate beads contained more survival cells than granules formulation. Calcium alginate beads formulated from 1.5 %(w/v) sodium alginate solution show the highest survival cells amount of  $9.30 \log \text{cfu/ml}$  (survival percentage was 61.61%). Hence, we use it to study immune improvement. Emulsion technique was used for the up scale process. It was found that the survival rate of probiotic cells in calcium alginate beads still high although storage for 2 month.

Adding of 3 % resistance starch (prebiotic),  $10^7 \text{cfu/ml}$  probiotic and synbiotic (3 % prebiotic and  $10^7 \text{cfu/ml}$  probiotic) to determine the performance of production, pH of ilium and cecum, high of villi, deep of crypt region ilium intestine, scores of intestinal bacteria, immune against Newcastle disease and number of *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* and *Salmonella* spp. It was found that prebiotic treatment group showed the best performance of production among all treatments. Synbiotic and probiotic treatment showed the higher amount of *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. in poultry intestinal tract. Decrease amount of *E. coli* and *Salmonella* spp. were also observed. Using of synbiotic show unclear in the performance of production and amount of various microbe compared to usage of probiotics or prebiotics.