



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัปดาห์

สัปดาห์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน
นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของ ไก่กระທး

Effects of Adding Formic Acid in Drinking Water on Performance, Immunity, Microbial
Ecology in Digestive Tract and Minerals Retention of Broiler

นามผู้วิจัย นางสาวพิชญา แซ่อึ้ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ยุวเรศ เรืองพานิช, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์เปรมใจ ตริสรานูวัฒนา, M.Stat.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน นิเวศวิทยา
ของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระທး

Effects of Adding Formic Acid in Drinking Water on Performance, Immunity,
Microbial Ecology in Digestive Tract and Minerals Retention of Broiler

โดย

นางสาวพิชญา แซ่อึ้ง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตวบาล)
พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พินญา แซ่อึ้ง 2553: ผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน
นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่อกระตง ปรินญาวิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 125 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน นิเวศวิทยา
ของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่อกระตง โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ
การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory
Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอรั่มิกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum
Bacteriocidal Concentration, MBC) ในห้องปฏิบัติการ เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ *Escherichia coli*,
Salmonella typhimurium, *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* จากการทดลอง พบว่า เชื้อ
Escherichia coli และ *Salmonella typhimurium* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.10% และ 0.15% ตามลำดับ
ขณะที่เชื้อ *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.15% และ 0.20%
ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซาก
สัตว์วิทยาของระบบทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย และการสะสมแร่ธาตุของไก่อกระตง โดยใช้
ไก่อกระตงเพศผู้ อายุ 1-42 วัน (สายพันธุ์ ROSS 308) จำนวน 600 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว โดย
เสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่างกัน 4 ระดับ คือ 0 (กลุ่มควบคุม) 0.01 0.05 และ 0.10% การเสริมกรดฟอรั่มิกทำ
ให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำดื่มลดลง โดยพบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีผลต่อ
สมรรถภาพการผลิตเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่ การเสริมที่ระดับ
0.10% ทำให้สมรรถภาพการผลิตลดลง ($P<0.01$) นอกจากนี้การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% ทำให้อัตรา
น้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอก (กรัม) ลดลง ($P=0.04$) การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มส่งผลให้ปริมาณ *E. coli* ในน้ำ
ลดลง ($P<0.01$) การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% มีผลให้ความเป็นกรด-ด่างบริเวณกระเพาะพักลดลง
($P=0.02$) แม้ว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกไม่มีผลต่อความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง แต่การ
เสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% ส่งผลให้ความสูงวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้น ($P=0.03$) ขณะที่การ
เสริมที่ระดับ 0.10% ทำให้ความสูงวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นลดลง ($P<0.01$) และอัตราส่วนของเม็ดเลือด
ขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ส่วนความเข้มข้นของ IgG และการสะสมแร่ธาตุใน
กระดูกมีแนวโน้มลดลง และอาจมีผลต่อความสามารถในการเดิน จากการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริม
กรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต ขณะที่การเสริมกรดฟอรั่มิก
ที่ระดับ 0.10% ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในด้านลบ

Pichaya Sae-ung 2010: Effects of Adding Formic Acid in Drinking Water on Performance, Immunity, Microbial Ecology in Digestive Tract and Minerals Retention of Broiler. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 125 pages.

Two experiments were designed to study effects of adding formic acid in drinking water on performance, immunity, microbial ecology in digestive tract and minerals retention of broilers. First experiment was conducted to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of formic acid to against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritis* and *Staphylococcus aureus*. The result showed that MIC and MBC of formic acid against to *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* were 0.10 and 0.15%, respectively. While MIC and MBC of formic acid against to *Salmonella enteritis* and *Staphylococcus aureus* were 0.15 and 0.20%, respectively. Second one was investigated the effects of adding formic acid in drinking water on performance, immunity, intestinal ecology and minerals retention of broiler. Six hundreds of day old male ROSS 308 chicks were divided into 4 groups of 6 replications with 25 chickens/each. Total of 4 treatment groups of drinking water were performed; 1) control (without formic acid supplementation), 2) formic acid 0.01%, 3) formic acid 0.05% and 4) formic acid 0.10%. The result indicated the adding formic acid into drinking water decreased pH of the drinking water. Adding formic acid 0.01 and 0.05% did not effect to production performance when compared to control group ($P>0.05$). Conversely, adding formic acid 0.10% in drinking water significantly depressed production performance ($P<0.01$). Moreover, breast (g) was significantly decreased by adding 0.10 % formic acid ($P=0.04$). *E. coli* counts in the drinking water significantly decreased by increasing formic acid ($P<0.01$). In the present study, adding formic acid to drinking water at 0.10% significantly reduced the pH in crop ($P=0.02$). Although, adding formic acid in drinking water did not affect short chain fatty acids concentration in the caecum, but villous height in the jejunum was significantly increased when added 0.01% formic acid ($P=0.03$). Conversely, adding formic acid at 0.10% significantly decreased villous height in duodenum ($P<0.01$) and increased heterophil/lymphocyte ratio ($P<0.05$). Moreover, IgG concentration, mineral retention in bone and walking ability were slightly decreased. This study indicate that adding formic acid in drinking water at 0.01 and 0.05% had no effect on production performance. Conversely, adding formic acid at 0.10% depressed production performance.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยูเรศ เรืองพาณิชย์ และรองศาสตราจารย์ ดร. เปรมใจ ศรีสรานุวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำปรึกษา และแนะนำในการ ทำงานวิจัย และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนความเมตตา และการอบรมสั่งสอนในทุกด้านที่อาจารย์มอบให้ และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ประสารพานิช ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับ นี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่และพนักงานทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ระหว่างที่ทำการทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการ ปฏิบัติงาน นอกจากนี้ ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ ความอนุเคราะห์เงินทุนสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อพยุทธิ และคุณแม่วิมล แซ่อึ้ง ญาติพี่น้องทุกท่าน และ เพื่อนสนิทของข้าพเจ้า ผู้มอบความรัก ความเข้าใจ และคอยให้กำลังใจในการศึกษาและการทำ วิทยานิพนธ์จนสำเร็จ ตลอดจนคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอนรวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ และ น้องๆ นิสิตปริญญาตรี โท และเอก ภาควิชาสัตวบาลทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

พิชญา แซ่อึ้ง

เมษายน 2553

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์	29
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์การทดลอง	41
สรุปและข้อเสนอแนะ	77
สรุป	77
ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	79
ภาคผนวก	99
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	125

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดและคุณสมบัติของกรดอินทรีย์	5
2	ความสามารถของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	6
3	ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย	7
4	ค่าความสามารถในการจับไฮโดรเจนไอออน (H^+) ในกระเพาะอาหารของวัตถุดิบอาหารต่างๆ	10
5	การเปรียบเทียบระบบภูมิคุ้มกันแบบ Innate immunity และ Acquired immunity	18
6	ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารทดลองที่ใช้ในไก่ทดลองระยะเล็กและระยะรุ่น	38
7	องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง จากการคำนวณและการวิเคราะห์ในไก่ทดลองระยะเล็กและรุ่น	39
8	แสดงค่าความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)	43
9	แสดงค่าความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bacteriocidal Concentration, MBC)	44
10	แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณอาหารที่กิน ปริมาณน้ำที่กิน สัดส่วนของปริมาณน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กิน และปริมาณของกรดฟอรั่มิกที่ได้รับของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ	49
11	แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ	53
12	แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่ออัตราการตายของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ	55
13	แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อคุณภาพซากของไก่กระทงที่อายุ 42 วัน	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน)	61
15	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงในระยะรุ่น (22-42 วัน)	62
16	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อจุลินทรีย์ในน้ำดื่มและจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงที่อายุ 42 วัน	64
17	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่งของไก่กระทงที่อายุ 42 วัน (มิลลิลิตร/ลิตร)	65
18	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน)	68
19	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่กระทงในระยะรุ่น (22-42 วัน)	69
20	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ	71
21	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์และความเข้มข้นของ IgG ในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ	74
22	แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อค่า gait score การสะสมแร่ธาตุและความแข็งแรงของกระดูกในไก่กระทงอายุ 42 วัน	76
ตารางผนวกที่		
1	อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุด ในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในช่วงอายุ 1-42 วัน	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
2	การสอบเทียบน้ำหนักจากมวลมาตรฐานของกราฟที่มีช่วงระยะห่าง 10 (range 10)	105
3	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ำยาเคมีและระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ อัตโนมติ (Tissue processing)	107
4	ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining	111
5	ค่าความเข้มข้นของ IgG และค่าการดูดกลืนแสง	123

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของกรดอินทรีย์	5
2	การแตกตัวของกรดอินทรีย์	5
3	โครงสร้างทางเคมีของกรดฟอร์มิก	8
4	กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ในการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของแบคทีเรีย	11
5	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อชีวเคมีไส้เล็ก	16
6	โครงสร้างกระดูกส่วนขาของสัตว์ปีก	26
7	แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อของกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ	45
8	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้รับเฉลี่ยต่อตัวและปริมาณน้ำที่กินในช่วงตลอดการทดลอง (1-42 วัน)	51
9	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินอาหารกับอัตราการเจริญเติบโตในช่วงตลอดการทดลอง (1-42 วัน)	55
10	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัว และน้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอกของไก่กระทองที่อายุ 42 วัน	59
ภาพผนวกที่		
1	แสดงความสูงวิลลัส (Villous height, A) และความลึกคริปต์ (Crypt depth, B) ของเซลล์เยื่อชีวเคมีไส้เล็กของไก่กระทอง	112
2	แสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย IgG ในความเข้มข้นต่างๆ	124

ผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน
นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระທးง

Effects of Adding Formic Acid in Drinking Water on Performance, Immunity,
Microbial Ecology in Digestive Tract and Minerals Retention of Broiler

คำนำ

การผลิตสัตว์ในปัจจุบันต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพการผลิต คือ การให้ผลผลิตสูง ประสิทธิภาพการใช้อาหารสูง และต้นทุนการผลิตที่ต่ำทำให้มีการเสริมสารเร่งการเจริญเติบโตลงในอาหารสัตว์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในระบบทางเดินอาหารและมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโต การให้ผลผลิตสูงขึ้น ดังเช่น การใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ในอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามหลายประเทศได้ประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโต เนื่องจากยาปฏิชีวนะมีผลตกค้าง ซึ่งจะทำให้เกิดการดื้อยาในสัตว์และผู้บริโภค จึงทำให้มีการหาสารทดแทนที่ให้ผลเช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะ (สารโรซ, 2547) เช่น การเสริมฟริไบโอติก โปรไบโอติก สมุนไพรหรือกรดอินทรีย์ เป็นต้น

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกเพื่อการส่งออกมีหลายชนิด เช่น *Campylobacter spp.*, *E. coli*, *Salmonella spp.* และ *Clostridium spp.* สามารถแพร่กระจายได้ในน้ำดื่มซึ่งส่งผลให้เกิดโรคและยับยั้งการเจริญเติบโตของสัตว์ (Pearson *et al.*, 1993) ดังนั้นในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมากรดอินทรีย์จึงถูกใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกมากขึ้นเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งภายในตัวสัตว์ น้ำดื่มและวัสดุรองพื้น (Philipsen, 2005) ทั้งนี้มีงานวิจัยหลายฉบับรายงานว่ากรดอินทรีย์ในอาหารทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารลดลง ส่งผลให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้น เนื่องจากมีผลไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน กระตุ้นความอยากกินอาหาร (Giesen, 2005) และยังมีผลควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารทำให้สัตว์มีสุขภาพดี มีความทนทานต่อโรคสูงขึ้น (Denli and Celik, 2003; Moharrery and Mahzonieh, 2005) อย่างไรก็ตาม การได้รับกรดอินทรีย์มากเกินไปอาจส่งผลเสียต่อตัวสัตว์ โดยทำให้การสะสมแร่ธาตุในกระดูกลดลง โดยพบอาการ bone decalcification ทั้งในสุกร

และสัตว์ปีก (Biagi *et al.*, 2003; Guathier, 2005) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากร่างกาย มีการรักษาสมดุล ความเป็นกรด-ด่างผ่านระบบบัฟเฟอร์ และขับออกผ่านทางไต

กรดอินทรีย์หลายชนิดถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์เพื่อเพิ่มความเป็นกรด ในระบบทางเดินอาหาร โดยกรดอินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามกรดฟอร์มิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีค่าความเข้มข้น ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella spp.* ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่น (Giesen, 2005) ขณะที่ รายงานการวิจัยผลการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิตยังมีค่อนข้างน้อย ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพ การผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่ กระทั่ง

วัตถุประสงค์

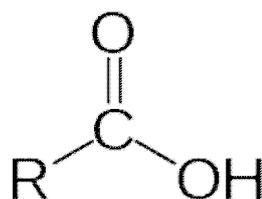
1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอร์มิกในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอร์มิกในการทำลายจุลินทรีย์ (Minimum Bacteriocidal Concentration; MBC) ต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาผลการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพซากของไก่กระทง
3. เพื่อศึกษาผลการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง และลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้
4. เพื่อศึกษาผลการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน
5. เพื่อศึกษาผลการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูกและความสามารถในการเดินของไก่กระทง

การตรวจเอกสาร

กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์หรือกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) เป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่พบได้ในสิ่งมีชีวิต เช่น พืช สัตว์ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น แบคทีเรีย และสามารถสังเคราะห์ได้จากสารอินทรีย์อีกด้วย กรดอินทรีย์มีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอนิล (-C=O , carbonyl) และหมู่ไฮดรอกซิล (-OH , hydroxyl) รวมกันเรียกว่าหมู่คาร์บอกซิล ดังแสดงในภาพที่ 1 กรดเป็นสารประกอบที่มีขั้วสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ ส่งผลให้กรดอินทรีย์ละลายได้ในน้ำ (พรพรรณ, 2540)

เมื่อกรดอินทรีย์อยู่ในสารละลายน้ำ กรดจะแตกตัวให้อิออน เรียกว่า ไอออนไนเซชัน (ionization) การแตกตัวของกรดอินทรีย์แตกต่างจากการแตกตัวของกรดอินทรีย์ โดยกรดอินทรีย์ อาทิ กรดไฮโดรคลอไรด์ สามารถแตกตัวได้ร้อยละ 100 จึงจัดเป็นกรดแก่ (strong acid) ขณะที่กรดอินทรีย์เป็นกรดอ่อน (weak acid) เนื่องจากไม่สามารถแตกตัวได้หมด โดยการแตกตัวอยู่ในสมดุลระหว่างกรดอินทรีย์ คาร์บอกซิเลทไอออน และโปรตอน ดังแสดงในภาพที่ 2 (พงทิพย์และธนานิซ, 2534) กรดอินทรีย์แต่ละชนิดจะให้ความเป็นกรดแตกต่างกันขึ้นกับสถานะความเป็นกรด-ด่าง ที่ปรากฏในขณะนั้น ทั้งนี้กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ มีค่าที่กำหนดความสามารถในการปลดปล่อยความเป็นกรด (ไฮโดรเจนไอออน, H^+) ออกมา เรียกว่าค่า pKa ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเป็นกรด-ด่างที่สารให้ความเป็นกรดแต่ละชนิดจะปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออนออกมาในปริมาณครึ่งหนึ่ง (ค่า pKa ของกรดอินทรีย์ที่แตกตัวมีค่าต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายจะแตกตัวได้สูง และค่า pKa ของกรดอินทรีย์ที่แตกตัวมีค่าสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายจะแตกตัวได้ต่ำ) ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้กรดบางชนิดมีค่า pKa เพียงค่าเดียว แต่กรดบางชนิดมีค่า pKa มากกว่า 1 ค่า แสดงให้เห็นถึงความสามารถของกรดในการปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออนออกมาในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่หลากหลายออกไป (Dibner and Buttin, 2002)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของกรดอินทรีย์

ที่มา: อุดม และคณะ (2547)



ภาพที่ 2 การแตกตัวของกรดอินทรีย์

ที่มา: อุดม และคณะ (2547)

ตารางที่ 1 ชนิดและคุณสมบัติของกรดอินทรีย์

ชนิดกรด	สูตรทางเคมี	มวลโมเลกุล	pK _a
กรดฟอร์มิก	HCOOH	46.03	3.75
กรดอะซิติก	CH ₃ COOH	60.05	4.76
กรดโพรปีโอนิก	CH ₃ CH ₂ COOH	74.08	4.88
กรดบิวทริก	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	88.12	4.82
กรดแลคติก	CH ₂ CH(OH)COOH	90.08	3.83
กรดฟูมาริก	COOHCH:CHCOOH	116.07	3.02
กรดมาลิก	COOHCH ₂ CH(OH)COOH	134.09	3.40
กรดซิตริก	COOHCH ₂ C(OH)(COOH)CH ₂ COOH	192.14	3.13

ที่มา: คัดแปลงจาก Dibner and Buttin (2002)

กรดอินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตสัตว์เพื่อเพิ่มผลผลิต

กรดอินทรีย์เป็นสารที่นิยมใช้ในการป้องกันเชื้อราเพื่อถนอมคุณภาพของอาหาร (สารโรซ, 2547) นอกจากนี้ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมากรดอินทรีย์หลายชนิดถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรม การผลิตสัตว์เพื่อเพิ่มความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหาร (Blanchard, 2004) โดยกรดอินทรีย์ แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังแสดง ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสามารถของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ชนิดกรด	ผลยับยั้งการเจริญเติบโต	ผลยับยั้งการเจริญเติบโตน้อย	ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต
กรดฟอร์มิก	ยีสต์และแบคทีเรีย (<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.)	Lactic acid bacteria และเชื้อรา	-
กรดอะซิติก	แบคทีเรีย	ยีสต์และเชื้อรา	-
กรดโปรปิโอนิก	เชื้อรา	แบคทีเรีย	ยีสต์
กรดบิวทิริก	แบคทีเรีย (<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.)	-	-
กรดแลคติก	แบคทีเรีย	-	ยีสต์และเชื้อรา
กรดซิดิก	-	แบคทีเรีย	-
กรดมาลิก	ยีสต์และแบคทีเรีย	-	-
กรดซอร์บิก	ยีสต์ เชื้อรา และแบคทีเรีย	-	-

ที่มา: คัดแปลงมาจาก Dhawale (2005)

ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกมีการใช้กรดอินทรีย์เพียงชนิดเดียวหรือผสมหลายชนิดรวมกันทั้งนี้เพื่อการตอบสนองต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Dhawale, 2005) ประสิทธิภาพในการป้องกันการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นตามความยาวของโมเลกุล (จำนวนคาร์บอนอะตอม) ค่าคงที่การแตกตัวของกรด ค่า pK_a และระดับความไม่อิ่มตัว ซึ่งค่าดังกล่าวมีผลทำให้ความเป็นกรดลดลง (Moharrery and Mohzonieh, 2005) ดังนั้นช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่มากขึ้นส่งผลให้

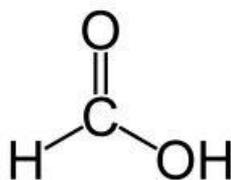
กรดอินทรีย์มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีในสภาพความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

ชนิด	ช่วงความเป็นกรด-ด่าง
<i>E. coli</i>	6.0-8.0
<i>Salmonella</i> spp.	6.0-7.5
<i>Streptococcus</i> spp..	6.0-7.5
<i>Staphylococcus</i> spp.	6.8-7.5
<i>Clostridium</i> spp.	6.0-7.5
<i>Lactobacillus</i> spp.	5.4-6.4

ที่มา: Dhawale (2005); Hai Meng (2006)

กรดฟอร์มิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่น (Giesen, 2005) และกรดฟอร์มิกจัดเป็นกรดสายสั้น โดยมีค่า pKa เท่ากับ 3.75 และสูตรโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 3 (Foegeding and Busta, 1991) ซึ่งกรดฟอร์มิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด เนื่องจากกรดฟอร์มิกสามารถฆ่าเชื้อโรคได้ด้วยประสิทธิภาพสูง และกรดฟอร์มิกยังระเหยได้ (volatile) จึงช่วยป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อโรคในอาหาร และราคาถูก (สารโรซ, 2547)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟอร์มิก

ที่มา: อุดม และคณะ (2547)

การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพักของไก่ลดลง และมีผลต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *Salmonella* spp. (Byrd *et al.*, 2001) เนื่องจากแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง (Dibner and Buttin, 2002) ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5-4 มีผลต้านจุลินทรีย์แกรมลบ โดยการทำลายเนื้อเยื่อของเซลล์จุลินทรีย์และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนั้นเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (วาริและคณะ, 2545) นอกจากนี้ กรดฟอร์มิกยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ และเชื้อรา (Dhawale, 2005)

กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์

1. กรดอินทรีย์ช่วยปรับให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณกระเพาะลดลง ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร (pH 2.0-3.5) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์เปปซิน (pepsin) และช่วยให้การสลายโครงสร้างของโปรตีนเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Cranwell, 1995)

โดยทั่วไปวัตถุดิบอาหาร มีฤทธิ์ในการต้านการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างสูง (**high buffering capacity หรือ high acid binding capacity**) เช่น หินปูน กากถั่วเหลือง ปลาป่น และนมผง (ตารางที่ 4) ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในกระเพาะสูงขึ้นถึงระดับ 5.5-6.0 เป็นช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมต่อการเติบโต และแพร่ขยายของเชื้อก่อโรค เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา (สารوخ, 2547) เนื่องจากวัตถุดิบอาหารมีคุณสมบัติในการจับยึดไฮโดรเจนไอออน (H^+) ความเป็นกรดในกระเพาะจากกรดเกลือจะถูกยึดจับโดยอาหารทำให้เหลือไฮโดรเจนไอออนในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการสลายโครงสร้างของโปรตีนและกระตุ้นการทำงานของน้ำย่อย (เสกสม, 2547)

เมื่อกรดอินทรีย์แตกตัวได้ไฮโดรเจนไอออน จะไปยึดเกาะกับ **acid binding receptor** ของวัตถุดิบอาหารส่งผลให้กรดเกลือในกระเพาะไม่สามารถจับกับอาหารได้ ทำให้กรดอินทรีย์สามารถลดค่าจำเพาะในการใช้กรดที่สร้างจากกระเพาะอาหารลงจึงส่งผลให้ปริมาณกรดเกลือเพียงพอในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และปรับให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างในลำไส้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของน้ำย่อยจากตับอ่อนและลำไส้ ทำให้มีสภาพเป็นกรดอ่อนๆ การใช้ประโยชน์ของอาหาร เช่น โปรตีน แป้ง ไขมัน มีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนั้นผลจากการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารทำให้ค่าจำเพาะในการใช้กรดลดลง โดยไปขัดขวางการรวมตัวของกรดเกลือกับวัตถุดิบอาหารเรียกว่า **anti-buffering effect** (เสกสม, 2547)

2. ควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร สารที่ให้ความเป็นกรดมีฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และมีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ นอกจากนี้ สารที่ให้ความเป็นกรดสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ โดยการควบคุมสภาวะความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารที่บริเวณไส้ตั้งให้มีความเป็นกรดอ่อนๆ ทำให้เหมาะสมต่อการดำรงชีพและเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น **Lactobacillus** และมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษเช่น **E. coli** และ **Salmonella spp.** (เสกสม, 2547) ฉะนั้นกรดอินทรีย์มีผลทำให้สมดุลของจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น (Ivan, 2003)

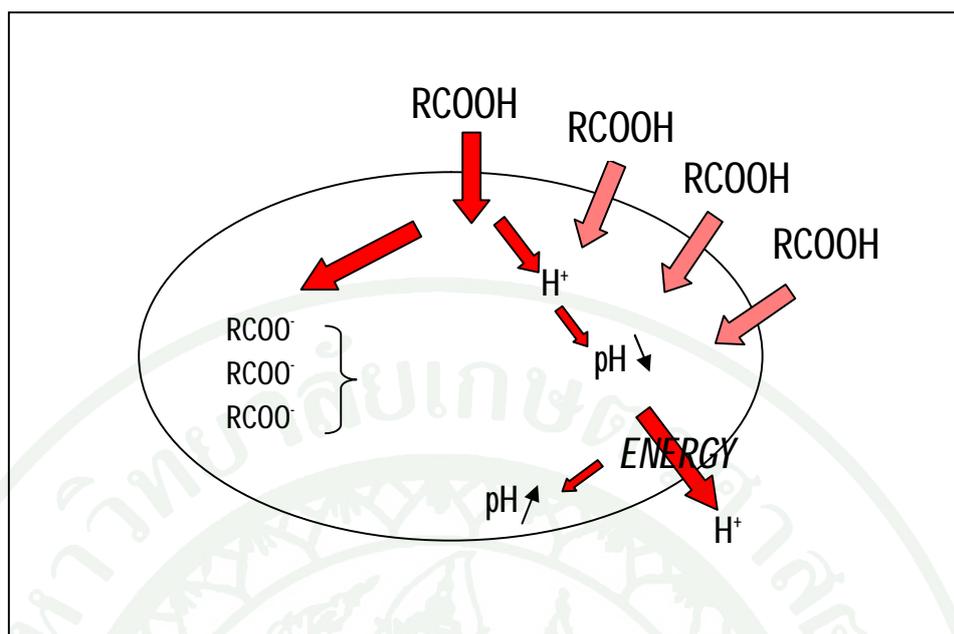
Brul and Coote (1999) อธิบายกลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ โดยพบว่า การแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียในสภาพที่กรดอินทรีย์ยังไม่มี การแตกตัว (**undissociated**) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอินทรีย์สายโซ่สั้น ที่มีลักษณะคล้ายกรดไขมัน (**fatty acid**) เช่น กรดฟอร์มิก (**formic acid**) กรดอะซิติก (**acetic acid**) กรดโพรพิโอนิก (**propionic acid**) และ กรดแลคติก (**lactic acid**) โดยจะไปทำลายหรือก่อกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย

ซึ่งภายในเซลล์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 7 ทำให้กรดอินทรีย์แตกตัวปล่อยไฮโดรเจน (H^+) และแอนไอออน ($RCOO^-$) ส่งผลให้ภายในเซลล์แบคทีเรียมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลง มีผลต่อการทำงานของกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ จนเซลล์ไม่สามารถทนอยู่ได้ในสภาวะที่เป็นกรด เช่น ที่สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ **decarboxylases** และกระบวนการไกลโคไลซิส นอกจากนั้นแอนไอออน ($RCOO^-$) ที่เกิดขึ้นจะสะสมอยู่ภายในเซลล์ เกิดความเป็นพิษจากประจุลบ ทำให้ภายในเซลล์มีการสูญเสียพลังงานในการรักษาสมดุลภายในเซลล์ ส่งผลให้แรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายในที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าความสามารถในการจับไฮโดรเจนไอออน (H^+) ในกระเพาะอาหารของวัตถุดิบอาหารต่างๆ

วัตถุดิบ	ความสามารถในการจับไฮโดรเจนไอออน (meq/kg)	
เมล็ดธัญพืช	ข้าวโพด	200
	ข้าวบาร์เลย์	250
	ข้าวสาลี	200
	ข้าวโอ๊ต	250
	ข้าวโอ๊ตนี้้ง	175
แหล่งโปรตีน	กากถั่วเหลือง (48%)	950-1200
	นมผง skim milk	950-1100
	ปลาป่น	1500-1900
	เลือดป่น	1100
	ปลาสด	1400
แร่ธาตุ	โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต	2400
	ไดแคลเซียมฟอสเฟต	6500
	หินฟูน, แคลเซียมคาร์บอเนต	19600
กรดอะมิโน	เมทไธโอนีน (DL-Methionine)	550
	ไลซีน (Lysine HCl)	550

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Partanen and Mroz (1999)



ภาพที่ 4 กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ในการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของแบคทีเรีย

ที่มา: Gauthier (2005)

Van de Eijk (2002) รายงานว่ากลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อการเพิ่มสมรรถภาพการผลิตสัตว์ ในช่วงแรกของชีวิตบริเวณกระเพาะพักของลูกไก่ยังพัฒนาไม่เต็มที่ สังเคราะห์และหลังกรดเกลือบริเวณกระเพาะแท้ได้น้อย ประกอบกับวัตถุดิบบางชนิดมีฤทธิ์ในการต้านการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างสูง เช่น กากถั่วเหลือง ปลาป่น และหินฟูน ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารสูงขึ้น สภาพดังกล่าวทำให้ลูกไก่ย่อยอาหารได้ไม่เต็มที่ และยังเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *E. coli* และ *Salmonella spp.* ลูกไก่จึงเกิดอาการท้องเสีย (Hardy, 1999) นอกจากนี้กรดอินทรีย์ เช่น fumaric acid จะเป็นแหล่งพลังงานเฉพาะที่ภายในบริเวณลำไส้เล็ก และยังทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น lactic acid bacteria มีผลต่อกระบวนการย่อยสลาย uric acid ของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เช่น ที่บริเวณลำไส้เล็ก หรือไส้ติ่ง เกิดกรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA) เกิดการดูดซึมกรดไขมันไปใช้เป็นพลังงานแบบ passive transport (Sudo and Duke, 1980) และเพิ่มความสูงของ microvilli ทำให้การดูดซึมดีขึ้น การเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารและน้ำดื่มจึงเป็นการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

3. กรดอินทรีย์มีผลเช่นเดียวกับ **chelating agents** โดยกรดอินทรีย์ จับกับประจุบวกของแร่ธาตุ (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} และ Zn^{2+}) ส่งผลทำให้การย่อยและการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น (Bolduan, 1999)

4. กรดอินทรีย์เป็นตัวกลางในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ทำให้เกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในร่างกาย เช่น มวลรวมของร่างกายและผลผลิตไข่ (Okolelova and Krivoruchko, 1991) โดย การเสริม **citric acid** จะช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ **glutamate dehydrogenase**, **glutamate-oxaloacetate transaminase** และ **glutamate-pyruvate transaminase** ในตับ ซึ่งการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ **transaminase** เป็นการนำโครงสร้างคาร์บอนของ **citric acid** ไปสังเคราะห์เป็น **nonessential amino acids** (Grassmann and Klasna, 1986)

5. กรดอินทรีย์มีผลลดการเกิด **biogenic amine** เช่น **cadaverine** และ **putresin** ที่สูงขึ้นทำให้ไก่กระทงมีสมรรถภาพการผลิต และประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำลง เนื่องจากเกิดแผลในกระเพาะและกระเพาะแท้ (Barnes *et al.*, 2001) ดังนั้นปริมาณกรดอินทรีย์ที่สูงขึ้น จึงทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคลดลง ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสมรรถภาพการผลิตดีขึ้น เนื่องจากเกิด **biogenic amine** ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ **decarboxylase** ของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง (Vesela *et al.*, 2003)

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารของไก่กระทง ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด จากการศึกษาพบว่าระบบทางเดินอาหารของสัตว์แรกเกิดไม่มีจุลินทรีย์ แต่จุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมจะเข้าไปในระบบทางเดินอาหารภายในระยะเวลาไม่นานหลังฟักออกจากไข่ และแม่เป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ที่สำคัญแก่ลูกสัตว์ ระบบทางเดินอาหารเป็นส่วนที่มีจุลินทรีย์จำนวนมากและแตกต่างกันถึง 400-500 ชนิด (บุษบา, 2543) นอกจากนี้ Alles *et al.* (1996) รายงานว่า ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียไม่มาก ประมาณ 10^3 ตัวต่อมิลลิเมตร เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้จะถูกทำลายโดยกรด และเอนไซม์จากกระเพาะอาหารและลำไส้ ในลำไส้ส่วน โคลอนพบจุลินทรีย์มากที่สุด ประมาณ 10^{11} เซลล์ต่อกรัมของมูล และในลำไส้ใหญ่มีจุลินทรีย์ประมาณ 50 ชนิด แตกต่างกันตามชนิดของอาหาร (บุษบา, 2543) จุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ **Bacteriodes**, **Bifidobacterium**, **Fusobacterium**, **Eubacterium**, **Lactobacillus**, **Coliform**, **Clostridium** และยีสต์ (Bouhnik *et al.*, 1997)

จำนวนและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในกระเพาะและลำไส้ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความเหมาะสมของระดับความเป็นกรด-ด่าง ในลำไส้ ระบบสรีรวิทยาของสัตว์ การบีบตัวของกระเพาะและลำไส้ การไช้ยา และระบบภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ (Gibson and Collins, 1999) จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหาร ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด สามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. ประเภทที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic microflora) เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดความผิดปกติในร่างกาย ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ เช่น *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* และ *Campylobacter sputorum* ซึ่งก่อให้เกิดอาการท้องเสียโดยทำให้มีของเหลวในลำไส้มากขึ้น (Kyriakis, 1983) เช่น *E. coli* จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆ (short-rod shape) ขนาดเล็ก จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีแคปซูลบางๆ หุ้มเซลล์ไว้เคลื่อนที่โดยใช้เส้นรอบตัว (peritrichous flagella) เป็นสาเหตุของอาการท้องเสียทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดย *E. coli* จะเกาะจับที่ผนังลำไส้ และทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้นหรือสร้างสารพิษ (enterotoxin) ทำลายเซลล์บุผนังลำไส้ (อรุณ, 2537) *Salmonella spp.* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในกลุ่ม Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่าง ไม่มีสปอร์ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย หรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) นอกจากนี้พบว่า *Salmonella spp.* มีหลายสายพันธุ์ ซึ่งก่อให้เกิดโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะ *Salmonella enteritidis* ส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ (Chapman, 1988)

2. ประเภทที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (non-pathogenic bacteria) คือ จุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย อาจมีประโยชน์ในหลายกรณี เช่น ช่วยควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคไม่มีจำนวนมากจนเป็นอันตรายต่อร่างกาย จุลินทรีย์ประเภทนี้ เช่น *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (John et al., 1989), *Bacillus*, *Enterococcus faecium* และยีสต์ (Simon, 2005) *Lactobacillus spp.* พบมากในลำไส้เล็กตอนปลาย จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถทนต่อสภาพที่มีออกซิเจน (Facultative bacteria) จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria โดยสามารถหมักย่อยได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดแลคติก (Sneath et al., 1986)

ผลของการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

1. ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้โดยการแข่งขันแย่งอาหาร และพื้นที่ในการเกาะจับ เยื่อผนังลำไส้ เป็นผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเกาะหรือก่อตัวในระบบทางเดินอาหารหรือ ป้องกันการเกาะตัว โดยตรงต่อเซลล์ ยับยั้งการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทำให้สัตว์มี สุขภาพดี (Fox, 1988; Stark and Wilkinson, 1989)
2. สร้างวิตามินบีในระบบทางเดินอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์ดีขึ้น เนื่องจากมี ความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอะมิโน นอกจากนี้การสร้างโปรตีนและยังเกี่ยวข้องกับการ ทำงานของ ระบบประสาทส่วนกลาง (Stringer, 1985)
3. ขบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ กรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดโพรพิโอนิกและกรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในทางระบบเดินอาหาร ลดลง มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทาง สัตุนาวิทยาในระบบทางเดินอาหาร (Mroz, 2005)
4. ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น *Lactobacillus plantarum* ผลิต lactolin และ *Lactobacillus acidophilus* ผลิต acidophilin, lactocidin, acidolin ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella spp.*, *Streptococci spp.*, *Kerbsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *E. coli* และ *Clostridium perfringens* เป็นต้น (คะนิงนิจ, 2540)
5. การสร้างเอนไซม์ เช่น แล็กเทส (Lactase) และอะมิเลส (Amylase) ทำให้ร่างกายได้รับ เอนไซม์เพิ่มขึ้นเป็นผลให้การย่อยอาหารดีขึ้นโดยมีการทำงานเป็นแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Symbiosis) ของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารและกระบวนการย่อยอาหาร (Sen and Chakrabarty, 1984)

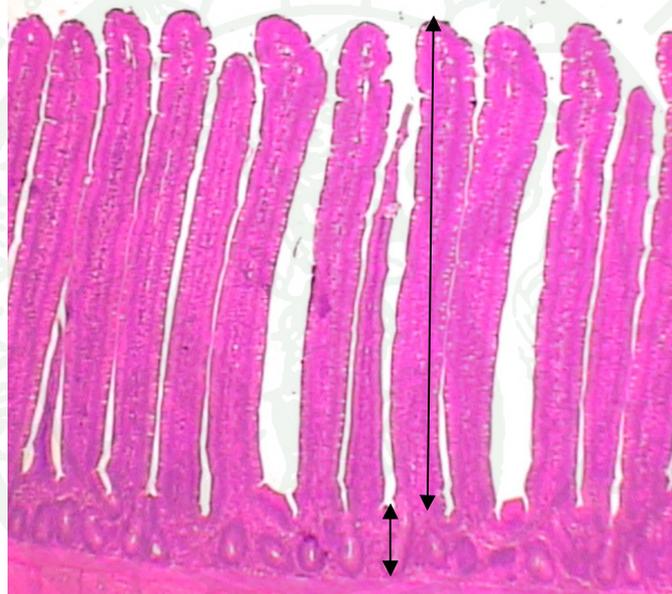
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ระบบทางเดินอาหารเป็นอวัยวะที่มีลักษณะเป็นท่อกวาง (**hollow organ**; อรอนงค์, 2549) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย อาหารที่สัตว์ได้รับจะผ่านอวัยวะต่างๆ ดังนี้ คือ ปาก (**mounth**) หลอดอาหาร (**esophagus**) กระเพาะพัก (**crop**) กระเพาะแท้ (**proventriculus**) กระเพาะบด (**gizzard**) ลำไส้เล็กส่วนต้น (**duodenum**) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (**jejunum**) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (**ileum**) ไส้ติ่ง (**ceacum**) และลำไส้ใหญ่ (**rectum**; วิโรจน์, 2537)

ลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่มีการดูดซึมสารอาหารมากที่สุด เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับทางเดินอาหารส่วนอื่นๆ ลำไส้เล็กแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็กส่วนต้น (**duodenum**) ส่วนกลาง (**jejunum**) และส่วนปลาย (**ileum**) โครงสร้างของส่วนเยื่อผิว (**mucosa**) ในลำไส้เล็กของไก่กระทง มีการพัฒนาทันทีเมื่อได้รับอาหารหลังจากพักออกจากไข่ เพื่อทำการย่อยโภชนาต่างๆ ในอาหาร นอกจากนี้พบว่าพื้นผิวภายในลำไส้มีกิ่งยื่นออกมามากมาย เรียกว่า วิลไล (**villi**) มีหน้าที่ในการดูดซึมสารอาหาร ทั้งนี้มีรายงานว่าวิลไลส และไมโครวิลไลสสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้แก่ลำไส้เล็กได้สูงถึง 600 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อบริเวณอื่นที่มีผิวเรียบ ทรงกระบอกธรรมดา (**Duke, 1986**) หากวิลไลสมีความยาวเพิ่มขึ้น จะก่อให้เกิดผลดีในแง่ของการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของวิลไลสต่อสารอาหารต่างๆ และส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหารในการนำไปใช้ประโยชน์ของร่างกายได้เพิ่มขึ้น โดยอาหารที่ถูกดูดซึมจะเข้าสู่ **portal blood system** และเข้าสู่ตับทาง **portal vein** เนื่องจากสัตว์ปีกไม่มีส่วน **lacteal** ที่แกนของวิลไลสเหมือนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (วิโรจน์, 2537) ดังภาพที่ 5 และที่บริเวณฐานของวิลไลมีถุงรูปร่างคล้ายท่อ เรียกว่า คริปท์ (**crypt**) มีต่อมขับสารที่เรียกว่า ซัคคัสเอนเทอริคัส (**succus entericus**) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ย่อยทั้งคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เช่น **sucrase maltase lactase aminopeptidase** และ **dipeptidase** (พันทิพา, 2547)

ไก่กระทงมีการเจริญเติบโตของวิลไลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในทุกส่วนของลำไส้เล็กหลังพักออกจากไข่ 2 วัน ซึ่งเป็นผลจากการผลิตเซลล์จากส่วนของคริปท์ สอดคล้องกับความลึกของคริปท์ที่เพิ่มขึ้น 2-3 เท่าตามอายุ โดยพบว่าเกิดสูงสุดในส่วน **duodenum** และต่ำสุดในส่วน **ileum** ส่วนของคริปท์จะบุด้วยเซลล์หลายชนิดเซลล์ชนิด **undifferentiated** จะแบ่งตัวแล้วเคลื่อนย้ายขึ้นไปสู่ส่วนปลายของวิลไลส พร้อมกับการเจริญไปเป็นเซลล์ดูดซึม (**Absorptive cell**) และเซลล์หลั่งน้ำเมือก (**Goblet cell**) เพื่อแทนที่เซลล์เก่าที่ลอกหลุดหรือถูกทำลายไปในส่วน **lumen** (**Geyra et al.,**

2001) เซลล์เหล่านี้จะถูกสร้างใหม่ทุก ๆ 2-3 วันในส่วนของเซลล์คริปต์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในความหนาแน่นของเซลล์ดูซึม (enterocyte density) ตามอายุ โดยมีช่วงระหว่าง 200,000-280,000 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตรในทุกส่วนของลำไส้เล็ก (Uni *et al.*, 1995; 1998) อัตราการเคลื่อนย้ายของเซลล์จากคริปต์หลังฟักออก 48 ชั่วโมง ในส่วน duodenum จะสูงที่สุดและ ileum จะต่ำที่สุด แต่หลังจาก 48 ชั่วโมงแล้ว อัตราการเคลื่อนย้ายที่ส่วน duodenum และ jejunum จะเท่ากัน แต่ที่ส่วน ileum ต่ำสุด ดังนั้นอัตราการพัฒนาของลำไส้ไก่กระตังไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งลำไส้ ในส่วน duodenum จะพัฒนาอย่างสมบูรณ์เมื่ออายุ 7 วัน ขณะที่ส่วน jejunum และ ileum จะต้องพัฒนาต่อไปจนกระทั่งไก่อายุ 14 วัน (สุวรรณ, 2548)



ภาพที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็ก

ที่มา: Murakami *et al.* (2007)

กรดอินทรีย์และกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายมีผลปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก (Frankel *et al.*, 1994; Sakata *et al.*, 1995) โดยเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหารสามารถใช้ กรดอินทรีย์และกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายเป็นพลังงานในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนและซ่อมแซมส่วนที่สึกทลาย (Blank *et al.*, 1999, Mroz, 2005) กรดอินทรีย์ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็น

ประโยชน์ มีผลต่อกระบวนการย่อยสลาย **uric acid** ของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และ ไล้ตั้งเกิดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Sudo and Duko, 1980) นอกจากนี้ Rabassa and Rogers (1992) รายงานว่ากรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น ดีเอ็นเอ และไขมัน ซึ่งมีความสำคัญกับการพัฒนาและการเจริญของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้ โดยอาจเป็น ผลจากการกระตุ้นการไหลเวียนของเส้นเลือดในลำไส้ และเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเซลล์เยื่อ บูลำไส้ พลังงานที่เกิดขึ้นจากขบวนการหมักดังกล่าวเป็นแหล่งของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ให้แก่ สัตว์ปีกถึง $7.8-8.6 \text{ KJg}^{-1}$ หรือคิดเป็น 3.5% ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด สอดคล้องกับ Dobergosz *et al.* (1991) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ช่วยเพิ่มความยาวของวิลลัสทำให้มีพื้นที่ ผิวในการดูดซึมสารอาหารมากขึ้น ส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารมีประสิทธิภาพดีขึ้น การเพิ่มความ ยาววิลลัสอาจมีผลมาจากปริมาณ กรดบิวทีริกที่เพิ่มขึ้นซึ่งได้จากการหมักย่อยของจุลินทรีย์ (Galfi and Bokori, 1990; Frankel *et al.*, 1994) โดยกรดบิวทีริกมีบทบาทสำคัญ 2 อย่างคือ เป็นสารอาหาร สำหรับกระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิต ATP ในสถานะที่มีออกซิเจนของเซลล์ และกระตุ้น การเคลื่อนย้ายเซลล์การเจริญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ (Velazquez *et al.*, 1996; Jacobasch *et al.*, 1999)

ระบบภูมิคุ้มกันโรค

ร่างกายของสัตว์จะมีกลไกในการป้องกันตนเองจากเชื้อจุลินทรีย์ และสิ่งแปลกปลอมหรือ ที่รู้จักในชื่อว่า “ภูมิคุ้มกันโรค” หากสัตว์มีระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ดีแล้วจะทำให้สามารถทนทานต่อ การเกิดโรคได้มากขึ้น ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีความคล้ายคลึงกัน แต่มีเพียงบางลักษณะที่แตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ระบบภูมิคุ้มกันโรคในร่างกายสัตว์สามารถ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ไม่จำเพาะเจาะจง (innate immunity) และ ระบบภูมิคุ้มกันโรคชนิดเจาะจง (acquired immunity) ซึ่งทั้ง 2 ระบบมีลักษณะการทำงานที่ แตกต่างกัน ดังตารางที่ 5 (นวลจันทร์ และคณะ, 2548)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบระบบภูมิคุ้มกันแบบ Innate immunity และ Acquired immunity

	Innate immunity	Acquired immunity
เซลล์ที่ทำงาน	- Macrophage, neutrophil	- T และ B cell
ระยะเวลาการทำงาน	- รวดเร็ว (เป็นชั่วโมงหรือนาที)	- ช้า (ใช้เวลาเป็นวันหรือสัปดาห์)
ความจำเพาะเจาะจง	- ไม่จำเพาะเจาะจง	- จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ

ที่มา: Tizard (2000)

1. ระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ไม่จำเพาะเจาะจง (Innate immunity)

Innate immunity เป็นระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ร่างกายตอบสนองทันที เมื่อได้รับเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายสัตว์จะมีผิวหนังหรือเยื่อเมือกเป็นปราการด่านแรก (**physical barriers**) เมื่อเซลล์ผิวหนังมีแผลเกิดขึ้น สัตว์จะปลดปล่อยเอนไซม์บางชนิดที่มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ อาทิ ไลโซไซม์ (**lysozyme**) หรือสร้างโปรตีนที่มีความสามารถในการจับคาร์โบไฮเดรต (**carbohydrate binding protein**) เพื่อจับและทำลายเซลล์แบคทีเรีย เอนไซม์หรือโปรตีนเหล่านี้บางชนิดจะหมุนเวียนในกระแสเลือดอยู่แล้ว แต่บางชนิดร่างกายจะสร้างขึ้นเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอม ผลจากการทำงานของระบบนี้จะเกิดอาการที่เรียกว่าการอักเสบ (**inflammation**) ทำให้เกิดการไหลเวียนของเลือดมายังบริเวณที่เชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายมากขึ้น ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (**neutrophil**) และมาโครฟาจ (**macrophage**) สามารถทำลายเชื้อโรคได้มากขึ้น จุดประสงค์ของปฏิกิริยาการอักเสบเพื่อละลายให้ตัวอันตรายมีปริมาณน้อยลง จำกัดให้ตัวอันตรายอยู่เฉพาะที่ไม่แพร่ลามออกไปทั่วร่างกาย ทำลายและขจัดตัวอันตรายออกนอกร่างกาย และชักนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่แทนที่บริเวณที่ได้รับอันตราย ลักษณะการอักเสบของเนื้อเยื่อที่ตรวจพบได้ด้วยตาเปล่าประกอบด้วยลักษณะ 5 ประการ คือ บวม แดง ร้อน เจ็บปวด และสูญเสียการทำงานที่ได้ตามปกติ เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ ที่มีการตอบโต้อันตรายที่มากกระทบ (เสรี, 2539)

นอกจากนี้พบว่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่พบในระบบทางเดินอาหาร มีหน้าที่สำคัญในการทำลายจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารก่อนเข้าสู่ร่างกาย อาทิ ค่าความเป็นกรดในกระเพาะอาหารมีค่าประมาณ 3-4 จะสามารถลดปริมาณของแบคทีเรียและไวรัสได้ และสามารถลด

antigenicity ของแอนติเจนจากอาหารได้ น้ำดีมีความสำคัญในการทำลาย **lipid containing capsid virus** และ **enterobacteria** ส่วน **epithelial surface** ของกระเพาะอาหารและลำไส้สามารถป้องกันหรือลดการแทรกซึมของจุลินทรีย์ได้ โดยพบว่าเซลล์ในส่วนนี้ปกติจะหลุดลอกและสร้างขึ้นใหม่อยู่เสมอ และการเกิดการติดเชื้อของไวรัสหรือแบคทีเรียในลำไส้ทำให้เกิดการติดของจุลินทรีย์กับผนังเซลล์ ดังนั้น การลอกหลุดที่บริเวณนี้จึงเป็นส่วนช่วยลดการแทรกซึมของจุลินทรีย์ได้สูง นอกจากนี้ น้ำเมือก (**mucus**) ที่พบในลำไส้ นอกจากจะช่วยหล่อลื่นและป้องกันผิวของลำไส้จากสภาพความเป็นกรดยังช่วยป้องกันการติดเชื้อในลำไส้ โดยน้ำเมือกเป็นตัวกลาง (**media**) สำหรับสารต้านจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น **IgA**, **lysozyme** และ **lactoferrin** เป็นต้น (โสมทัท, 2538) กลุ่มแบคทีเรียที่พบในลำไส้ (**intestinal microflora**) มีวิธีการในการป้องกันการติดเชื้อโรคในลำไส้ได้หลายแบบ เช่น ลด **receptor site** บนผนังเซลล์ โดยแข่งกับจุลินทรีย์อื่นๆ เพื่อสร้างสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์อื่น สร้างสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดส่งผลให้หยุดการเจริญของเชื้อ **E. coli** (ทัศนีย์, 2541)

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงนี้แม้ว่าจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคต่ำ เนื่องจากระบบนี้จะไม่สามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาได้ ร่างกายจะใช้ระบบนี้ในการลดปริมาณของเชื้อโรคลง เป็นการชะลอการเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อโรค จนร่างกายสามารถพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงขึ้น ซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำงานดีกว่า (เสรี, 2539)

2. ระบบภูมิคุ้มกันโรคที่เฉพาะเจาะจง (**Acquired immunity**)

Acquired immunity หรือระบบภูมิคุ้มกันโรคที่เฉพาะเจาะจง เป็นกลไกที่ร่างกายต้องใช้เวลาในการพัฒนาระบบอย่างช้าๆ อาจนานถึงหลายสัปดาห์ แต่มีประสิทธิภาพมากกว่า เนื่องจากสามารถลดปริมาณเชื้อโรคได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ ระบบภูมิคุ้มกันแบบนี้มีความซับซ้อนในการทำลายเชื้อโรค เซลล์ที่ทำงานได้แก่ **T cell** และ **B cell** ซึ่งมี **receptor** มากมายทำให้สามารถจับกับสิ่งแปลกปลอมได้หลายชนิด และสามารถทำลายเซลล์ที่ถูกเชื้อโรคเข้าทำลายหรือแม้แต่เซลล์ที่มีลักษณะที่ผิดปกติ อีกทั้งยังสามารถจดจำ สิ่งแปลกปลอมได้ เมื่อสัตว์ได้รับเชื้อชนิดเดิมอีก ระบบภูมิคุ้มกันจะตอบสนองอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทั้ง **T cell** และ **B-cell** ถูกสร้างที่ไขกระดูก แต่มีการพัฒนาและกลไกในการทำงานที่แตกต่างกัน

โดย B-cell จะพัฒนาใน bursa of fabricius ของสัตว์ปีก หรือ Bone Marrow ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ระบบภูมิคุ้มกันนี้สามารถแบ่งกลไกการทำงานออกเป็น

2.1 Humoral immune response (HI) เมื่อสัตว์ได้รับเชื้อในปริมาณน้อยหรือเชื้อมีความอ่อนแอลง สัตว์จะสร้างโปรตีนที่เรียกว่า “แอนติบอดี (antibody)” ขึ้นไหลเวียนในกระแสเลือด แอนติบอดีที่สร้างขึ้นจะสร้างจาก B-cell และมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของเชื้อ ระยะเวลาในการสร้างแอนติบอดีโดยเฉลี่ยระหว่าง 1-3 สัปดาห์ ขึ้นกับชนิดของโรค แอนติบอดีเหล่านี้มีหลายกลุ่มและสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อหลายชนิดแต่จะมีความเข้มข้นสูงในซีรัม โดยมีองค์ประกอบเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่ประกอบด้วย polypeptide 4 สาย ยึดติดกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) มี 2 สายที่ยาว เรียกว่า heavy chain อีก 2 สายจะสั้น เรียกว่า light chain มีปลายด้านหนึ่งที่ยึดจับกับแอนติเจน จะเป็นส่วน N-terminal และปลายอีกด้าน คือ C-terminal ใช้จับกับ B cell, NK cell จึงอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มคือ IgG, IgM, IgA, IgE และ IgD (นวลจันทร์ และคณะ, 2548) ซึ่งแต่ละชนิดมีปริมาณและแหล่งที่พบ ตลอดจนลักษณะการทำงานแตกต่างกัน ดังนี้

2.1.1 อิมมูโนโกลบูลินจี (Immunoglobulin G, IgG)

IgG ของสัตว์ปีกแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สร้างจากพลาสมาเซลล์ มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อต่างๆ IgG ที่มีลักษณะคล้าย secretory IgG สามารถยับยั้งการเกาะติดของแบคทีเรียในลำไส้ได้ รวมทั้งสามารถทำลายไวรัสได้ IgG มีขนาดเล็กที่สุดและมีความเข้มข้นสูงที่สุดในซีรัม ประมาณร้อยละ 75 ของอิมมูโนโกลบูลินที่อยู่ในซีรัม (สุทธิพันธ์, 2537) เป็นแอนติบอดีที่สามารถผ่านจากแม่สู่ลูกทางไข่แดง โดยพบว่า IgG จากไข่แดงเข้าสู่คัพภะไก่อตั้งแต่วัยอายุ 15 วันเป็นต้นไป จนกระทั่งลูกไก่อายุ 2-3 วัน (นิวัตร และวิษณุ, 2552)

2.1.2 อิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (Immunoglobulin M, IgM)

IgM ของสัตว์ปีกเหมือนกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทั้งคุณสมบัติทางกายภาพเคมีและลักษณะความเป็นแอนติเจน (antigenic characteristics) ได้แก่ สัมประสิทธิ์ความถ่วงจำเพาะและน้ำหนักโมเลกุล มีขนาดใหญ่ที่สุด และเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นในการตอบสนองต่อแอนติเจนที่ได้รับครั้งแรก IgM มีมากในลำไส้ของลูกสัตว์แรกเกิด แต่มีประสิทธิภาพค่อนข้างจำกัด

และนอกจากนั้น พบว่า มีความเข้มข้นสูงในซีรัมรองจาก IgG (สุทธิพันธ์, 2537) หน้าที่ของ IgM จะเกี่ยวข้องกับคอมพลีเมนต์ และการจับกลุ่มของเซลล์เป้าหมาย เพื่อให้เกิดกระบวนการกลืนกินของเซลล์ และ IgM เป็นแอนติบอดีชนิดแรกที่ป้องกันและทำลายจุลชีพในขณะที่ร่างกายเกิดสภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิต (นิวัตรและวิษณุ, 2552)

2.1.3 อิมมูโนโกลบูลินอี (Immunoglobulin E, IgE)

IgE เป็นภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวกับการเกิดภาวะภูมิแพ้ (hypersensitivity) และเป็นภูมิคุ้มกันที่สำคัญในโรคติดเชื้อปรสิต พบมากในสัตว์ที่มีการติดเชื้อพยาธิตัวกลม ช่วยในการขับพยาธิออกโดยกระตุ้นให้ mast cell หลั่งสารที่กระตุ้นในลำไส้ให้มีการบีบตัว รวมทั้งเพิ่มปริมาณของน้ำในลำไส้ และพบในปริมาณน้อยในซีรัม (โสมทต, 2538)

2.1.4 อิมมูโนโกลบูลินอี (Immunoglobulin E, IgE)

IgE พบปริมาณน้อยมากในซีรัม และไม่ทราบหน้าที่ชัดเจน (สุทธิพันธ์, 2537)

2.1.5 อิมมูโนโกลบูลินเอ (Immunoglobulin A, IgA)

เป็นแอนติบอดีที่สำคัญที่สุดของภูมิคุ้มกันระบบนี้มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อของ IgA คือ การยึดจับกับจุลชีพ และป้องกันมิให้จุลชีพเกาะติดกับ epithelial cell ของลำไส้ได้ พบมากในของเหลวตามเยื่อเมือกต่างๆ เช่น น้ำนม น้ำตา และน้ำลายของสัตว์ แต่พบในปริมาณน้อยในซีรัม ดังนั้นจึงมีความสำคัญกับการป้องกันโรคเฉพาะที่ของทางเดินอาหารทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์ โดย IgA พบมากในน้ำดี และทางเดินหายใจ (กนกธร, 2545) นอกจากนี้พบว่าในไก่มีการสร้าง Ig ได้ 3 ชนิด คือ IgG, IgA และ IgM (เกรียงศักดิ์, 2536)

2.2 Cell-mediated immune response (CMI) เป็นการทำงานร่วมกันของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีตัวกลางคือ ไซโตไคน์ (cytokines) เป็นตัวส่งสัญญาณการกระตุ้นและยับยั้งการทำงานร่วมกันของเซลล์เหล่านั้น เซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบนี้คือ T-lymphocyte ซึ่งทำงานในด้านการสร้างแอนติบอดี (helper T-lymphocyte) ขณะเดียวกันเชื้อโรคก็ถูกทำลายด้วย cytotoxic

T-lymphocyte (CTL) การวัดระดับภูมิคุ้มกันในระบบนี้ส่วนใหญ่มักวัดการทำงานของลิมโฟไซต์ เช่น การวัดการตอบสนองของลิมโฟไซต์ (**lymphocyte stimulation**) การเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน (**lymphocyte proliferation, นวลจันทร์ และคณะ, 2548**)

อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกัน

อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกัน (**lymphoid organ**) ประกอบด้วยอวัยวะต่างๆ ซึ่งอยู่กระจายและเชื่อมต่อกันทั่วร่างกาย แบ่งเป็น 2 ส่วน (**Oppenheim and Shevach, 1990**) คือ

1. อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันลำดับหนึ่ง (**Primary Lymphoid Organ**)

Primary lymphoid organ หรือ **central lymphoid tissue** เป็นอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ในการพัฒนาหรือเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิด (**stem cell**) ให้กลายเป็น **lymphocyte 2 ชนิด** คือ **T lymphocyte** และ **B lymphocyte** ได้แก่ ต่อมไทมัส (**thymus gland**) และ **Bursa of Fabricius** (วินูลย์ศรี, 2541)

1.1 ต่อมไทมัส (Thymus)

ต่อมไทมัสที่พบในสัตว์ปีก ประกอบด้วยพวงเล็กๆ ประมาณ 14 พวง ซึ่งอยู่ในตำแหน่งต่ำกว่าลำคอและอยู่เหนืออกติดกับเส้นเลือด **jugular vein** เจริญมาจากเนื้อเยื่อเอนโดเดิร์ม (**endoderm**) ของช่องคอ ต่อมไทมัสประกอบด้วยลิมโฟไซต์ เรียกว่า ไทโมไซต์ (**thymocyte**) และเซลล์บุผิวเรียงตัวแบ่งเป็นชั้นด้านนอกหรือคอร์เท็กซ์ (**cortex**) ส่วนชั้นในหรือเมดัลลา (**medulla**) เซลล์บุผิวจัดเรียงตัวต่อเนื่อง เซลล์ลิมโฟไซต์ที่พัฒนามากขึ้นจะเคลื่อนตัวไปอยู่บริเวณเมดัลลาและส่วนน้อยของเซลล์เหล่านี้เมื่อเจริญเต็มที่ก็จะเดินทางออกจากต่อมไทมัสไปสะสมอยู่ตามอวัยวะต่างๆ และสามารถทำหน้าที่ตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกันได้ (**Oppenheim and Shevach, 1990**) โดยมีความสำคัญในการสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด **T lymphocyte** ทำหน้าที่ในการสร้างภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ โดยผลิตโปรตีนที่ช่วยกระตุ้นไปกระตุ้นให้สร้างตัวที่วัด **T cell (T cell marker; นิวัตรและวิษณุ, 2552)**

1.2 ต่อมเบอริซซา (Bursa of Fabricius)

ต่อมเบอริซซาเป็นอวัยวะที่พบเฉพาะสัตว์ปีก มีตำแหน่งเกาะติดบนผนังด้านนอกของทวารรวม (cloaca) เริ่มปรากฏครั้งแรกระหว่าง 3-5 วันแรกของการพัฒนาของกัฟกะ ลักษณะสำคัญคือ การสร้างต่งเล็กๆ ขึ้นมาก่อนที่จะเริ่มมีการสร้างส่วนใน (medulla) และเบอริซซาฟอลลิเคิล (bursa follicle) ต่อมาต่อมเบอริซซาทำหน้าที่สร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด B lymphocyte ซึ่งเป็นต้นกำเนิดสำคัญก่อนที่เซลล์ดังกล่าวจะเคลื่อนย้ายไปยังอวัยวะน้ำเหลืองอื่นๆ B lymphocyte ทำหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ (antibody หรือ humeral immunity) อัตราส่วนของน้ำหนักรต่อมเบอริซซาต่อน้ำหนักตัวจะลดลงเมื่อไก่อายุมากขึ้น โดยเฉพาะในวัยสืบพันธุ์ น้ำหนักต่อมเบอริซซาจะเปลี่ยนไปตามพันธุ์ เพศ และวิธีการเลี้ยง จากการค้นพบอวัยวะนี้จึงทราบว่าระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยอวัยวะ 2 โครงสร้างแยกจากกัน คือ Bursa of Fabricius เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันแบบหลังแอนติบอดีและต่อมไทมัสซึ่งเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันแบบฟิงเซลล์ (นิวัตร์ และวิษณุ, 2552)

2. อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันลำดับที่สอง (Secondary Lymphoid Organ)

Secondary lymphoid organ หรือ peripheral lymphoid tissue เป็นที่อยู่ของ T lymphocyte และ B lymphocyte ที่ออกมาจาก central tissue แล้ว ซึ่งอวัยวะที่จัดเป็น secondary lymphoid organ ได้แก่ ตับ ม้าม ต่อมทอนซิลของไส้ติ่ง และ lymph nodule ที่อยู่ใต้ epithelium ของ gastro-intestinal tract, respiratory tract และ genitor-urinary tract ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีการแยกบริเวณที่อยู่ของ T lymphocyte และ B lymphocyte อย่างชัดเจน ส่วนของเนื้อเยื่อของระบบภูมิคุ้มกันมีการจัดเรียงตัวไม่ชัดเจน ได้แก่ mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) ซึ่งพบทั่วไปในร่างกาย ได้แก่ Peyer's patches cecum tonsil และ lymphoid follicle ของทางเดินอาหาร (นิวัตร์ และวิษณุ, 2552)

2.1 ม้าม (Spleen)

ตำแหน่งของม้ามอยู่บริเวณผิวหนังด้านในของตับด้านขวา และด้านบนขวาของกระเพาะแท้ พบว่าม้ามเจริญเติบโตรวดเร็วที่สุดในช่วง 6 สัปดาห์แรกหลังฟักออกจากไข่ และเป็นอวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ม้ามจัดเป็นอวัยวะภูมิคุ้มกันทุติยภูมิที่สำคัญและมีเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้ง T lymphocyte และ B lymphocyte อยู่มาก และสามารถพบมาโครฟาจ ซึ่งทำหน้าที่ในการจับสิ่งแปลกปลอมและเป็นเซลล์นำเสนอแอนติเจน หน้าที่ของม้ามในสัตว์ปีกที่โตเต็ม

ร้าย คือ สร้างแอนติบอดีแบบสารน้ำ (humoral antibody) สร้างเม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล สร้างเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ และกลืนกินเม็ดเลือดแดงที่ตายหรือแก่ (นิวัตร์และวิษณุ, 2552)

2.2 เนื้อเยื่อในระบบภูมิคุ้มกันบริเวณทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ

เนื้อเยื่อในระบบภูมิคุ้มกันที่อยู่ในชั้น *submucosa* หรือที่เรียกโดยรวมว่า *mucosal associate lymphoid tissue (MALT)* ตามบริเวณต่าง ๆ ของทางเดินอาหาร (*gut associated lymphoid tissue, GALT*) และทางเดินหายใจ (*bronchus associated lymphoid tissue, BALT*) *GALT* และ *BALT* เป็นแหล่งผลิต *T lymphocyte* ที่สำคัญ หลังจากที่ต่อมไทมัสฝ่อลงเมื่ออายุมากขึ้น แอนติเจนที่ผ่านเข้ามาทางปอดหรือทางเดินอาหารจะกระตุ้นลิมโฟไซต์ใน *GALT* หรือ *BALT* ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้น และนอกจากนั้นยังเป็นทางผ่านของแอนติเจนที่เข้ามาตามทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ ลิมโฟไซต์ในบริเวณนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อจุลินทรีย์ที่ผ่านเข้ามาในเส้นทางนี้ และยังทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อโดยการหลั่งแอนติบอดี และเซลล์ต่างๆ เข้าสู่ทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ (สันนิภา, 2545)

ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยพบว่าสภาพความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมจะเอื้อประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* ซึ่งมีรายงานว่า สัตว์ปีกที่มีเชื้อจุลินทรีย์ *L. reuteri* ในทางเดินอาหารสูง มีความยาวของ *ileal villi* และความลึกของ *crypts* เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นการตอบสนองเกี่ยวกับการทำงานของ *T cell* และการผลิตแอนติบอดีชนิด *IgM* ที่ต่อต้านเชื้อ *Salmonellas* (Dunhan *et al.*, 1993) สอดคล้องกับการรายงานของ Nahanshon *et al.* (1994) รายงานว่า ปริมาณเชื้อ *lactobacillus* ที่เพิ่มขึ้น ทำให้จำนวนและขนาดของเซลล์ *Peyer's patches* ที่ *ileum* ของไก่เพิ่มขึ้น จึงกล่าวได้ว่าการกระตุ้นการทำงานของภูมิคุ้มกันที่เยื่อเมือก มีผลกระตุ้นการทำงานของแอนติบอดี โดยการหลั่ง *IgA*

สรีรวิทยาของกระดูกสัตว์ปีก

กระดูกของสัตว์ปีกแต่ละชิ้น จะมีความเบาและแข็งแรงมากกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม กระดูกหลายชิ้นจะมีอากาศบรรจุอยู่ในแทนไซกระดูก (pneumatized bone) โพรงอากาศจะติดต่อกับถุงลมและปอด ทำให้มีประโยชน์อย่างมากต่อการบิน และช่วยในการหายใจ (วิโรจน์, 2537)

กระดูกประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนเนื้อพื้นของกระดูก (bone matrix) ประกอบด้วยสารอินทรีย์ โปรตีนต่าง ๆ ส่วนใหญ่เป็น คอลลาเจนประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งให้ความยืดหยุ่นแก่กระดูก และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางให้แคลเซียมและฟอสฟอรัสอีกประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ สารดังกล่าวได้แก่ คอนดรอยตินซัลเฟต (chondroitin sulfate) ไฮยาลูโรนิกแอซิด (hyaluronic acid) และ มิวโคโพลิแซคคาไรด์เจล (mucopolysaccharide gel, Werner, 1992) และส่วนที่สองเป็นส่วนของสารอนินทรีย์ที่เป็นส่วนทำให้กระดูกมีความแข็งแรง (rigidity) สารอนินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนต เมื่อใดที่ความเข้มข้นของแคลเซียมและฟอสเฟตสูงถึงจุดหนึ่งจะเกิดตกตะกอนเป็นผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ ลักษณะของกระดูกโดยทั่วไปจะมีกระดูกแข็ง (compact bone) เป็นส่วนเปลือก (cortex) ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรง ซึ่ง compact bone ของกระดูกขา หมายถึง cortical bone ส่วนที่อยู่ภายในจะมีส่วนที่เป็นกระดูกพรุน (spongy bone หรือ trabecular bone) และโพรงกระดูก (medullary cavity) เป็นเนื้อกระดูกชนิดพิเศษที่พบได้ในไก่หรือ สัตว์ปีกอื่นๆ ที่อยู่ในระยะออกไข่ ทำหน้าที่เป็นแหล่งให้ธาตุแคลเซียม (สุกิจ, 2534)

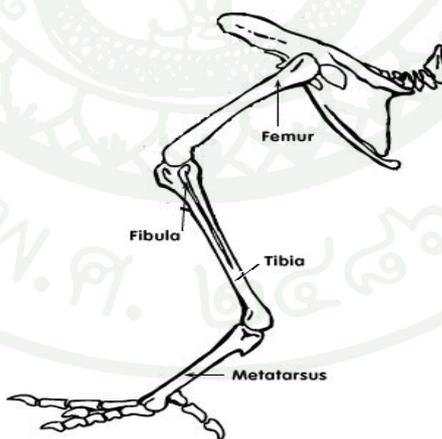
การสร้างและการสลายกระดูก

การสร้างและการสลายกระดูกจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การพัฒนาและการดำรงชีพของสัตว์ ซึ่งกระบวนการสร้างกระดูก (bone formation) และสลายกระดูก (bone resorption) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดชีวิต โดยเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการทำลายกระดูกได้แก่ เซลล์ออสติโอเบลาสต์ (osteoblasts) ทำหน้าที่สร้างกระดูกใหม่ (bone-forming cells) โดยการสร้างส่วนเนื้อพื้นของกระดูก สังเคราะห์คอลลาเจนและโปรติโอไกลแคน (proteoglycan) และปล่อยออกจากเซลล์ เพื่อประกอบเป็นส่วนเนื้อพื้นของกระดูก เซลล์ออสติโอไซต์ (osteocytes) เป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่มาจากเซลล์ออสติโอเบลาสต์ทำหน้าที่ในการสร้างและการสลายกระดูก

ภายในขอบเขตที่จำกัดและเซลล์ ออสทีโอคลาสต์ (osteoclast) ทำหน้าที่ทำลายกระดูก คอลลาเจนที่ ถูกย่อยสลายแล้วจะกลายเป็นสาร ไฮดรอกซีโปรลีนเข้าสู่กระแสเลือดและถูกขับถ่ายทางปัสสาวะต่อไป (Smith *et al.*, 1983) และการเจริญเติบโตของกระดูกอยู่ภายใต้อิทธิพลของ growth hormone (GH), estrogens, parathyroid hormone (PTH), 1,25 dihydroxycholecalciferol, thyroid hormone และ paracrine เช่น prostaglandins, cytokines, insulin-like growth factor-I (IGF-I, Farquharson, 2003)

โครงสร้างกระดูกส่วนขาของสัตว์ปีก

กระดูกส่วนขาของสัตว์ปีกประกอบด้วย 1. กระดูก femur ปกติจะมีขนาดยาว ส่วนปลายบนต่อกับกระดูกเชิงกรานและส่วนปลายล่างเป็นโครงสร้างคล้ายรอก (trochlea) ซึ่งมีกระดูก sesamoid bone มีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกาย (patella) อยู่ใต้เอ็นของ trochlea 2. กระดูก tibiotarsus และ fibula ปลายล่างของ tibiotarsus จะเชื่อมต่อกับกระดูก tarsometatarsus เกิดเป็น tarsal joint หรือ hock joint ด้านข้างจะมีกระดูกชิ้นบาง (splint bone) มีชื่อว่า fibula 3. กระดูกส่วน tarsometatarsus เกิดจากการเชื่อมต่อกับ tarsal bone กับ metatarsal bone 3 ชิ้น และ 4. นิ้วเท้า (digits) ในสัตว์ปีกส่วนใหญ่จะมีนิ้วที่ I-IV (วิโรจน์, 2537) ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 โครงสร้างกระดูกส่วนขาของสัตว์ปีก

ที่มา: วิโรจน์ (2537)

การได้รับกรดอินทรีย์มากเกินไปอาจส่งผลเสียต่อตัวสัตว์ โดยทำให้การสะสมแร่ธาตุในกระดูกลดลง ซึ่งพบอาการ **bone decalcification** (Biagi *et al.*, 2003; Gauthier, 2005) อาจมีสาเหตุมาจากร่างกายมีการรักษาสมดุลความเป็นกรด-ด่างผ่านระบบบัฟเฟอร์ (กระดูกเป็นแหล่งบัฟเฟอร์) และขับแคลเซียมออกทางปัสสาวะมากขึ้น เพื่อป้องกันสภาวะ **metabolic acidosis** (New, 2002) โดยปริมาณกรดอินทรีย์ที่มากขึ้นทำให้ของเหลวภายนอกเซลล์ (**Extracellular fluid**) มีปริมาณไฮโดรเจนไอออน (H^+) เพิ่มขึ้น จึงเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะ **bone decalcification** (Bunshinsky *et al.*, 1994) หรือเกิดสภาวะกระดูกพรุน (**osteoporosis**; Arnett and Dempster, 1990; Arnett *et al.*, 1994) เมื่อเกิดสภาวะ **metabolic acidosis** มีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์ออสติโอคลาสต์ให้เกิดการสลายกระดูกมากขึ้น และเพิ่มการผลิต **parathyroid hormone** ซึ่งมีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์ออสติโอคลาสต์ (Bunshinsky *et al.*, 2003) นอกจากนี้ **metabolic acidosis** ทำให้การสร้าง $1,25(OH)_2D_3$ ที่ลดลง (Krieger *et al.*, 1992) ส่งผลให้มีการขับแคลเซียม และฟอสฟอรัสออกผ่านทางไตมากขึ้น ปัสสาวะจึงมีแคลเซียม และฟอสฟอรัสสูง ทำให้เกิด **negative balance** ความแข็งแรงของกระดูกจึงลดลง (New, 2002)

ผลการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มในสัตว์ปีก

สัตว์ปีกมีตุ่มรับรสอยู่ที่ **upper beak epithelium, anterior mandible** และ **mandibular epithelium posterior** จนถึงลิ้น (Denbow, 2000) โดยไก่มีตุ่มรับรสประมาณ 300 ตุ่ม (Saito, 1966; Ganchrow and Ganchrow, 1985) และมีความสามารถในการทนต่อความเป็นกรด (**acidity**) และด่าง (**alkalinity**) ในน้ำดื่มได้ในช่วง 3-10 และลูกไก่สามารถทนกินน้ำดื่มที่มีแร่ธาตุและความเป็นกรดสูงได้เป็นระยะเวลานาน (Kare and Rogers, 1976) อย่างไรก็ตาม Avila *et al.* (2003) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มระหว่าง 8 ชั่วโมงก่อนฆ่า มีผลทำให้ปริมาณการกินน้ำของไก่กระทงลดลง แต่ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพัก ในขณะที่เดียวกัน น้ำดื่มมีความเป็นกรดมากขึ้นเมื่อเสริม **propionic acid** ทำให้เกิดรสเปรี้ยวทำให้ความน่ากินลดลง ส่งผลให้ปริมาณการกินน้ำและอาหารลดลง (Cave, 1984) นอกจากนี้ การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มที่ระดับสูง ทำให้ปริมาณน้ำและอาหารที่กินได้ลดลง (Moharrey, 2005)

Moharrey and Mahzonieh (2005) รายงานว่าการเสริม **marlic acid** ในน้ำดื่มในไก่กระทงที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 0.05 0.10 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว อย่างไรก็ตาม

พบว่าปริมาณ **marlic acid** ที่ได้รับมีปริมาณสูงขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระบบทางเดินอาหารลดลง สอดคล้องกับ **Chaveerach et al. (2004)** ซึ่งรายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มส่งผลให้น้ำหนักตัวไก่กระทงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม วารี และคณะ (2545) รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มที่ระดับ 50-100 ppm ส่งผลให้สมรรถภาพการผลิตของไก่กระทงสูงกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มช่วยป้องกันและกำจัดเชื้อ **Salmonella spp.** ออกจากร่างกาย และการได้รับกรดอินทรีย์จากน้ำดื่มมากขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่กระเพาะพักลดลง (**Byrd et al., 2001**)

นอกจากนั้น **Maharrery and Mahzonieh (2005)** รายงานว่า ลูกไก่กระทงที่กินน้ำที่มีความเป็นกรดสูงส่งผลให้ปริมาณเชื้อ **E. coli** ในระบบทางเดินอาหารน้อยกว่ากลุ่มที่ได้กินน้ำที่มีความเป็นกรดต่ำ เนื่องจากการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพักลดลง ต่อด้านการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น **E. coli (Banwart, 1989)** และ **Chaveeach et al. (2004)** รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มไม่มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหาร บริเวณกระเพาะพัก ส่วนกรดไขมันระเหยได้ (**volatile fatty acid**) ในไส้ติ่ง พบว่ากลุ่มที่ได้กินน้ำที่เสริมกรดอินทรีย์มีปริมาณ **lactate** มากกว่ากลุ่มที่ได้กินน้ำที่ไม่เสริมกรดอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบกรด **butylate formate** และ **propionate** แต่พบในปริมาณที่ต่ำกว่าที่กำหนดไว้

อย่างไรก็ตามมีรายงานเช่นกันว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มมากขึ้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระบบทางเดินอาหาร (**Avila et al., 2003; Chaveerach et al., 2004**) และสมรรถภาพการผลิต (**Kirchgessner and Roth, 1988; Chaveerach et al., 2004; Maharrery and Mahzonieh, 2005**) ยิ่งไปกว่านั้นยังมีรายงานว่าค่าการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมของกลุ่มที่ได้รับการเสริมกรดอินทรีย์ทั้งในอาหารและน้ำดื่มกลับลดลง (เนติกานต์ และคณะ, 2548; ดนัยศักดิ์, 2550) และการได้รับกรดอินทรีย์มากเกินไปอาจส่งผลเสียต่อตัวสัตว์ โดยทำให้การสะสมแร่ธาตุในกระดูกลดลง โดยพบอาการ **bone decalcification (Biagi et al., 2003; Gauthier, 2005)** ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากร่างกายมีการรักษาสมดุลความเป็นกรด-ด่างผ่านระบบบัฟเฟอร์ (กระดูกเป็นแหล่งบัฟเฟอร์) และขับแคลเซียมออกทางปัสสาวะมากขึ้น เพื่อป้องกันสภาวะ **acidosis (New, 2002)**

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักตัว และเครื่องชั่งน้ำหนักอาหารภายในคอก
2. โรงเรือนเลี้ยงไก่กระตังใช้โรงเรือนระบบปิดควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ติดตั้งอยู่ด้านท้ายโรงเรือน ระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ด้านข้างโรงเรือนติดผ้า mànพลาสติกสีทึบ เพื่อลดรังสีความร้อนจากภายนอกเข้าสู่โรงเรือน
3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์และวัดค่าที่ศึกษาประกอบด้วย
 - 3.1 อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและกระตุกตามวิธีการของ AOAC (2000)
 - 3.2 เครื่อง pH meter รุ่น IQ150 ซึ่งมีหัววัดเป็น micro probe รุ่น PH17-SS แสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.8 mm (IQ Scientific Instruments, Inc., Carlsbad, CA, USA) เพื่อวัดค่าความเป็น กรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร
 - 3.3 อุปกรณ์ผ่าตัดและเครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิทัล ความละเอียด 2 ตำแหน่งเพื่อชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน
 - 3.4 อุปกรณ์ในการเจาะเลือด ประกอบด้วย กระบอกฉีดยาขนาด 10 ซีซี เข็มฉีดยาเบอร์ 23 หลอดทดลอง และกล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) เพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยใช้ สีย้อม Eosin และ Methylene blue และเครื่อง ELISA plate reader เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของ IgG

3.5 อุปกรณ์ในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ McConkey เพื่อตรวจนับเชื้อ *E. coli*, Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (RVS), Tetrathionate broth (TTB), Xylose lysine deoxycholate (XLD) และ Hektoen enteric (HE) เพื่อตรวจนับเชื้อ *Salmonella* spp. และ Lactobacillus MRS (MRS) เพื่อตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus* spp. อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย งานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง และเครื่องนึ่งแรงดันฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) เครื่อง Larminar flow (Heal Force, HF safe, Class II, Type A2 manual Lisken Scientific Equipment Co., Ltd., Shanghai, People's Republic of China) และ Anaerobic Jar สำหรับบ่มเชื้อ และอุปกรณ์จำเป็นอื่น ๆ สำหรับตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์

3.6 อุปกรณ์ในการหาค่า MIC และ MBC โดยประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth, Mueller-Hinton agar และ Tryptic Soy Agar (TSA) และเชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษา ได้แก่ *Escherichia coli* (ATCC 25922) *Salmonella typhimurium* (ATCC 16809) *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) และ *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.7 เครื่อง Centrifuge (TOMY model MX-301, TOMY Kogyo Co., Ltd., Japan) เพื่อเตรียมตัวอย่างอาหารจาก caecum เครื่อง Gas Chromatography (GC 2010 จาก Shimadzu Corporation CO., LTD.) เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันสายสั้น (Short Chain Fatty Acid) ในตัวอย่างอาหารจากไส้ติ่ง

3.8 อุปกรณ์ผ่าตัด สารละลาย Neutral Buffer Formalin 10 % และสารละลาย Phosphate Buffer Saline เพื่อเก็บและเตรียมตัวอย่างไส้ อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อชั้น mucosa ในไส้ โดยตัดเนื้อเยื่อแต่ละส่วนด้วย microtome ความหนา 5 μm มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin และนำมาวัดความสูงของวิลลัส (villus height) และความลึกของคริปต์ (crypt depth) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด

3.9 กล้องบันทึกภาพเคลื่อนไหว เพื่อศึกษาพฤติกรรมการเดินของไก่อะทรง

3.10 เครื่องมือวัดความแข็งของกระดูก ได้แก่เครื่อง **Autograph (universal testing machine)** ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น AG 10 KNIS และแทนทดสอบแรงค้ำทำลาย การตั้งค่าเครื่องมือตามวิธีของ Crenshaw *et al.* (1981) และ Johnson *et al.* (1992)

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรดฟอร์มิค เพื่อหาค่า **Minimum Inhibitory Concentration (MIC)** และ **Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC)**

1. นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร **Tryptic Soy Agar (TSA)** นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละชนิด มาเลี้ยงในอาหาร **Mueller-Hinton broth** อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3-4 ชั่วโมง นำมาปรับความขุ่นโดย **Mueller-Hinton broth** ให้ได้เท่ากับสารละลาย **McFarland no. 0.5** (BaCl_2 0.048 mol/l 0.5 ml และ H_2SO_4 0.18 mol/l 99.5 ml) ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ 10^8 CFU/ml จากนั้นนำมาปรับความเข้มข้นโดย **Mueller-Hinton broth** สัดส่วน 1:10 ทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์ 10^7 CFU/ml

2. เตรียม **stock solution** ของกรดฟอร์มิค (94%) โดยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ และทำการกรองแบคทีเรียด้วยกระดาษกรองขนาด $0.22 \mu\text{m}$ จากนั้นปรับความเข้มข้นโดย **Mueller-Hinton broth** ซึ่งมีความเข้มข้นที่ 0.01 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 และ 0.30%

3. การหาค่า **MIC** โดยวิธี **microtube broth dilution** ซึ่งใช้หลอดหลุม (microtube well) ตามวิธีของ **National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003)** การหาค่า **MIC** จะทำการเติมชั้นละ 8 หลุม โดยเปิดแต่ละความเข้มข้นลงในแต่ละหลุมๆ ละ $75 \mu\text{l}$ จากนั้นเปิดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับความเข้มข้นซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ 10^7 CFU/ml ลงในแต่ละหลุมๆ $75 \mu\text{l}$ นอกจากนั้นในแต่ละ **microtube well** จะมีกลุ่มควบคุมที่ 1 (**negative control**) โดยเปิดเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ **Mueller-Hinton broth** หลุมละ $150 \mu\text{l}$ และกลุ่มควบคุมที่ 2 (**positive control**) โดยเปิดอาหารเลี้ยงเชื้อ **Mueller-Hinton broth** หลุมละ $75 \mu\text{l}$ และเปิดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับความเข้มข้นแล้วลงในแต่ละหลุมๆ ละ $75 \mu\text{l}$ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-20

ชั่วโมง อ่านผลการทดลอง โดยวางภาชนะหลุมบนแผ่นกระดาษสีดำดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบในแต่ละหลุม ซึ่งมีสีขาวขุ่นปรากฏให้เห็นเป็นวงกลม ส่วนหลุมที่เชื้อไม่เจริญจะใสไม่ปรากฏสีขาวขุ่น โดยอ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญ และทำการวัดค่าความเป็นกรดต่าง ในแต่ละความเข้มข้นโดยใช้เครื่อง pH meter

4. การหาค่า MBC โดยการใช้ loop จุ่มลงในความเข้มข้นที่ไม่มีเชื้อเจริญซึ่งได้มาจากการทดลองหาค่า MIC นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซาก สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระตัง

สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่กระตังเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้า (ROS 308) อายุ 1 วัน จำนวน 600 ตัว ถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ 6 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

การจัดการเลี้ยงดู

ไก่กระตังถูกเลี้ยงแบบปล่อยพื้นในโรงเรือนระบบปิดควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) แบบ negative pressure system ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ติดอยู่ที่ท้ายโรงเรือน มีระบบการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) และใช้ผ้าม่านสีดำปิดด้านข้างโรงเรือนเพื่อลดรังสีความร้อนภายนอกเข้าสู่โรงเรือน ภายในมีคอกขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 3 เมตร เลี้ยงไก่จำนวน 25 ตัว/คอก พื้นที่ในการเลี้ยง 1,200 ตารางเซนติเมตร/ตัว ใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้น ให้อาหารโดยใช้ถังแขวน มีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (nipple) ได้รับแสงตามคำแนะนำของสายพันธุ์

น้ำดื่ม

ไก่แต่ละกลุ่มได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอร์มิก (94%) ต่างกัน 4 ระดับ คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมกรดฟอร์มิก)

กลุ่มที่ 2 เสริมกรดฟอร์มิก 0.01%

กลุ่มที่ 3 เสริมกรดฟอร์มิก 0.05 %

กลุ่มที่ 4 เสริมกรดฟอร์มิก 0.10%

อาหาร

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 2 ช่วงตามอายุ คือ ระยะแรก (1-21 วัน) แต่ละกลุ่มได้รับอาหารที่มีโปรตีน 22% พลังงาน 3,010 ME kcal/kg แคลเซียม 1% และฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.50% และระยะรุ่น (22-42 วัน) แต่ละกลุ่มได้รับอาหารที่มีโปรตีน 20% พลังงาน 3,150 ME kcal/kg แคลเซียม 0.90% และฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.45% ตามความต้องการของสายพันธุ์ (Aviagen, 2002) ดังแสดงในตารางที่ 6

การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

1. บันทึกสมรรถภาพการผลิตโดยแบ่งออกเป็น

1.1 การบันทึกผลการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะๆ ละ 21 วัน คือ ระยะแรกที่อายุ 1-21 วัน (Starter) และระยะรุ่น ที่อายุ 22-42 วัน (Grower) ตามลำดับ โดยแต่ละระยะมีการบันทึกน้ำหนักตัวเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณอาหาร ปริมาณน้ำที่กิน และค่าความเป็นกรดต่างของน้ำดื่มทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

1.2 บันทึกอัตราการตาย อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

1.3 คำนวณอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

1.4 บันทึกองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐาน โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีนไขมัน เถ้าของอาหารทดลองด้วยวิธี proximate analysis (AOAC, 2000) ดังตารางที่ 7

1.5 ศึกษาคุณภาพซาก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักตัว โดยสุ่มไก่ชำละ 2 ตัว รวม 48 ตัว เพื่อทำการศึกษาคุณภาพซาก โดยบันทึกน้ำหนักมีชีวิตก่อนชำและ น้ำหนักตัวหลังนำเครื่องในออก น้ำหนักชิ้นส่วนต่างๆ ของซาก ได้แก่ สะโพก น่อง ปีก และกล้ามเนื้อหน้าอก (กล้ามเนื้อสันในและกล้ามเนื้อสันนอก) เพื่อประเมินคุณภาพซากเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว

2. ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระบบทางเดินอาหาร

เมื่อไก่กระทงอายุ 21 และ 42 วัน สุ่มไก่กระทงชำละ 2 ตัว รวมทั้งหมด 48 ตัว มาทำการฆ่าด้วยวิธี asphyxiation โดยใช้วิธี CO₂ เพื่อศึกษานิวเคลวิทยาในระบบทางเดินอาหาร โดยแบ่งออกเป็นบันทึกความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพัก (crop) กระเพาะแท้ (proventriculus) กระเพาะบด (gizzard) ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ไส้ติ่ง (caecum) และลำไส้ใหญ่ (colon) ตามลำดับ โดยใช้เครื่อง pH meter และชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน คือ ตับ ม้าม Bursa of frabricious และไขมันช่องท้อง

3. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง

เมื่อไก่กระทงอายุครบ 42 วัน สุ่มไก่ชำละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 24 ตัว เพื่อศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 2 กรัม ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 18 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่า ในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

3.1 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *Lactobacillus* spp. ด้วย de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน anaerobic jar ตามวิธีของ De Man *et al.* (1960)

3.2 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil*. โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Franklin *et al.* (2002)

3.3 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *Salmonella spp.* โดย Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (RVS) บ่มที่อุณหภูมิ 42.5 องศาเซลเซียส และ Tetrathionate Broth (TTB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำไปเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose lysine deoxycholate (XLD) และ Hektoen enteric (HE) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คำนวณหาปริมาณเชื้อตามวิธี MPN (Most Propable number) ตามวิธีของ ไพโรจน์ (2545)

4. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม

โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil*. โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Franklin *et al.* (2002)

5. ศึกษาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง

เมื่อไถ่กระทงอายุครบ 42 วัน สุ่มไถ่ซ้าละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 24 ตัว เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (SCFAs) โดยใช้ตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง เติมน้ำกลั่น 1 เท่านำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อเก็บตัวอย่างส่วนใส จากนั้นทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงก่อนนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 14,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จึงนำตัวอย่างส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณ SCFAs ซึ่งประกอบด้วย propionic acid และ butyric acid ด้วยเครื่อง gas chromatography ตามวิธีของ Biagi *et al.*, 2006 รายละเอียดแสดงในภาคผนวก

6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อผิวของทางเดินอาหาร

เมื่อไก่กระทงอายุ 21 และ 42 วัน สุ่มไก่กระทงในแต่ละอายุ ละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 24 ตัว ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของวิลไลและคริปต์ โดยทำการเก็บเนื้อเยื่อลงใน phosphate buffer saline จากนั้นรีบแช่ลงใน Neutral Buffer Formalin 10 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปฏิบัติตามขั้นตอนทาง histology technique โดยตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง microtome ความหนา 5 μm มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อผิวของทางเดินอาหาร โดยวัดความสูงวิลไล (villous height) ความลึกคริปต์ (crypt depth junction) และสัดส่วนของความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปต์ ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1996) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัทไทยจุลทรรศน์ จำกัด

7. ศึกษาค่า Heterophil/Lymphocyte Ratio และ Immunoglobulin G เมื่อไก่กระทงอายุครบ 21 และ 42 วัน สุ่มไก่กระทงซ้ำละ 2 ตัว รวมทั้งหมด 48 ตัว เพื่ออดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 12 ชั่วโมง นำเลือดที่เจาะได้มาหาอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเซทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ โดยนำตัวอย่างเลือดมาเสมียร์ลงกระจกสไลด์ ปล่อยให้แห้งในอากาศ 15-20 นาที จากนั้นทำการย้อมด้วยสี Eosin และ Methylene blue และนำมาหาอัตราส่วนเม็ดเลือด การนับแยกชนิดเม็ดเลือดอัตราส่วน 100 เซลล์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Light microscope) โดยวิธีการตัดแปลงจาก Ritchie *et al.* (1994) และนำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงโดยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อนำซีรัมไปวิเคราะห์หาระดับของ Immunoglobulin G โดยเทคนิค ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) ด้วยเครื่อง ELISA plate reader ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร โดยใช้ชุดทดสอบของบริษัท Bethyl Laboratories เพื่อดูการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายเมื่อได้รับกรดฟอร์มิกในระดับต่างๆ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก

8. ศึกษาความสามารถในการเดินของไก่

เมื่อไก่กระทงอายุครบ 42 วัน สุ่มไก่ซ้ำละ 5 ตัว รวมทั้งหมด 120 ตัว เพื่อศึกษาความสามารถในการเดินของไก่โดยสังเกตลักษณะท่าทางการเดิน เพื่อประเมินเป็นค่า Gait score ตามวิธีการของ Kestin *et al.* (1992) โดยแบ่งออกเป็น 6 ระดับ (0-5) ดังนี้

- ระดับ 0 ลักษณะการเดินของสัตว์ปีกไม่มีความผิดปกติ มีความว่องไวในการเดิน
- ระดับ 1 ลักษณะการเดินของสัตว์ปีกที่มีความบกพร่องเล็กน้อย
- ระดับ 2 ลักษณะการเดินของสัตว์ปีกที่สามารถชี้ชัดได้ว่ามีความผิดปกติ แต่ไม่มีผลต่อความสามารถในการเคลื่อนที่
- ระดับ 3 ลักษณะการเดินของสัตว์ปีกที่ผิดปกติอย่างชัดเจน และมีผลต่อความสามารถในการเคลื่อนที่
- ระดับ 4 ลักษณะการเดินของสัตว์ปีกที่ผิดปกติอย่างรุนแรง ส่งผลให้เดินลำบาก
- ระดับ 5 สัตว์ปีกไม่สามารถเดินได้

9. ศึกษาการสะสมแร่ธาตุในกระดูก

เมื่อไก่กระทงอายุ 42 วัน คุ่มไก่กระทงชำละ 2 ตัว รวมทั้งหมด 48 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างกระดูกส่วน Tibia ไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวัดความแข็งของกระดูก (Bending Strength) โดยวิธี 3-Point Bending Test และตั้งค่าเครื่องมือตามวิธีของ Crenshaw *et al.* (1981) และ Johnson *et al.* (1992) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก จากนั้นทำการวิเคราะห์ทางเคมีโดยสกัดไขมันออกแล้ว นำไปวิเคราะห์หาธาตุน้ำตาลแคลเซียม และฟอสฟอรัส โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (2000)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยมีตัวแบบทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ formic acid เสริมในน้ำดื่ม i

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

- A_i = อิทธิพลของระดับ formic acid ที่เสริมในน้ำดื่ม i โดย $i = 1$ ไม่ได้เสริม formic acid, $i = 2$ เสริม formic acid ในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01%, $i = 3$ เสริม formic acid ในน้ำดื่มที่ระดับ 0.05% และ $i = 4$ เสริม formic acid ในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10%
- e_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ formic acid ในน้ำดื่มที่ i โดย $e_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารทดลองที่ใช้ในไก่ทดลองระยะเล็ก และระยะรุ่น

วัตถุดิบ(%)	ระยะเล็ก	ระยะรุ่น
ข้าวโพด	58.93	63.31
กากถั่วเหลือง	33.81	29.64
น้ำมันรำข้าว	1.42	2.73
โมโนไคแคลเซียมฟอสเฟต	1.95	1.73
แคลเซียมคาร์บอเนต	1.42	1.30
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.38	0.33
เกลือ	0.11	0.14
ซีโอไลต์	0.76	-
โคลีนคลอไรด์	0.24	0.20
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.38	0.27
ไลซีน	0.33	0.18
ทรีโอนีน	0.09	0.01
แร่ธาตุพรีเมิกซ์ ¹	0.10	0.10
วิตามินพรีเมิกซ์ ²	0.08	0.05
สารกันหืน	0.01	0.01

หมายเหตุ ¹ ส่วนประกอบ: วิตามินเอ 12,000,000 IU, วิตามินดี 3 3,000,000 IU, วิตามินอี 15,000 mg, วิตามินเค 3 1,500 mg, วิตามินบี 1 1,500 mg, วิตามินบี 2 5,500 mg, วิตามินบี 6 2,000 mg, วิตามินบี 12 10 mg, กรดนิโคตินิก 25,000 mg, ดี-แคลเซียมแพนโททีน 12,000 mg, กรดโฟลิก 500 mg, ไบโอดีน 120 mg และสื่อเติมจนครบ 1 ตัน

² ส่วนประกอบ: แมงกานีส 80 g, สังกะสี 60 g, เหล็ก 40 g, ทองแดง 8 g, ไอโอดีน 0.50 g, โคบอลต์ 0.10 g, ซีลีเนียม 0.10 g และสื่อเติมจนครบ 1 ตัน

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง จากการคำนวณและการวิเคราะห์ในไก่ทดลองระยะเล็ก และระยะรุ่น

องค์ประกอบ	ระยะแรก (1-21 วัน)		ระยะรุ่น (22-42 วัน)	
	คำนวณ ¹	วิเคราะห์ ²	คำนวณ ¹	วิเคราะห์ ²
พลังงานทั้งหมด (Kcal/kg)	-	3613.56	-	3651.66
พลังงานที่ไก่กระทงใช้ประโยชน์ (Kcal/kg)	3010.00	-	3150.00	-
โปรตีน (%)	22.00	21.27	20.00	19.22
ถั่ว (%)	6.23	6.02	5.29	4.79
ความชื้น (%)	11.29	11.23	11.30	11.66
ไขมัน (%)	4.00	3.87	5.42	5.39
แคลเซียม (%)	1.00	1.19	0.90	0.98
ฟอสฟอรัส (%)	0.80	0.88	0.73	0.70
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.50	-	0.45	-
ไลซีน (%)	1.44	-	1.20	-
เมทไธโอนีน (%)	0.70	-	0.57	-
เมทไธโอนีน + ซีสตีน (%)	1.09	-	0.94	-
ทรีโอนีน (%)	0.93	-	0.79	-

หมายเหตุ ¹ ค่าโภชนาที่ใช้ในการคำนวณอ้างอิงตามบริษัท ทีอ็อป ฟีด มิลล์ จำกัด

² วิเคราะห์โภชนา คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และถั่ว โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม และฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000)

ระยะเวลาในการทดลอง

สิงหาคม 2551 - สิงหาคม 2552

สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาทกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
2. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
3. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ
4. ศูนย์เครื่องจักรกลทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรดฟอรั่มิก เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC)

1. การศึกษาหาค่าความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกต่ำสุดที่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bacteriocidal Concentration, MBC)

ผลการศึกษาค่าความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยวิธี *microtube broth dilution* แสดงดังตารางที่ 8 พบว่า จากการทดลองกรดฟอรั่มิกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritis* และ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอรั่มิกที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* มีค่าเท่ากับ 0.10% และความเข้มข้นต่ำสุดของกรด ฟอรั่มิกที่ยับยั้งเชื้อ *Salmonella enteritis* และ *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 0.15%

ตารางที่ 9 แสดงผลการศึกษาค่าความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกที่ต่ำสุดที่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ซึ่งพบว่า กรดฟอรั่มิกที่ความเข้มข้น 0.15% เป็นความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่ทำลายเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* และที่ความเข้มข้น 0.20% เป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ฆ่าเชื้อ *Salmonella enteritis* และ *Staphylococcus aureus*

จากผลการทดลอง พบว่า กรดฟอรั่มิกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านี้ ส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง โดยช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* และ *staphylococcus aureus* อยู่ในช่วง 6.0-8.0 6.0-7.5 และ 6.8-7.5 ตามลำดับ ดังนั้นค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5-4.5 จึงมีผลต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรค (Dhawale, 2005; Hai Meng, 2006) ความเข้มข้นของกรดฟอรั่มิกที่เพิ่มขึ้น มีผลให้ความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงมีค่าตั้งแต่ 8.10 จนถึง 3.80 ดังภาพที่ 7 ความเข้มข้นที่ระดับ 0.10% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* แม้ความเป็นกรด-ด่าง

ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าเท่ากับ 6.80 ขณะที่ความเข้มข้นที่ 0.15% มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์นี้ได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.50 ส่วนเชื้อ *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อยู่ที่ระดับ 0.15% ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.50 และความเข้มข้นที่ 0.20% สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4.05 เนื่องจากเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Dhawale, 2005; Tan, 2006) นอกจากนั้น Brul and Coote (1999) อธิบายกลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ว่า กรดอินทรีย์สายสั้นที่มีลักษณะคล้ายกรดไขมัน (fatty acid) เช่น กรดฟอร์มิก สามารถแทรกตัวผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ ซึ่งภายในเซลล์ของแบคทีเรียนั้นมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง ขณะที่กรดฟอร์มิกนั้นมีค่า pKa ที่ 3.75 จึงส่งผลให้กรดแตกตัวออกและทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเซลล์แบคทีเรียต่ำลง ขณะที่เซลล์แบคทีเรียนั้นต้องการระดับความเป็นกรด-ด่างในช่วงแคบๆ จึงต้องกำจัดไฮโดรเจนไอออน (H⁺) ออกนอกเซลล์ ซึ่งต้องใช้พลังงานมาก นอกจากนั้นพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจึงส่งผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ decarboxylases และกระบวนการไกลโคไลซิส นอกจากนั้นแอนไอออน (RCOO⁻) ของกรดมีผลทำลายกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ เมื่อเซลล์มีการสูญเสียพลังงานในการรักษาความสมดุลภายในเซลล์ และมีแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จึงมีผลให้แบคทีเรียตายในที่สุด

อย่างไรก็ตาม Hai Meng (2006) รายงานว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอร์มิกที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichai coli* และ *Salmonella spp.* มีค่าเท่ากับ 0.25% และ 0.2% ตามลำดับ ขณะที่ Giesen (2005) รายงานว่ากรดฟอร์มิกที่มีความเข้มข้น 0.15% และ 0.1% เป็นความเข้มข้นที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichai coli* และ *Salmonella spp.* ตามลำดับ จากผลการทดลองค่า MIC ต่อเชื้อ *Escherichai coli* และ *Salmonella spp.* แตกต่างไปอาจเนื่องจากความบริสุทธิ์ของกรดฟอร์มิกที่ใช้ในการศึกษานั้นต่างกันในแต่ละการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ใช้กรดฟอร์มิกที่มีความบริสุทธิ์เท่ากับ 94% ซึ่งอาจมีความบริสุทธิ์ที่มากกว่า ดังนั้นจึงส่งผลให้ค่า MIC ของกรดฟอร์มิกต่อเชื้อจุลินทรีย์ต่ำกว่า

ตารางที่ 8 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดพอร์มิกต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

ความเข้มข้นของกรดพอร์มิก (% v/v)	เชื้อจุลินทรีย์			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enteritis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
กลุ่มควบคุมที่ 1 (negative control) ¹	-	-	-	-
กลุ่มควบคุมที่ 2 (positive control) ²	+	+	+	+
0.01 ³	+	+	+	+
0.05 ³	+	+	+	+
0.10 ³	-	-	+	+
0.15 ³	-	-	-	-
0.20 ³	-	-	-	-
0.25 ³	-	-	-	-
0.30 ³	-	-	-	-

¹ อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth

² เชื้อจุลินทรีย์ 10⁷ CFU/ml และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth

³ เชื้อจุลินทรีย์ 10⁷ CFU/ml และกรดพอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

+ เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโต

- เชื้อจุลินทรีย์ไม่เจริญเติบโต

ตารางที่ 9 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดพอร์มิกต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bacteriocidal Concentration, MBC)

ความเข้มข้นของกรดพอร์มิก (% v/v)	เชื้อจุลินทรีย์			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enteritis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
กลุ่มควบคุมที่ 1 (negative control) ¹	-	-	-	-
กลุ่มควบคุมที่ 2 (positive control) ²	+	+	+	+
0.01 ³	+	+	+	+
0.05 ³	+	+	+	+
0.10 ³	+	+	+	+
0.15 ³	-	-	+	+
0.20 ³	-	-	-	-
0.25 ³	-	-	-	-
0.30 ³	-	-	-	-

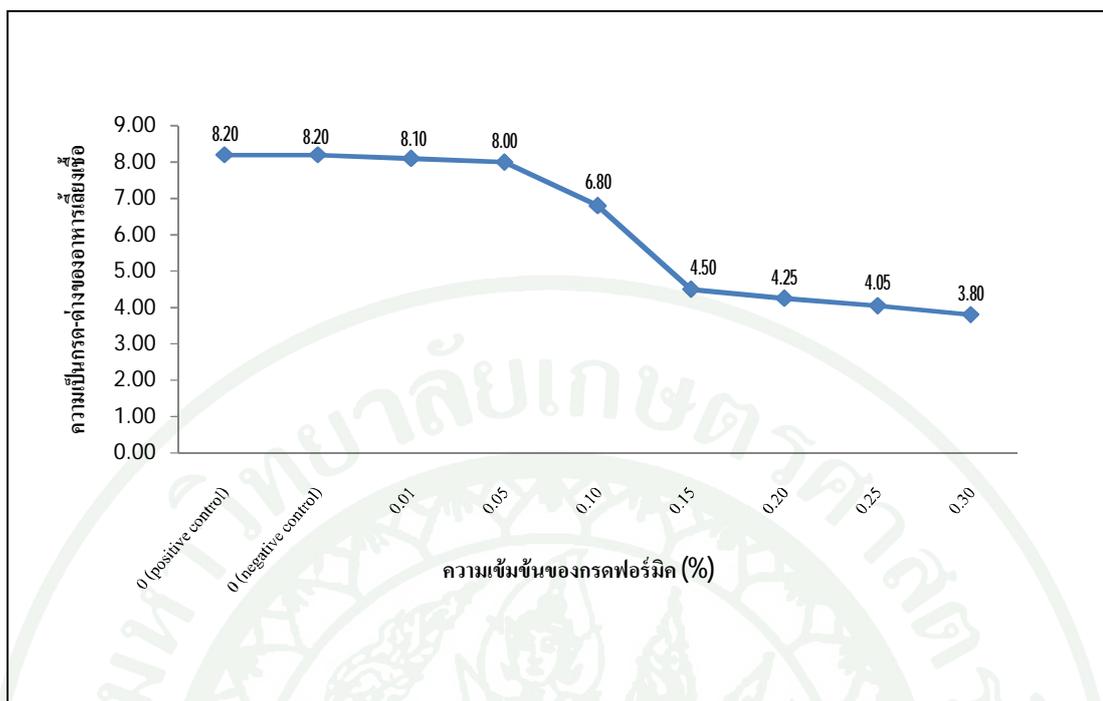
¹ อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth

² เชื้อจุลินทรีย์ 10⁷ CFU/ml และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth

³ เชื้อจุลินทรีย์ 10⁷ CFU/ml และกรดพอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

+ เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโต

- เชื้อจุลินทรีย์ไม่เจริญเติบโต



ภาพที่ 7 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเฉลี่ยของกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซาก สรีรวิทยาของทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระตัง

1. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต

1.1 ผลต่อปริมาณอาหารและน้ำ

ผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มของไก่กระตังต่อปริมาณการกินอาหาร ในทุกช่วงการทดลองแสดงในตารางที่ 10 ผลการทดสอบทางสถิติ พบว่า การเสริมกรดฟอสฟอริก ในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) ขณะที่การเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% มีผลให้ปริมาณอาหารที่กินได้ลดลงกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

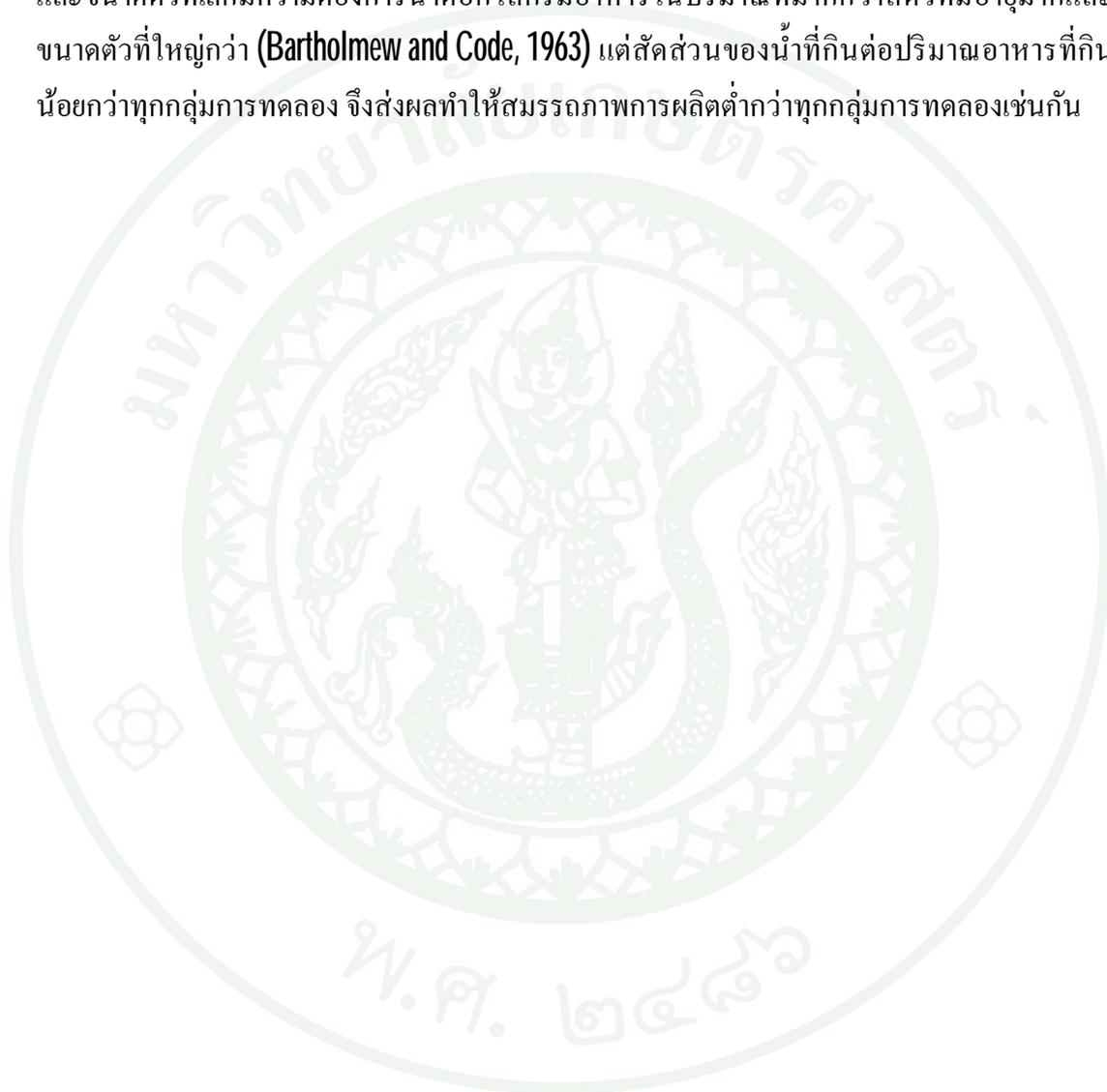
เมื่อพิจารณาผลต่อปริมาณน้ำที่กินของไก่กระตังในระยะแรก (1-21 วัน) พบว่า การเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% ส่งผลให้ปริมาณน้ำที่กินต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เช่นเดียวกับระยะรุ่น (22-42 วัน) และตลอดช่วงการทดลอง (1-42 วัน) พบว่าการเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.05 และ 0.10% มีผลให้ปริมาณน้ำที่กินได้ลดลงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.01% อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

การเพิ่มระดับกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่มลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 7.67 3.59 3.01 และ 2.79 ในกลุ่มที่เสริมกรดฟอสฟอริก 0% (กลุ่มควบคุม) 0.01% 0.05% และ 0.10% ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าในทุกช่วงการทดลองมีปริมาณกรดฟอสฟอริกที่ได้รับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ทำให้ปริมาณน้ำที่กินได้ของกลุ่มที่เสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% และสัดส่วนของปริมาณน้ำที่กินต่ออาหารที่กินต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 10 นอกจากนี้ ผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่า ปริมาณกรดฟอสฟอริกที่ได้รับเพิ่มขึ้นในน้ำดื่มส่งผลโดยตรงให้ปริมาณการกินน้ำลดลง ซึ่งพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ กรดฟอสฟอริกที่ได้รับกับปริมาณการกินน้ำที่ลดลงนั้น มีค่า $r^2 = 0.84$ ในตลอดช่วงการทดลอง ดังภาพที่ 8

น้ำเป็นสิ่งสำคัญต่อการดำรงชีวิตสำหรับสัตว์ปีก โดยมีหน้าที่สำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งความต้องการน้ำในแต่ละวันของสัตว์มีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ความแตกต่างของสัตว์แต่ละตัว ขนาดของร่างกาย ความเครียด อุณหภูมิภายในโรงเรือน ปริมาณอาหารที่กิน การเสริมสารเคมีรวมถึงยาหรือสารมีกลิ่นลงไปในอาหารและน้ำ (Elwyn *et al.*, 1991) นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินน้ำของสัตว์ปีก แม้สัตว์ปีกมีความสามารถในการทนต่อสภาพความเป็นกรด (acidity) และด่าง (alkalinity) ในน้ำดื่มที่มีค่าอยู่ระหว่าง 3-10 (Kare and Rogers, 1976) และสามารถทนต่อน้ำดื่มที่มีแร่ธาตุ และความเป็นกรดสูงได้เป็นเวลานาน (Furest and Kare, 1962) ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า การเสริมกรด ฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่ม เท่ากับ 2.79 ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าระดับที่สัตว์ปีกสามารถทนได้ จึงส่งผลให้สัตว์ปีกปฏิเสธการดื่มน้ำ และพบว่าปริมาณน้ำที่ดื่มน้ำมีความแปรผันโดยตรงต่อปริมาณการกินอาหาร ($r^2=0.79$) ดังนั้นปริมาณการดื่มน้ำที่ลดลงทำให้การกินอาหารลดลงด้วย นอกจากนั้น ความเปรี้ยวของกรดจากการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) และมีกลิ่นที่จุนมีผลกระตุ้นต่อมรับรสซึ่งอยู่ที่ upper beak epithelium, anterior mandible และ mandibular epithelium posterior จนถึงลิ้น (Denbow, 2000) ให้ส่งสัญญาณไปยังสมองส่วนไฮโปทาลามัส ซึ่งเป็นศูนย์ควบคุมการกินน้ำและอาหาร ทำให้ลดความอยากกินน้ำและอาหารลง (Yokogoshi *et al.*, 1987) ซึ่งสอดคล้องกับ Cave (1984) ที่รายงานว่า น้ำดื่มที่มีความเป็นกรดมากขึ้น เมื่อเพิ่มระดับกรดโปรปีโอนิก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวจนมีความน่ากินลดลง ส่งผลให้ปริมาณการกินน้ำและอาหารลดลง เช่นเดียวกับ Moharrey (2005) ที่รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มในระดับที่สูงถึง 0.10 และ 0.15% ส่งผลให้ปริมาณการกินน้ำและอาหารลดลง เนื่องจากน้ำดื่มมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงมาก

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กิน พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ทำให้มีผลต่อสัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กินได้ลดลง โดย Kirkpatric and Fleming (2008) รายงานว่าสัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กินได้ควรมีค่า 1.70:1 ซึ่งหมายถึงไก่กระตักที่ได้รับอาหารเต็มที่ต้องการน้ำดื่มประมาณ 1.70 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร ถ้าสัดส่วนการดื่มน้ำเพิ่มขึ้น จะมีผลต่อสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้น เนื่องจากน้ำมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสรีรวิทยาของร่างกายสัตว์ (Brooks *et al.*, 1986) ได้แก่ การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์และขนส่งของเสียออกนอกเซลล์ การเป็นสื่อกลางในการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ในร่างกาย เช่น ปฏิกิริยา hydration และ hydrolysis นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบของสารหล่อลื่นที่อยู่ตามข้อต่างๆ (Synovial fluid) และป้องกันการกระทบกระเทือนของเส้นใยในระบบประสาท (Thacker,

2001) ไก่กระทงกลุ่มที่ได้รับ กรดฟอร์มิก 0.10% มีสัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กินน้อยกว่าทุกกลุ่ม โดยในระยะรุ่น และตลอดช่วงการทดลอง มีค่าเท่ากับ 1.61:1 และ 1.68:1 ตามลำดับ เป็นสัดส่วนที่ต่ำกว่าค่าที่กำหนด จึงส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต อย่างไรก็ตามพบว่าในระยะแรกมีสัดส่วนของน้ำต่อปริมาณอาหารที่กิน เท่ากับ 1.92:1 เนื่องจากสัตว์ที่มีอายุน้อย และขนาดตัวที่เล็กมีความต้องการน้ำต่อกิโลกรัมอาหารในปริมาณที่มากกว่าสัตว์ที่มีอายุมากและขนาดตัวที่ใหญ่กว่า (Bartholmew and Code, 1963) แต่สัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กินน้อยกว่าทุกกลุ่มการทดลอง จึงส่งผลทำให้สมรรถภาพการผลิตต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลองเช่นกัน



ตารางที่ 10 แสดงผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณอาหารที่กิน ปริมาณน้ำที่กิน สัดส่วนของปริมาณน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กิน และ ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้รับของไก่กระตังในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอร์มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)					
ระยะแรก	1137.60±35.27 ^A	1124.74±35.87 ^A	1126.78±22.03 ^A	1083.00±32.56 ^B	0.0400
ระยะรุ่น	3498.73±71.22 ^A	3436.47±73.35 ^A	3409.36±79.86 ^A	3319.86±58.09 ^B	0.0044
ระยะแรก-ระยะรุ่น	4637.77±83.01 ^A	4561.21±104.07 ^A	4536.14±82.60 ^A	4402.86±86.94 ^B	0.0030
ปริมาณน้ำที่กิน (กรัม/ตัว)					
ระยะแรก	2405.10±70.75 ^A	2394.91±108.93 ^A	2326.81±104.50 ^A	2080.63±106.20 ^B	<0.0001
ระยะรุ่น	6049.80±126.45 ^A	6052.66±193.34 ^A	5780.25±143.36 ^B	5341.88±229.46 ^C	<0.0001
ระยะแรก-ระยะรุ่น	8454.91±123.47 ^A	8447.57±260.71 ^A	8107.06±122.90 ^B	7422.51±306.55 ^C	<0.0001

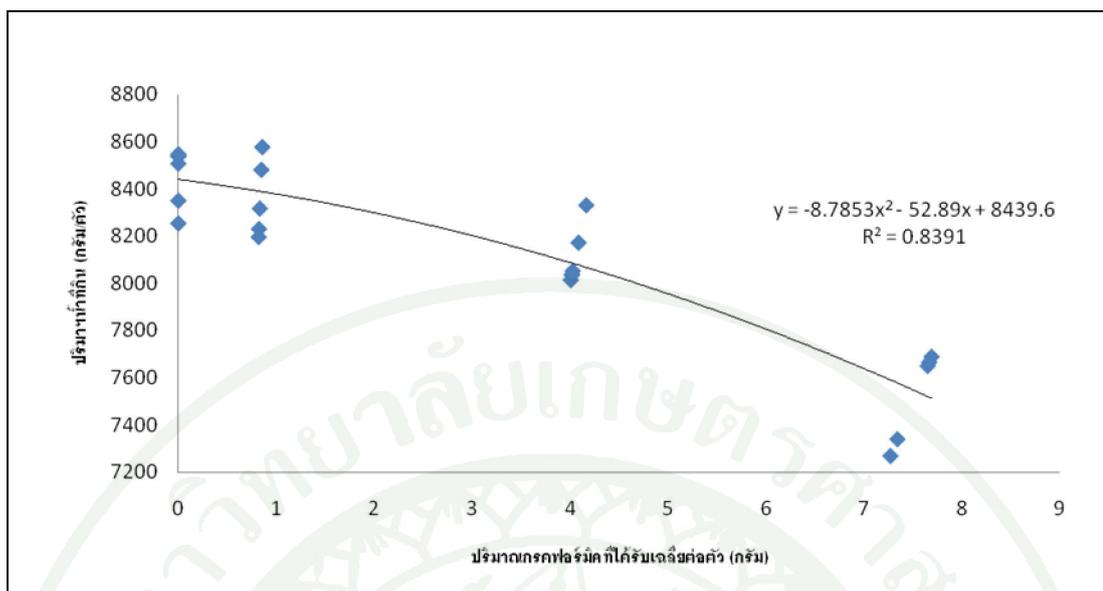
ตารางที่ 10 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ปริมาณน้ำที่กิน/ปริมาณอาหารที่กิน					
ระยะแรก	2.11±0.02 ^A	2.13±0.14 ^A	2.06±0.07 ^A	1.92±0.05 ^B	0.0010
ระยะรุ่น	1.73±0.04 ^A	1.76±0.07 ^A	1.72±0.04 ^A	1.61±0.07 ^B	0.0010
ระยะแรก-ระยะรุ่น	1.82±0.03 ^A	1.85±0.08 ^A	1.79±0.03 ^A	1.68±0.06 ^B	0.0002
ปริมาณกรดฟอรั่มิกที่ได้รับเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)					
ระยะแรก	0.00±0.00 ^D	0.24±0.01 ^C	1.16±0.05 ^B	2.08±0.11 ^A	<0.0001
ระยะรุ่น	0.00±0.00 ^D	0.61±0.02 ^C	2.89±0.07 ^B	5.34±0.23 ^A	<0.0001
ระยะแรก-ระยะรุ่น	0.00±0.00 ^D	0.84±0.03 ^C	4.05±0.06 ^B	7.42±0.31 ^A	<0.0001

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างวิธีหมักในการทดลอง

A, B, C และ D อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดฟอร์มิคที่ได้รับเฉลี่ยต่อตัว และปริมาณน้ำที่กินในช่วงทดลอง (1-42 วัน)

1.2 ผลต่อน้ำหนักตัวสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว และอัตราการตาย

ผลการเสริมกรดฟอร์มิคในน้ำดื่มต่อน้ำหนักตัวสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว แสดงในตารางที่ 11 โดยไก่อ่กระทงมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 39.93 39.93 39.93 และ 40.00 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.98$) เมื่อไก่อ่กระทงได้รับน้ำดื่มที่มีระดับกรดฟอร์มิคที่แตกต่างกันตามกลุ่มทดลอง พบว่าทั้งในช่วงระยะแรก (1-21 วัน) และระยะรุ่น (22-42 วัน) ไก่อ่กระทงกลุ่มที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอร์มิคในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ขณะที่การเสริมกรดฟอร์มิคในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีผลให้น้ำหนักตัวสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันลดลงกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) เช่นเดียวกับเมื่อพิจารณาตลอดการทดลอง (1-42 วัน) พบว่าการเสริมกรดฟอร์มิคที่ระดับ 0.10% ทำให้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันลดลง ($P<0.01$) และการเสริมกรดฟอร์มิคที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อย่างไรก็ตามพบว่าในทุกช่วงการทดลอง การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว นอกจากนี้ ผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่ออัตราการตายของไก่กระทงในระยะแรก ระยะรุ่น และตลอดช่วงการทดลองไม่พบความแตกต่างในแต่ละกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงในตารางที่ 12

การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากปริมาณการกินน้ำ และปริมาณการกินอาหารต่ำกว่าทุกกลุ่ม นอกจากนี้ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ปริมาณอาหารที่กินมีอิทธิพลโดยตรงต่อน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโต และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเจริญเติบโต มีค่า $r^2=0.81$ ดังภาพที่ 9 การเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% มีค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มลดลงต่ำกว่าระดับที่ไก่กระทงสามารถทนได้ มีผลลดปริมาณการกินน้ำ ส่งผลให้ปริมาณการกินอาหารลดลง นอกจากนี้ความเปรี้ยวและกลิ่นที่ฉุนของกรดฟอสฟอริกมีผลกระตุ้นต่อมรับรส ส่งสัญญาณไปยังสมองส่วนไฮโปทาลามัสทำให้ความอยากกินน้ำและอาหารลดลง (Yokogoshi *et al.*, 1987) มีผลทำให้สัดส่วนของน้ำที่กินต่อปริมาณอาหารที่กินต่ำกว่าค่าที่กำหนด จึงส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในด้านลบ เนื่องจากน้ำมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาของร่างกาย (Brooks *et al.*, 1986) จากเหตุผลดังกล่าว น้ำหนักตัวสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นจึงลดลง ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง สอดคล้องกับ ดนัยศักดิ์ (2550) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มในไก่กระทงในระดับสูงที่ระดับ 0.2 และ 0.4% ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มลดลง เท่ากับ 2.77 และ 2.72 ทำให้ปริมาณการกินน้ำ และอาหารลดลง จึงส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในด้านลบ

อย่างไรก็ตาม การเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% ไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทง แม้จะมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และปริมาณอาหารที่กินต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าการกินอาหาร และน้ำที่ลดลงไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ สอดคล้องกับ Mujdat *et al.* (1998) รายงานว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทงที่ได้รับกรดอินทรีย์ที่ระดับ 0.20% ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม เนื่องจากการเสริมกรดอินทรีย์ในระดับสูงอาจไม่ส่งผลให้เกิดแผลในระบบทางเดินอาหาร (กระเพาะบดและกระเพาะแท้) ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 11 แสดงผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทงในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอร์มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	39.93±0.47	39.93±0.30	39.93±0.30	40.00±0.25	0.9800
น้ำหนักตัวสิ้นสุด (กรัม/ตัว)					
ระยะแรก	857.59±18.35 ^A	839.06±15.23 ^A	842.19±18.49 ^A	798.39±25.36 ^B	0.0003
ระยะรุ่น	2629.14±100.45 ^A	2580.86±48.28 ^A	2561.81±48.35 ^A	2434.63±79.65 ^B	0.0012
น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)					
ระยะแรก	817.65±18.05 ^A	799.13±15.05 ^A	802.26±18.66 ^A	758.39±25.22 ^B	0.0003
ระยะรุ่น	1779.36±102.79 ^A	1712.70±39.24 ^A	1706.69±43.12 ^A	1616.89±50.05 ^B	0.0030
ระยะแรก-ระยะรุ่น	2589.21±100.39 ^A	2540.92±48.44 ^A	2521.88±48.11 ^A	2394.63±79.56 ^B	0.0012

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)					
ระยะแรก	38.94±0.86 ^A	38.05±0.72 ^A	38.20±0.89 ^A	36.11±1.20 ^B	0.0003
ระยะรุ่น	84.73±4.89 ^A	81.56±1.87 ^A	81.27±2.05 ^A	76.99±2.38 ^B	0.0030
ระยะแรก-ระยะรุ่น	61.65±2.39 ^A	60.50±1.15 ^A	60.04±1.15 ^A	57.01±1.89 ^B	0.0012
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว					
ระยะแรก	1.39 ± 0.02	1.41 ± 0.03	1.40 ± 0.02	1.43 ± 0.04	0.1700
ระยะรุ่น	1.99 ± 0.07	1.97 ± 0.07	1.98 ± 0.06	2.03 ± 0.09	0.4400
ระยะแรก-ระยะรุ่น	1.80 ± 0.04	1.80 ± 0.05	1.80 ± 0.04	1.84 ± 0.06	0.3000

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

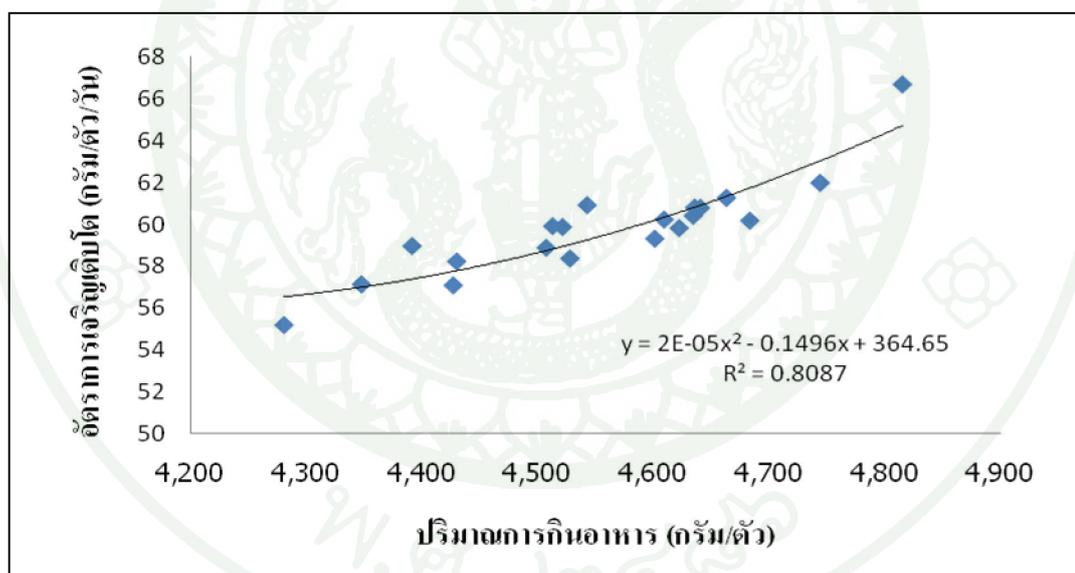
A, B และ C อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 12 แสดงผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่ออัตราการตายของไก่กระทง ในแต่ละช่วงอายุ

อัตราการตาย (%)	ระดับกรดฟอร์มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ระยะแรก	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.5800
ระยะรุ่น	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.33 ± 0.52	0.00 ± 0.00	0.2700
ระยะแรก-ระยะรุ่น	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	0.50 ± 0.55	0.00 ± 0.00	0.0800

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินอาหารกับอัตราการเจริญเติบโตในช่วงทดลองการทดลอง (1-42 วัน)

2. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อคุณภาพซาก

ผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อคุณภาพซากของไก่กระທงที่อายุ 42 วัน (ตารางที่ 13) พบว่า การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อน้ำหนักสะโพก ปีก และน้อง ($P>0.05$) แต่การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ทำให้น้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอก (กรัม/ตัว) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.04$) เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว พบว่า การเสริมกรด ฟอสฟอริกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ซาก เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสะโพก เปอร์เซ็นต์น้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอก เปอร์เซ็นต์น้ำหนักปีก เปอร์เซ็นต์น้ำหนักน้อง และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักปีก ($P>0.05$)

กรดอินทรีย์เป็นตัวกลางในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ที่ทำให้เกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในร่างกาย เช่นมวลรวมของร่างกาย และผลผลิตไข่ (Okelelova and Krivoruchko, 1991) โดยกรดอินทรีย์ช่วยปรับให้ความเป็นกรด-ด่างให้ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โดยเฉพาะเอนไซม์เปปซิน (Cranwell, 1995) และกระตุ้นเอนไซม์จากตับอ่อน (Dibner and Buttin, 2002) ช่วยสลายโครงสร้างเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้ตับนำกรดอะมิโนไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ร่างกายต้องการ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในครั้งนี้กลับ พบว่า การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ทำให้น้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอกต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณอาหารที่กินต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ส่งผลให้การสะสมโปรตีนในร่างกายลดลง โดยกล้ามเนื้อหน้าอกมีความไวในการตอบสนองต่อปริมาณอาหารที่กินจึงส่งผลให้น้ำหนักลดลง และเมื่อพิจารณาพร้อมกับน้ำหนักตัว พบว่าการเสริมกรดฟอสฟอริกที่ระดับ 0.10% ทำให้น้ำหนักตัวลดลง และพบความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวและน้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอก โดยมีค่า $r^2=0.84$ ดังภาพที่ 10 ซึ่งมีความสัมพันธ์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวกับน้ำหนักปีก สะโพก และน้อง ซึ่งมีค่า $r^2=0.57$, $r^2=0.10$ และ $r^2=0.33$ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า น้ำหนักตัวที่ลดลงนั้น เป็นผลจากน้ำหนักกล้ามเนื้อหน้าอกที่ลดลง

ขณะที่การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อคุณภาพซาก สอดคล้องกับการศึกษาของ Moharrery (2005) รายงานว่าการเสริมกรดมาลิกในอาหารไก่กระທงที่ระดับ 0.01 0.05 และ 0.10% ไม่ส่งผลต่อคุณภาพซาก เช่นเดียวกับ Leeson *et al.* (2005) ที่พบว่า ไก่กระທงที่ได้รับกรดบิวทริกในน้ำดื่ม ส่งผลให้คุณภาพซากไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 13 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อคุณภาพซากของไก่กระທงที่อายุ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ลักษณะซาก (กรัม)					
น้ำหนักตัว	2656.17 ± 148.01 ^A	2607.00 ± 64.28 ^A	2592.38 ± 128.93 ^A	2478.63 ± 92.24 ^B	0.0034
สะโพก	308.42 ± 36.08	304.33 ± 42.79	313.58 ± 37.11	317.50 ± 16.68	0.8006
น่อง	262.38 ± 11.77	258.25 ± 10.90	266.38 ± 9.71	243.63 ± 11.52	0.0600
ปีก	202.04 ± 15.05	197.79 ± 8.93	205.50 ± 21.83	191.42 ± 7.29	0.1124
กล้ามเนื้อหน้าอก	512.13 ± 41.53 ^A	510.83 ± 47.02 ^A	489.17 ± 54.54 ^{AB}	463.88 ± 32.58 ^B	0.0364

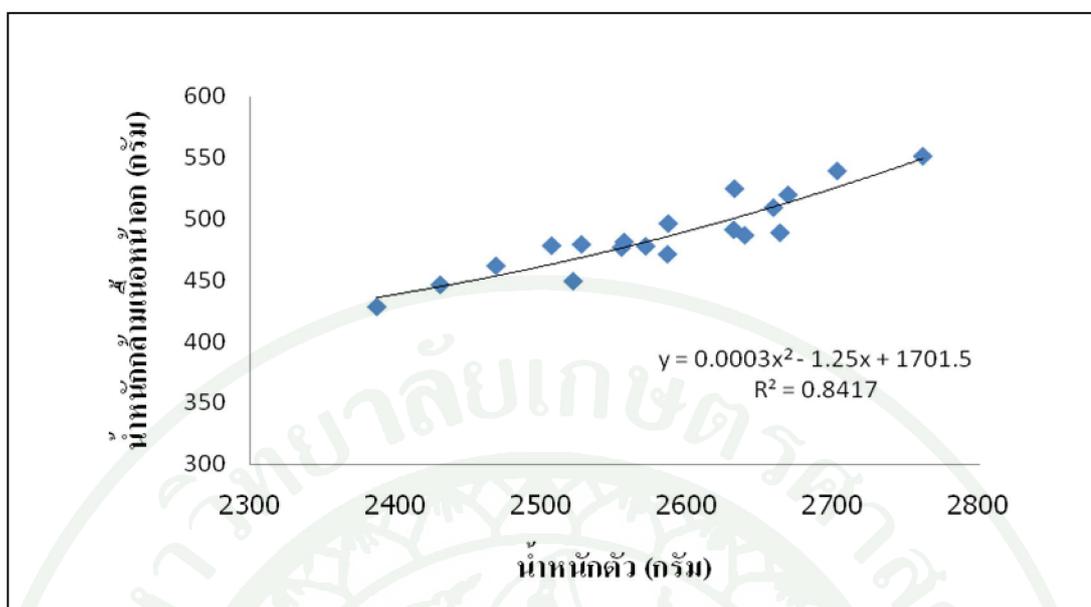
ตารางที่ 13 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดพอร์มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ลักษณะซาก (% น้ำหนักตัว)					
เปอร์เซ็นต์ซาก	79.47 ± 1.19	79.33 ± 1.46	80.47 ± 2.93	80.19 ± 1.57	0.4034
สะโพก	11.65 ± 1.57	11.68 ± 1.63	12.11 ± 1.37	12.82 ± 0.61	0.1396
น่อง	9.70 ± 0.30	9.90 ± 0.37	10.20 ± 0.24	9.75 ± 0.40	0.2038
ปีก	7.61 ± 0.41	7.59 ± 0.24	7.92 ± 0.61	7.73 ± 0.34	0.2142
กล้ามเนื้อหน้าอก	19.28 ± 1.12	19.60 ± 1.79	18.85 ± 1.61	18.72 ± 1.27	0.4496

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

A และ B อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำที่กิน และน้ำที่กักตัวเนื้อเยื่อของไก่กระทอง ที่อายุ 42 วัน

3. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

ผลของกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร แสดงในตารางที่ 14 พบว่า การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มในระยะแรก (1-21 วัน) ไม่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารเกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารในระยะรุ่น (22-42 วัน) ดังตารางที่ 15 พบว่า การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพัก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.02$) แต่การเสริมกรดฟอร์มิกไม่มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณกระเพาะแท้ กระเพาะบด ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ลำไส้เล็กส่วนปลาย ไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

การเสริมกรดอินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการลดความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร (Cranwell and Titchen, 1974; Radcliffe *et al.*, 1998) Thompson and Hinton (1997) รายงานว่าไก่ที่ได้รับน้ำที่เสริมกรดโปรปิโอนิก และฟอร์มิกส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารลดลง ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงมีความสัมพันธ์ต่อการย่อยและการใช้ประโยชน์ได้

ของโปรตีน (Blank *et al.*, 1999) ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์เปปซิน (Cranwell, 1995) มีผลให้อาหารอยู่ในกระเพาะอาหารนานขึ้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร (Ravindran and Kornrgay, 1993; Walsh *et al.*, 2004) ขณะที่การศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร อาจเนื่องมาจากช่วงเวลาที่ทำการศึกษา เช่น ทำการศึกษาในช่วงเวลาที่ไก่อะรงงไม่ได้้ออาหาร (Walsh *et al.*, 2004) ชนิดของอาหารและคุณสมบัติความเป็นบัฟเฟอร์ของอาหาร โดยเฉพาะกากถั่วเหลือง ปลาป่น และหินฝุ่น ซึ่งเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารสูงขึ้น (Rofh and Kirchgessner, 1989, Dibner and Buttin, 2002; Guathier, 2005) และการปรับตัวทางสรีระวิทยาของระบบทางเดินอาหาร (Izat *et al.*, 1990; Mathew *et al.*, 1991; Hernandez *et al.*, 2006) นอกจากนี้ Krause *et al.* (1994) อธิบายว่า ความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหารที่เพิ่มขึ้นกระตุ้นการหลั่งไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ที่บริเวณลำไส้ และเกิดการย้อนกลับสู่กระเพาะอาหาร ทำให้มีความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Poosuwan (2007) ที่เสริม Liquid methionine hydroxy analog (LMA) ในน้ำดื่มของไก่อะรงง โดยไม่พบการลดลงของความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และ Avila *et al.* (2003) รายงานเช่นกันว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มมากขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนั้น Atapattu and Nelligaswatta (2005) รายงานว่าการเสริมกรดซิตริก และ โพรปีโอนิกในอาหารแล้วไม่พบการลดลงของความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในระยะรุ่น (22-42 วัน) พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% มีผลลดค่าความเป็นกรดต่างในกระเพาะพัก อาจเนื่องจากช่วงเวลาที่ทำการศึกษาไก่อะรงงแต่ละตัวนั้นใช้ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างค่อนข้างนาน อาหารจึงเคลื่อนที่ไปสู่ส่วนอื่นของระบบทางเดินอาหาร จึงส่งผลให้การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% มีอิทธิพลลดค่าความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณกระเพาะพักสอดคล้องกับ Byrd *et al.* (2001) และ Chaveerach *et al.* (2004) พบว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มทำให้ค่าความเป็นกรดต่างในกระเพาะพักลดลง

ตารางที่ 14 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ระยะแรก (1-21 วัน)					
กระเพาะพัก	4.73 ± 0.87	4.73 ± 0.41	4.98 ± 0.65	4.82 ± 0.57	0.7600
กระเพาะแท้	3.12 ± 1.12	3.46 ± 1.11	2.57 ± 0.80	3.31 ± 1.08	0.1800
กระเพาะบด	2.88 ± 0.60	2.57 ± 0.51	2.97 ± 0.60	2.85 ± 0.62	0.3800
ลำไส้เล็กส่วนต้น	6.05 ± 0.33	5.83 ± 0.20	5.98 ± 0.21	6.05 ± 0.22	0.1200
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.05 ± 0.23	5.98 ± 0.18	5.84 ± 0.24	5.94 ± 0.15	0.1100
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	6.18 ± 0.50	6.23 ± 0.52	6.29 ± 0.46	6.17 ± 0.34	0.9000
ไส้ติ่ง	6.52 ± 0.29	6.14 ± 0.56	6.28 ± 0.40	6.38 ± 0.39	0.1800
ลำไส้ใหญ่	6.17 ± 0.64	5.84 ± 0.51	6.09 ± 0.48	6.41 ± 0.45	0.0800

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง
ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 15 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงในระยะรุ่น (22-42 วัน)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
กระเพาะพัก	4.60 ± 0.52 ^A	4.64 ± 0.42 ^A	4.36 ± 0.66 ^{AB}	4.06 ± 0.31 ^B	0.0200
กระเพาะแท้	3.80 ± 0.61	4.11 ± 0.37	3.81 ± 0.59	3.67 ± 0.80	0.3500
กระเพาะบด	3.86 ± 0.39	3.77 ± 0.44	3.62 ± 0.58	3.34 ± 0.88	0.1900
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.67 ± 0.36	5.39 ± 0.70	5.68 ± 0.29	5.56 ± 0.39	0.4100
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	5.58 ± 0.40	5.76 ± 0.29	5.78 ± 0.29	5.76 ± 0.38	0.4600
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	5.58 ± 0.72	6.38 ± 0.77	6.00 ± 0.87	5.90 ± 0.79	0.1200
ไส้ติ่ง	6.68 ± 0.41	6.49 ± 0.30	6.57 ± 0.31	6.49 ± 0.29	0.4400
ลำไส้ใหญ่	6.23 ± 0.61	6.00 ± 0.49	5.63 ± 0.64	6.08 ± 0.42	0.0700

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง A และ B อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม และระบบทางเดินอาหาร

ผลการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม และระบบทางเดินอาหาร แสดงในตารางที่ 16 พบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มทำให้ปริมาณ *E. coli* ในน้ำดื่มลดต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) ขณะที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* *Salmonella* spp. และ *Lactobacillus* spp. กลับแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เมื่อพิจารณาการเสริมกรดฟอรั่มิกต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม ซึ่งฉัฐวุฒิ (2545) รายงานว่า ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในน้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์ควรมีค่าไม่เกิน 0.78 log₁₀CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในกลุ่มควบคุมที่พบว่ามีปริมาณเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 5.15 log₁₀CFU

ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่า เนื่องจาก *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงในน้ำดื่มที่ใช้เลี้ยงสัตว์ (วิเชียร, 2548) โดยสภาวะความเป็นกรด-ด่างในน้ำเท่ากับ 6.0-8.0 เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *E. coli* (Tan, 2006) สอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มของกลุ่มควบคุมซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.67 อย่างไรก็ตามเมื่อเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มมีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในน้ำ เนื่องจากกรดฟอร์มิกจัดเป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งสามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนได้บางส่วน และมีค่า pKa เท่ากับ 3.75 (Dibner and Buttin, 2002) โดยกรดฟอร์มิกในรูปที่ยังไม่แตกตัวจะสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งภายในเซลล์แบคทีเรียมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 7 ทำให้แตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนส่งผลให้ไซโตซอลมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ระดับของไฮโดรเจนไอออนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ที่อยู่ในไซโตซอล (Lueck, 1980) กลไกการทำงานภายในเซลล์จึงมีการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้นเพื่อใช้ในการนำไฮโดรเจนไอออนออกสู่ภายนอกเซลล์เกิดสภาวะพลังงานไม่สมดุล (Energy imbalance) ขึ้นภายในเซลล์เป็นสาเหตุสำคัญของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Brul and Coote, 1999) ดังนั้นการเสริมกรดอินทรีย์จึงช่วยควบคุมและลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มให้ลดลง (Campbell, 1991) สอดคล้องกับ Farrell (2004) ที่พบว่าน้ำดื่มที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.0-5.0 สามารถลดปริมาณ *E. coli* ในน้ำดื่มได้ และชาญวิทย์ (2551) รายงานว่า การเสริม LMA ซึ่งจัดเป็นกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มที่ระดับ 0.05 และ 0.10% มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มมีค่าเท่ากับ 3.68 และ 3.37 ส่งผลให้ปริมาณ *E. coli* ในน้ำดื่มลดลงเท่ากับ 0.10 และ 0.30 log₁₀CFU ต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่มีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งบอกคุณภาพน้ำดื่มที่ดีขึ้น

แม้ว่าการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเสริมกรดฟอร์มิกสามารถลดปริมาณ *E. coli* ในน้ำดื่มได้ แต่กลับไม่มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง อาจเนื่องมาจากการเสริมกรดฟอร์มิกไม่สามารถลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งจนลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียลงได้ ทั้งนี้เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์มีความสามารถในการรักษาสมดุลความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ตลอดเวลา (Varel and Pond, 1985) สอดคล้องกับการศึกษาของ ชาญวิทย์ (2551) ซึ่งพบว่า การเสริม LMA ในน้ำดื่มไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus spp.* และ *E. coli* ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาล การเสริมกรดฟอร์มิกจึงไม่มีผลต่อปริมาณและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 16 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม และจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทงที่อายุ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
น้ำดื่ม					
<i>E. coli</i> (logCFU/ml)	5.15 ± 0.15 ^A	2.43 ± 0.60 ^B	0.00 ± 0.00 ^C	0.00 ± 0.00 ^C	<0.0001
ระบบทางเดินอาหาร					
<i>E. coli</i> (logCFU/ml)	6.22 ± 0.62	5.87 ± 0.79	5.78 ± 0.87	6.35 ± 0.53	0.4800
<i>Salmonella</i> spp. (logMPN/ml)	2.82 ± 0.34	2.75 ± 0.47	2.75 ± 0.33	2.59 ± 0.66	0.8400
<i>Lactobacillus</i> spp. (logCFU/ml)	5.68 ± 0.60	5.86 ± 0.71	5.93 ± 0.42	5.97 ± 0.53	0.8500

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง A, B และ C อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short Chain Fatty Acids: SCFAs) ในไส้ติ่ง

ตารางที่ 17 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่ม มีผลให้ปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายได้แก่ กรดโปรปิโอนิก และกรดบิวทีริก แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยใช้สารอาหารที่ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กเป็นสารตั้งต้น (Hintz *et al.*, 1978, Buguat, 1987) ซึ่งการหมักของจุลินทรีย์พบมากที่สุดบริเวณไส้ติ่ง (Jensen and Jørgensen, 1994) นอกจากนั้น Etheridge *et al.* (1984) กล่าวว่า อาหารที่มีการหมักย่อยได้ต่ำ มีผลเพิ่มกิจกรรมการทำงานของจุลินทรีย์ในการหมักย่อย และทำให้ได้กรดไขมันสายสั้น

ระเหยง่ายมากขึ้น ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง อาจเนื่องจาก กรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายที่ผลิตได้ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์อย่างรวดเร็ว โดยเซลล์เยื่อบุผิวเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน ให้กับจุลินทรีย์และสัตว์ (Pluske *et al.*, 1997) กรดไขมันสายสั้นส่วนใหญ่ (ไม่น้อยกว่า 95%) จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ใหญ่อย่างรวดเร็ว และเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์เยื่อบุลำไส้ บางส่วนจะถูกขับออกทางมูล ปัสสาวะ และลมหายใจ (Eliet and Shrents, 1992; Gibsen and Roberfreid, 1995) และเมื่อพิจารณาพร้อมกับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในไส้ติ่ง พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus spp.* เนื่องจากการเสริมกรดฟอรั่มิกไม่มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการผลิต กรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย ส่งผลให้สังเคราะห์กรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในปริมาณที่ไม่สูง สอดคล้องกับ Risley *et al.* (1992) และ Overland *et al.* (2008) ที่รายงานว่า กรดอินทรีย์ในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 17 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่งของไก่กระทงที่อายุ 42 วัน (มิลลิโมล/ลิตร)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
กรดโปรปิโอนิก	12.97 ± 13.92	13.71 ± 11.07	13.05 ± 9.35	7.55 ± 4.75	0.7500
กรดบิวทีริก	5.55 ± 5.01	5.78 ± 2.60	5.36 ± 1.47	3.41 ± 1.93	0.5700

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างวิธีทเมนต์ในการทดลอง ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

6. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ผลการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน) ดังตารางที่ 18 พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% มีผลลดความยาววิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ขณะที่การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความยาววิลลัสเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แม้การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% มีความยาววิลลัสสูงกว่าทุกกลุ่ม มีค่าเท่ากับ 1734.62 ไมโครเมตร เช่นเดียวกับบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลาง พบว่าไก่กระทงกลุ่มที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% มีผลเพิ่มความยาววิลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P = 0.03$) แต่ไม่แตกต่างกับการเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.05% อย่างไรก็ตามการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความลึกของคริปต์ และการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปต์บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง

เมื่อพิจารณาการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่กระทงในระยะรุ่น (22-42 วัน) ดังตารางที่ 19 พบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความยาววิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น ($P = 0.68$) และส่วนกลาง ($P = 0.70$) อย่างไรก็ตามพบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% มีค่าความยาววิลลัส บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 1772.66 และ 1389.01 ไมโครเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความลึกของคริปต์และการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปต์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง

การพัฒนาโครงสร้างของเยื่อ mucosa ในลำไส้เล็กของไก่กระทงมีการพัฒนาทันทีเมื่อได้รับอาหารหลักจากฟักออก ส่วนลำไส้เล็กส่วนต้น จะมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ เมื่อไก่อายุ 7 วัน ขณะที่ลำไส้ส่วนกลางและส่วนปลายนั้นจะพัฒนาต่อไปจนสมบูรณ์เมื่ออายุ 14 วัน (Uni *et al.*, 1995; 1998) ดังนั้นความยาววิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางในกลุ่มที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% ที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ น่าจะเป็นผลจากการกินน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิก อย่างไรก็ตาม การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.01% มีผลต่อโครงสร้างของเยื่อ mucosa ของลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางเฉพาะในระยะแรก (1-21 วัน) แต่กลับไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อ

ความสูงของวิลลัสในระยะรุ่น (22-42 วัน) ทั้งนี้เนื่องจาก ไก่กระทงมีการเจริญเติบโตของวิลลัสอย่างรวดเร็วในทุกส่วนของลำไส้เล็กหลังฟักออกจากไข่ 2 วัน เพื่อทำการย่อยและดูดซึมโภชนาต่างๆ ในอาหาร (Geyra *et al.*, 2001) จะเห็นได้ว่าการพัฒนาโครงสร้างของเยื่อ *mucosa* ของลำไส้เล็กนั้นสมบูรณ์ในช่วงระยะแรก แสดงให้เห็นว่าอายุของไก่กระทงและการพัฒนาโครงสร้างของเยื่อ *mucosa* ของลำไส้เล็กนั้นมีความเกี่ยวข้องกัน

กรดอินทรีย์มีผลปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก (Frankel *et al.*, 1994; Sakata *et al.*, 1995) โดยเซลล์เยื่อผิวในระบบทางเดินอาหารสามารถใช้กรดอินทรีย์เป็นพลังงานในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนและซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย (Blank *et al.*, 1999, Mroz, 2005) จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01% ส่งผลให้ความสูงของวิลลัสเพิ่มขึ้น สาเหตุเนื่องจากเซลล์เยื่อผิวของลำไส้จะใช้กรดฟอร์มิกเป็นแหล่งของพลังงานในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ เนื่องจากกรดฟอร์มิกสามารถเคลื่อนที่ผ่าน (Diffussion) เข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง (Dibner and Butin, 2002) จึงเป็นแหล่งพลังงานซึ่งมีผลต่อการแบ่งตัว เพิ่มจำนวน และขยายขนาดของเซลล์เยื่อผิวของลำไส้เล็ก เพราะหากระดับพลังงานที่ไม่เพียงพอภายในเซลล์จะมีผลทำให้เกิดการฝ่อของวิลลัส (Van Beers-Schreurs *et al.*, 1995) สอดคล้องกับ Xia *et al.* (2004) และ Pelicano *et al.* (2005) ที่รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์มีผลเพิ่มความสูงวิลลัสของลำไส้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01% มีผลปรับปรุงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่กระทงให้ดีขึ้น

นอกจากนี้พบว่า การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ส่งผลให้ความยาววิลลัส บริเวณลำไส้เล็กต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อาจเนื่องจากการได้รับน้ำดื่มที่มีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.79 เป็นระดับที่ต่ำกว่าที่สัตว์ปีกสามารถทนได้ส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียด Pluske *et al.* (1997) รายงานว่าความเครียด เช่น การเปลี่ยนอาหารการจับกลุ่ม และอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการฝ่อของวิลลัส ทำให้การดูดซึมอาหารได้ลดลง นอกจากนี้กรดฟอร์มิกที่เคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่เซลล์นั้นอาจมีปริมาณที่น้อย ส่งผลให้ระดับพลังงานไม่เพียงพอต่อการแบ่งเซลล์ เพิ่มจำนวน และซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย ดังนั้นการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% จึงทำให้ความยาววิลลัสลดลง สอดคล้องกับ Kelly *et al.* (1991) รายงานว่าลูกสุกรหลังหย่านมจะเกิดความเครียดเนื่องมาจากอาหารและการจัดการ มีผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก โดยพบว่าความสูงของวิลลัสจะลดลง ทำให้ลดการดูดซึมสารอาหารที่บริเวณลำไส้เล็ก และปริมาณการกินอาหารลดลง

ตารางที่ 18 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กของไก่กระทองในระยะแรก (1-21 วัน)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ความสูงวิลลัส (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1659.34 ± 136.95 ^A	1734.62 ± 82.98 ^A	1699.44 ± 81.85 ^A	1553.36 ± 113.49 ^B	0.0034
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1072.05 ± 147.98 ^b	1237.13 ± 152.00 ^a	1122.90 ± 92.84 ^{ab}	1075.38 ± 137.11 ^b	0.0300
ความลึกของคริปต์ (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	263.53 ± 49.03	283.33 ± 89.54	276.57 ± 51.07	244.44 ± 47.51	0.4400
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	194.99 ± 29.82	190.18 ± 24.64	211.23 ± 59.48	185.80 ± 38.02	0.7400
ความสูงของวิลลัส : ความลึกของคริปต์					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	6.87 ± 1.67	6.94 ± 1.98	6.52 ± 0.99	6.87 ± 1.14	0.9100
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	5.79 ± 1.33	6.83 ± 1.80	5.66 ± 1.31	6.22 ± 0.99	0.2100

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

^A และ ^B อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 19 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กของไก่กระทงในระยะรุ่น (22-42 วัน)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ความสูงวิลลัส (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1590.91 ± 409.66	1772.66 ± 180.54	1609.20 ± 297.29	1534.29 ± 270.64	0.6800
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1281.26 ± 132.38	1389.01 ± 131.83	1267.15 ± 235.84	1245.05 ± 281.66	0.7000
ความลึกของคริปต์ (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	273.01 ± 52.13	267.24 ± 47.05	256.72 ± 66.02	223.97 ± 51.19	0.4600
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	219.64 ± 25.78	199.50 ± 59.38	199.01 ± 39.44	199.38 ± 64.95	0.8600
ความสูงของวิลลัส : ความลึกของคริปต์					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	6.21 ± 0.68	6.55 ± 1.05	6.42 ± 1.78	7.57 ± 1.15	0.0600
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.14 ± 0.52	6.99 ± 1.78	6.47 ± 0.87	7.52 ± 1.83	0.4300

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างพหุคูณในการทดลอง
ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

7. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน

ตารางที่ 20 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน) และระยะรุ่น (22-42 วัน) โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว พบว่าไก่กระทงที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิกมีน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ ไชมันช่องท้อง และหัวใจ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ผลการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักม้าม และต่อมเบอรัซ่าของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน) และระยะรุ่น (22-42 วัน) โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว (ดังตารางที่ 20) พบว่า ไก่กระทงที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิกมีน้ำหนักม้ามไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกับเมื่อพิจารณาผลการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักเบอรัซ่า มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

เมื่อพิจารณาผลการทดลอง พบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายในที่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว อาจเนื่องมาจาก การเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อเรียบและกล้ามเนื้อลาย อวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของสัตว์ซึ่งมีการพัฒนาอย่างเต็มที่มาก่อน จึงเป็นผลให้ไก่กระทงมีน้ำหนักอวัยวะภายในไม่แตกต่างกัน (Tan *et al.*, 1999) สอดคล้องกับ คณิศศักดิ์ (2550) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มในไก่กระทงไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน ม้ามเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอม โดยการทำงานร่วมกันของ T lymphocytes, B lymphocytes และ macrophages ม้ามจึงมีความสำคัญในการปกป้องร่างกาย นอกจากนี้ม้ามเป็นตัวกรองกระแสเลือดเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่ผ่านเข้ามา โดย T lymphocytes จะมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเป็น activated T lymphocytes เข้าสู่กระแสเลือด เพื่อทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ ส่วน B lymphocytes มีการแบ่งตัวและเจริญไปเป็น plasma cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่สร้างแอนติบอดี จึงทำหน้าที่ในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด ซึ่งค่าเฉลี่ยสัดส่วนของน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว อาจบ่งบอกถึงความสามารถของร่างกายต่อการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม (Tizard, 2000) จากผลการทดลอง พบว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยสัดส่วนของน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว แสดงว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกอาจไม่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยรวมของไก่กระทง เช่นเดียวกับต่อมเบอรัซ่าเป็นอวัยวะน้ำเหลืองปฐมภูมิซึ่งทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางที่ stem cells จากไขกระดูกและพัฒนาเป็น B cells ซึ่งตอบสนองต่อแอนติเจน โดยการสร้างและปลดปล่อยแอนติบอดีเข้าสู่กระแสเลือด จะไปเจริญเต็มที่เมื่อไก่อายุ 28 วัน

อัตราส่วนของน้ำหนักต่อมเบอรัซ่าต่อน้ำหนักตัวจะลดลงเมื่อไก่อายุมากขึ้น (นิวัตรและวิษณุ, 2552) จะหยุดการทำงานและฝ่อลงเมื่อไก่อายุ 42 วัน โดย B cells จะไปเจริญและพัฒนาที่อวัยวะน้ำเหลือง ทูตียภูมิ ได้แก่ต่อมน้ำเหลือง (Payer's Patches) หรือไขกระดูก (Bone marrow) แทน (Tizard, 2000) จึงทำให้การเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มไม่มีผลต่อน้ำหนักต่อมเบอรัซ่า ซึ่งขนาดของต่อมเบอรัซ่าก็ไม่สามารถบ่งชี้ระบบภูมิคุ้มกันได้เช่นกัน

ตารางที่ 20 แสดงผลของการเสริมกรดพอร์มิกในน้ำดื่มต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทง ในแต่ละช่วงอายุ

น้ำหนักอวัยวะภายใน (% น้ำหนักตัว)	ระดับกรดพอร์มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
ระยะแรก (21 วัน)					
ตับ	2.87 ± 0.40	2.92 ± 0.38	2.69 ± 0.21	2.69 ± 0.20	0.1900
ไขมันช่องท้อง	1.36 ± 0.28	1.33 ± 0.26	1.14 ± 0.21	1.30 ± 0.30	0.1900
หัวใจ	0.65 ± 0.09	0.64 ± 0.11	0.61 ± 0.05	0.66 ± 0.09	0.4200
ม้าม	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.6000
ต่อมเบอรัซ่า	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.07	0.26 ± 0.06	0.26 ± 0.04	0.2100
ระยะแรก (42 วัน)					
ตับ	2.17 ± 0.14	2.14 ± 0.13	1.96 ± 0.10	2.09 ± 0.11	0.0700
ไขมันช่องท้อง	1.87 ± 0.29	1.92 ± 0.50	1.66 ± 0.43	1.81 ± 0.29	0.3800
หัวใจ	0.44 ± 0.06	0.47 ± 0.04	0.42 ± 0.04	0.46 ± 0.06	0.1700
ม้าม	0.11 ± 0.04	0.10 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.0900
ต่อมเบอรัซ่า	0.13 ± 0.05	0.15 ± 0.06	0.13 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.2100

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

8. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ และความเข้มข้นของ Immunoglobulin G (IgG) ในซีรัม

จากผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน) และระยะรุ่น (22-42 วัน) แสดงในตารางที่ 21 พบว่า ในระยะแรก การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีผลเพิ่มอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.04$) อย่างไรก็ตามการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกับเมื่อพิจารณาผลการทดลองในระยะรุ่น พบว่า ไก่กระทงกลุ่มที่ได้รับน้ำดื่มที่เสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ 0.10% มีอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.04$)

การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อความเข้มข้นของ IgG ในซีรัมของไก่กระทงในระยะแรก (1-21 วัน) และระยะรุ่น (22-42 วัน) แสดงในตารางที่ 21 พบว่าค่า IgG มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในทั้งสองระยะ อย่างไรก็ตามการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีค่าความเข้มข้นของ IgG ในระยะแรก และระยะรุ่นต่ำที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.31 และ 8.12 mg/ml ตามลำดับ

อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของไก่กระทง (ตารางที่ 21) มีค่าใกล้เคียงกับ Jain (1993) ที่รายงานว่าค่าอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ปกติของสัตว์ปีกมีค่าเท่ากับ 0.30-0.57 ทั้งนี้ค่าปกติของอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่มีความผันแปรตามชนิด และอายุของสัตว์ สภาพร่างกาย และสิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับ เณลิยว (2540) รายงานว่า ค่าเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล จะมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มีค่าลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น ทำให้สัดส่วนของเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่มีค่าเพิ่มขึ้นในสัตว์ปีก สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า เมื่ออายุเพิ่มขึ้นอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์มีค่าสูงขึ้น อย่างไรก็ตามอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์สามารถเปลี่ยนแปลงได้จากปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างลิมโฟไซต์ เช่น สภาวะที่สัตว์มีความเครียด Altan *et al.* (2000) รายงานว่า สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิด ส่งผลให้สัดส่วนของเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของไก่เพิ่มขึ้น เนื่องจากในภาวะที่สัตว์ได้รับความเครียดจะมีการหลั่งฮอร์โมนหลาย

ชนิด เช่น คอร์ติซอล (cortisol) ซึ่งมีผลกดภูมิคุ้มกัน โรคของร่างกาย ทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่มีปริมาณลดลง ในขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลเพิ่มขึ้น จึงมีผลทำให้ค่าอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงใช้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์ เป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะความเครียดของสัตว์ได้ (Gross and Siegal, 1986; Maxwell, 1993)

จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจากการได้รับน้ำดื่มที่มีความเป็นกรดต่างต่ำกว่าระดับที่สัตว์ปีกสามารถทนได้ จึงส่งผลต่อความเครียดที่เกิดขึ้นในตัวไก่กระทง โดยผลการทดลองโดยรวมบ่งชี้ว่าการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% อาจมีผลทำให้เกิดความเครียดในไก่ได้ แม้ Rath *et al.* (2006) รายงานว่าการเสริมกรดชีวมิคไม่ส่งผลต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์ นอกจากความเครียดจะทำให้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น (Daghir, 1995) ยังส่งผลให้ระดับของแอนติบอดีลดลง (Khajavi *et al.*, 2003) โดยจะกดการทำงานของ Interleukin-2 (IL-2) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการแบ่งตัวและเจริญเติบโตของ B lymphocyte (Siegel, 1995) ในขณะเดียวกันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมทาบอลิซึมที่สำคัญ ได้แก่ การเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งจะไปเพิ่มการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ที่เยื่อหุ้มเซลล์ (Manoli *et al.*, 2000) ส่งผลให้เกิดความเสียหายของเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Tizard, 2000) เกิดการฟอตัวของต่อมธัยมัส ต่อมเบอร์ซา และม้าม (Leeson and Summer, 2001) อีกทั้งยังส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ (Cravener *et al.*, 1992) ผลการทดลองที่เกิดขึ้นสอดคล้องกับระดับภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด และความเครียด โดยพบว่า การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% มีอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูง จะมีความเข้มข้นของ IgG ในกระแสเลือดต่ำ จึงอาจส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของไก่กระทง

ตารางที่ 21 แสดงผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเซทเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟไซต์และความเข้มข้นของ IgG ในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของไก่อักรงในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอสฟอริก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
อัตราส่วน H/L					
ระยะแรก	0.30 ± 0.03 ^B	0.31 ± 0.07 ^B	0.32 ± 0.05 ^B	0.41 ± 0.10 ^A	0.0400
ระยะรุ่น	0.31 ± 0.10 ^B	0.39 ± 0.05 ^{AB}	0.41 ± 0.13 ^{AB}	0.48 ± 0.10 ^A	0.0400
ความเข้มข้น IgG					
ระยะแรก	6.92 ± 2.22	6.71 ± 4.67	6.00 ± 3.97	5.31 ± 4.19	0.8900
ระยะรุ่น	10.03 ± 1.56	9.61 ± 3.39	8.59 ± 4.48	8.12 ± 2.43	0.7100

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง A และ B อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

9. อิทธิพลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูก และความสามารถในการเดินของไก่อักรง

จากตารางที่ 22 แสดงผลของการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูก tibia และความสามารถในการเดิน (gait score) ของไก่อักรงที่อายุ 42 วัน พบว่าการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่ม มีผลให้ปริมาณเถ้า การสะสมแคลเซียม และฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ความแข็งแรงของกระดูกมีแนวโน้มลดลง (P=0.09)

จากผลการทดลอง พบว่าการเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มในระดับที่สูงขึ้น มีแนวโน้มทำให้ค่า gait score เพิ่มขึ้น แต่การเสริมกรดฟอสฟอริกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ยังไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเดินของไก่อักรง ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากค่า gait score พบว่าไก่อักรงกลุ่มที่ได้รับกรดฟอสฟอริกในระดับสูงสุดในการศึกษาครั้งนี้มีค่า gait score เท่ากับ 2.07 คือ ไก่อักรงสามารถถูกบ่งชี้ได้ว่ามีความผิดปกติในการเดิน แต่ยังไม่ส่งผลต่อลักษณะการเดินของไก่อักรง

โดย Knowles *et al.* (2008) รายงานว่าค่า gait score ในไก่กระทงควรมีค่าไม่เกิน 3 โดยความสามารถในการเดินขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ความแข็งแรงของกระดูก ความยืดหยุ่นของเอ็น และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ (Bradshaw *et al.*, 2002; Oviedo-Rondón *et al.*, 2006a, b) ซึ่งกรดฟอรั่มิกอาจไม่มีผลต่อความยืดหยุ่นของเอ็น และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ จึงไม่ส่งผลต่อความสามารถในการเดินของไก่กระทง

การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มมีแนวโน้มทำให้การสะสมแคลเซียม และฟอสฟอรัส ในกระดูก tibia ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเสริมกรดฟอรั่มิกในระดับที่สูง อาจทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดในเลือด (metabolic acidosis) เป็นสาเหตุหลักในการเกิดโรคกระดูกพรุน (Arnett and Dempster, 1990; Arnett *et al.*, 1994; Bunshinsky *et al.*, 1994) โดย Bunshinsky *et al.* (2003) รายงานว่ากระดูกเป็นแหล่งของบัฟเฟอร์ในร่างกาย เมื่อเกิดสภาวะ metabolic acidosis มีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์ออสติโอคลาสต์ ซึ่งมีหน้าที่ทำลายกระดูก ส่งผลให้เกิดการสลายกระดูกมากขึ้น และเพิ่มการหลั่ง parathyroid hormone จะกระตุ้นการทำงานของเซลล์ออสติโอคลาสต์ สอดคล้องกับ Krieger *et al.* (1992) รายงานว่า metabolic acidosis ส่งผลต่อการหลั่งและการทำงานของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระดูก โดยมีการสร้าง $1,25 (OH)_2D_3$ ที่ลดลง ทำให้การดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสลดลง (Bunshinsky *et al.*, 2003) และเหนี่ยวนำให้ขับแคลเซียมและฟอสฟอรัสออกผ่านทางไต (New, 2002) จนมีผลทำให้ความแข็งแรงของกระดูกมีแนวโน้มลดลง สอดคล้องกับเนติกานต์ และคณะ (2548) รายงานว่า ค่าการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมของกลุ่มที่ได้รับการเสริมกรดอินทรีย์ทั้งในอาหารและน้ำกลับลดลง เช่นเดียวกับ Biagi *et al.* (2003) และ Gauthier (2005) รายงานว่าการได้รับกรดอินทรีย์ในระดับที่สูงส่งผลเสียต่อตัวสัตว์ ทำให้การสะสมแร่ธาตุในกระดูก tibia ลดลง โดยพบอาการ bone decalcification ทั้งในสุกรและสัตว์ปีก

ตารางที่ 22 แสดงผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อค่า gait score การสะสมแร่ธาตุ และความแข็งแรงของกระดูกในไก่กระทงอายุ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับกรดฟอรั่มิก (%)				P-value ¹
	0.00	0.01	0.05	0.10	
Gait score	1.86 ± 1.04	1.90 ± 0.98	1.93 ± 1.14	2.07 ± 1.14	0.8900
น้ำหนักกระดูก (กรัม)	13.06 ± 0.93	12.73 ± 0.95	12.26 ± 1.24	12.71 ± 1.28	0.4000
น้ำหนักกระดูก (% น้ำหนักตัว)	0.50 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.48 ± 0.05	0.52 ± 0.05	0.1200
เถ้า (กรัมของน้ำหนักกระดูก)	6.45 ± 0.50	6.23 ± 0.54	6.17 ± 0.53	6.18 ± 0.53	0.1300
แคลเซียม (กรัมของน้ำหนักกระดูก)	2.43 ± 0.17	2.35 ± 0.18	2.32 ± 0.20	2.28 ± 0.16	0.1300
ฟอสฟอรัส (กรัมของน้ำหนักกระดูก)	0.66 ± 0.04	0.64 ± 0.05	0.62 ± 0.06	0.61 ± 0.04	0.1000
ความแข็งแรงของกระดูก (kgf)	34.37 ± 5.35	31.32 ± 3.03	29.45 ± 5.07	29.34 ± 4.32	0.0900

หมายเหตุ ¹ P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดของกรดฟอร์มิกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) พบว่า กรดฟอร์มิกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ เนื่องจากมีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

ส่วนการศึกษาผลของการเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระตัง พบว่าการเสริมกรด ฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.01 และ 0.05% ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต การเสริมกรดฟอร์มิกระดับ 0.01% มีผลเพิ่มความสูงของวิลด์สบริเวนล่าไส้เล็ก เนื่องจากเซลล์เยื่ออุพิวในระบบทางเดินอาหารสามารถใช้กรดฟอร์มิกเป็นพลังงาน ในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ ขณะที่การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่มที่ระดับ 0.10% ส่งผลกระทบต่อปริมาณน้ำที่กิน จึงส่งผลให้ปริมาณอาหารที่กินลดลง เนื่องจากมีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าที่สัตว์ปีกสามารถทนได้ ส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียด ซึ่งวัดได้จากค่าอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่เพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้นของ IgG และความสูงของวิลด์สลดลง ดังนั้นจึงส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในด้านลบ นอกจากนี้ การเสริมกรดฟอร์มิกไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากการปรับตัวทางสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหาร และความเป็น **buffer capacity** ในอาหารทำให้ด้านการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้การเสริมกรดฟอร์มิกในน้ำดื่ม ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มลดลง มีผลลดปริมาณ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำดื่ม ขณะที่ไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร อาจเนื่องจากการเสริมกรดฟอร์มิกไม่สามารถลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งจนสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียลงได้ เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์สามารถรักษาสมดุลความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ตลอดเวลา อย่างไรก็ตามการเพิ่มระดับกรดฟอร์มิกอาจมีผลต่อความสามารถในการเดินของไก่กระตัง โดยการสะสมแร่ธาตุในกระดูกมีแนวโน้มลดลง

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบภูมิคุ้มกัน นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการสะสมแร่ธาตุของไก่กระทง ในครั้งนี้มีข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. การเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ **0.10%** นั้นมีความเข้มข้นค่อนข้างสูง ซึ่งส่งผลให้ปริมาณการกินน้ำ และปริมาณการกินอาหารลดลง และส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียด จึงกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในด้านลบ ดังนั้นอาจพิจารณาการเสริมกรดฟอรั่มิกในน้ำดื่มที่ระดับ **0.01-0.05%** เพื่อไม่ให้กระทบต่อสมรรถภาพการผลิต และสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มได้

2. การเสริมกรดฟอรั่มิกที่ระดับ **0.01%** มีผลเพิ่มความสูงวิลด์ัสที่บริเวณต่างๆ ของลำไส้เล็ก จึงเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นควรมีการศึกษากลไกการทำงานของกรดฟอรั่มิกต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก เพื่อหาข้อสรุปต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. 2545. ระบบอวัยวะของร่างกาย. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ พุนสุข. 2536. โรคติดเชื้อในไก่. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

คะเนิงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์. 2540. การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิต การใช้และความต้องการ Probiotics ของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์. เอกสารวิชาการ BIOTEC. 3: 1-40.

เฉลียว ศาลากิจ. 2540. โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. โรงพิมพ์อักษรสมัยพ, กรุงเทพฯ.

ชาญวิทย์ แก้วดาปี. 2551. ผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอกต่อสมรรถภาพการผลิตนิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์. 2545. การศึกษา: ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ อี โคไล ในน้ำดื่มสุกรมแม่พันธุ์, น. 57-77. ใน ปรีวรรต พูลเพิ่ม, ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์, สมเกียรติ พันธุ์ธรรม, อลงกต บุญสูงเนิน, วิเชียร นวสกุลจินดา และชลลดา อานันท์รัตนกุล, บรรณาธิการ. พันโรคทันเหตุการณ์กับการเลี้ยงสุกร ครั้งที่ 4. บริษัท ดาด้า เปเปอร์ แอนด์ พรีนธ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

คณัศศักดิ์ เย็นใจ. 2550. ผลของการเติมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต สรีระวิทยาในระบบทางเดินอาหาร และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในไก่กระทอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ สุโกศล. 2541. แอนติเจนและแอนติบอดี, น. 31-59. ใน สุทธิพรรณ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. บริษัท ฟรินด์ โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.

นิวัตร จันท์ศิริพรชัย และวิษณุ วรรณแสวง. 2552. ระบบภูมิคุ้มกันและการแปลผลซีรัม
ในสัตว์ปีก. บริษัท ตีรณสาร จำกัด, กรุงเทพฯ.

เนติกานต์ แก้วอรุณ, อังคณา หาญบรรจง และชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2548. ผลของ DL-Methionine
และ Methionine Hydroxy Analogue ต่อสมรรถภาพการผลิตและการสะสมแร่ธาตุใน
ร่างกายไก่กระตางเพศผู้, น. 42 ใน การประชุมทางวิชาการสาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/
สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5. การผลิตสัตว์อย่างยั่งยืน 14-15 พฤศจิกายน, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่.

นวลจันทร์ พารักษา, สิ้นชัย พารักษา และ ทวีศักดิ์ ส่งเสริม. 2548. คู่มือการวิจัย 3
การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในสัตว์ปีกและสุกร. คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

บุษบา วิวัฒน์เวคิน. 2543. หลักการของ Probiotic: โภชนาการที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่
ของมนุษย์. วารสารองค์การเภสัชกรรม. 26: 31-40.

พันทิพา พงษ์เพียงจันทร์. 2547. หลักการอาหารสัตว์: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์ เล่ม 2.
โอ.เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์, เชียงใหม่.

พงษ์ทิพย์ โกเมศโสภา และ ธนาธิช เสือวรรณศรี. 2534. เคมีพื้นฐาน. สำนักพิมพ์ยูไนเต็ดบุ๊กส์,
กรุงเทพฯ.

พรพรรณ รัตนนาคินทร์. 2540. อินทรีย์เคมี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้,
เชียงใหม่.

ไพโรจน์ วิริยาริ. 2545. หลักการวิเคราะห์จุลินทรีย์. คณะอุตสาหกรรมและการเกษตร
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วาริ นิยมธรรม, อินทรา กระหม่อมทอง และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2545. ประสิทธิภาพของการ
 สลายกรดอินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์, น. 63-68. ใน **ประมวล
 รายงานสัมมนาทางวิชาการเรื่องเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาการเกษตรกรรมไทย.
 กภาพสินธุ์.**

วิเชียร นวสกุลจินดา. 2548. อีโคไล ตัวซ้ำเติมเพิ่มความรุนแรงของปัญหา, น. 29-47. ใน **ปริวรรต
 พูลเพิ่ม, ณีรัฐติ รัตนวนิชย์โรจน์, สมเกียรติ พันธุ์ธรรม, อลงกต บุญสูงเนิน, วิเชียร
 นวสกุลจินดา และ ชลลดา อานันท์รัตนกุล, บรรณาธิการ. **ทันโรคทันเหตุการณ์กับ
 การเลี้ยงสุกร ครั้งที่ 4.** บริษัท คาด้า เปเปอร์ แอนด์ พรินท์ จำกัด, กรุงเทพฯ.**

วิบูลย์ศรี พิมลพันธ์. 2541. กายวิภาคศาสตร์ของระบบภูมิคุ้มกัน, น. 12-30. ใน **สุทธิพรรณ
 สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. **อิมมูโนวิทยา.** บริษัท พรินต์โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.**

วิโรจน์ จันทรัตน์. 2537. กายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์ปีก. **ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.**

ศุภลักษณ์ โรมรัตนพันธ์. 2545. **เทคนิคเนื้อเยื่อสัตว์.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
 กรุงเทพฯ.

สาโรช คำเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง.** ภาควิชาสัตวศาสตร์
 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สันนิภา สุรทัตต์. 2545. **Veterinary immunology: an update.** บริษัท โนวาร์ตีส (ประเทศไทย),
 กรุงเทพฯ.

สุกิจ แสงนิพันธ์กุล. 2534. **กระดุกและกระดุกอ่อน.** คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น,
 ขอนแก่น.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ. 2537. **อิมมูโนวิทยา.** พิมพ์ครั้งที่ 4. เค.พี.พรินติ้ง, กรุงเทพฯ.

สุวรรณา พรหมทอง. 2548. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสรีรวิทยา จุลกายวิภาค และ จุลินทรีย์ ในทางเดินอาหารไก่กระตังที่ได้รับอาหารสูตรมันสำปะหลังกับอาหารสูตร ข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โตมทัต วงศ์สว่าง. 2538. วิทยานิพนธ์ร่วมกันทางสัตวแพทย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตว แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

เสรี คอนแก้วบัว. 2539. พยาธิวิทยาทั่วไปทางสัตวแพทย์. ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เสกสม อาตมางกูร. 2547. การใช้สารเสริมเพื่อช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร สัตว์. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเทคนิคการผลิตอาหารสัตว์ชั้นสูง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2537. คู่มือปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดิน อาหาร. กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ.

อุดม กักผล, โสภณ เขิงสำราญ และ อมร เพชรสม. 2547. อินทรีย์เคมี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ มูลธง. 2549. ผลของการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อการหมักย่อยในลำไส้ กอตาไซ โอน และภูมิคุ้มกันในสุกรระยะรุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alles, M. S., J.G. Hautvast, F.M. Nagengast, R. Hartemink, K.M. Van Laere and J.B. Jansen. 1996. Rate of fructo-oligosaccharides in the human intestine. J. Nutr. 76(2): 211-221.

Altan, O., A. Altan, M. Cabuk and H. Bayraktar. 2000. Effect of heat stress on some blood parameter in broiler. Turk Veterinerlik Ve Hayvancilik Dergisi. 24(2): 145-148.

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. 17th ed. Association of official agriculture chemists, Washington, D.C.
- Arnett, T.R., A. Boyde, S.L. Jones and M.L. Taylor. 1994. Effects of medium acidification by alteration of carbon dioxide or bicarbonate concentrations on the resorptive activity of rat osteoclasts. *J. Bone & Min. Res.* 9: 375-379.
- Arnett, T.R. and D.W. Dempster. 1990. Perspectives: protons and osteoclasts. *J. Bone & Min. Res.* 5:1099-1103.
- Atapattu, N.S.B.M. and C.J. Nelligaswatta. 2005. Effect of citric acid on the performance and utilization of phosphorus and crude protein in broiler chickens fed on rice by products based diet. *Invest. J. Poul. Sci.* 4 (12): 990-993.
- Atlas, R.M. and L.C. Park. 1993. *Handbook of Microbiology Media*. Boca Ration: CRC Press, Florida.
- Aviagen. 2002. Ross 308 broiler performance objective. Ross broiler management manual. Available Source: <http://www.aviagen.com/broiler308po/broilerPO308/css/broilerPO308.html>, October 26, 2006.
- Avila, de L.A.F., V.P. Nascimento, C.W. Canal, C.T.P. Salle and H.L.S Morases. 2003. Effect of acidified drinking water on the recovery of *Salmonella enteritidis* from broiler crops. *Braz. J. Poult. Sci.* 5: 183-188.
- Banwart, M.C. 1989. *Basic food microbiology*. 2nd ed. Van Nost and Reinhold, New York.
- Barnes, D. M., Y. K. Kirby and K. G. Oliver. 2001. Effects of biogenic amines on growth and the incidence of proventricular lesions in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80: 906-911.

- Bartholmew, G.A. and J.J. Code. 1963. The water economy of land birds, *Auk*. 80: 504.
- Biagi, G., A. Piva, M. Moschini, E. Vezzali and F. X. Roth. 2006. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora and intestinal wall morphology. *J. Anim. Sci.* 84: 370-378.
- Biagi, G., A. Piva, T.D. Hill, D.K. Schneider and T. Cranshaw. 2003. Bone mineral content gain is reduced in weaned pigs fed diets with low-buffer capacity and organic acids. *J. Anim.Sci.* vol 81, suppl 1/*J. Dairy Sci.* vol. 86, suppl 1. Poster M98.
- Blanchard, P. 2004. Twenty years of acidification. *Pig Progress*. 20 (11): 23-24.
- Blank, R., R. Mosenthin, W.C. Sauer and S. Huang. 1999. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 77: 2974-2984.
- Bolduan, G. 1999. Principle of acidification of piglets feed. *Pig News and Inf.* 9: 381-385.
- Bouhnik, Y., B. Flourie., D' Agay-Abensour Laurence., P. Pochart., G. Gramet and M. Durand. 1997. Administration of Transgalacto-oligosaccharides Increase Fecal Bifidobacteria and Modifies Colonic Fermentation Metabolism in Healthy Humans. *J. Nutr.* 127: 444-448.
- Bradshaw, R.H., R.D. Kirkden and D.M. Broom. 2002. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broiler in relation to welfare. *Avian Poult. Biol. Res.* 13: 45-103.
- Brooks, P.H, S.J. Russel, and J.L. Carpenter. 1986. *Diss and Caythrope Pig Conference.* Meat and Livestock Commission, London.

- Brul S. and P. Coote. 1999. Preservation agents in foods, mode of action and microbial resistance Mechanisms. *Intl. J. Food Microbiology*. 50: 1-17.
- Buguat, M. 1987. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. *Com. Bio. Physio*. 86(B): 439-472.
- Bunshinsky, D.A., N.E. Sessler, R.E. Glens and J.D.B. Featherstone. 1994. Proton-induced Physicochemical calcium release from ceramic apatite disks. *J. of Bone and Mineral Res*. 9: 213-220.
- Bunshinsky, D.A., S. B. Smith, K. L. Gavrillov, L. F. Gavrillov, J. Li and R. Levi-Setti. 2003. Chronic acidosis induced alteration in bone bicarbonate and phosphate. *Amer. J. Physiol. Renal*. 285: 532-539.
- Byrd, J.A., B.M. Hargis, D.J. Caldwell, R.H. Bailey, K.L. Herron, J.L. McReynolds, R.L. Brewer, R.C. Anderson, K.M. Bischoff, T.R. Callaway and L.F. Kubena. 2001. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broiler. *Poult. Sci*. 80: 278-283.
- Campbell, R.G. 1991. Digestive constraints in the young pig : implications on postweaning performance and health, pp. 189-197. *In*: T.P. Lyons, ed. *Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's Seventh Annual Symposium*. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky
- Cave, N.A.G. 1984. Effect of dietary propionic and lactic acid on feed intake by chicks. *Poult. Sci*. 63: 131-134.
- Chaveerach, P., D.A. Keuzenkamp, L.J.A. Lipman and F. Van Knapent. 2004. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poult. Sci*. 83: 330-334.

- Chapman, J.D. 1988. Probiotics, acidifier and yeast culture: a place for natural additives in pig and poultry production, pp. 219-233. *In* T.P.Lyon (ed.) *Biotechnology in the Feed Industry*. McGraw HillBook Comp, Inc., New York.
- Cranwell, P.D. and D. A. Titchen. 1974. Gastric secretion in newly born pigs. *Res. Vet. Sci.* 16: 105-107.
- Cranwell, P.D. 1995. Development of the neonatal gut and enzyme systems, pp. 99-154. *In* Varley, M.A. ed. *The Neonatal Pig*. C. A. B. International, Washington, D. C.
- Cravener, T.L., W.B. Roush, and M.M. Mashaly. 1992. Broiler production under varying population densities. *Poult. Sci.* 71: 427-433.
- Crenshaw, T.D., E.R. Peo, Jr., A.J. Lewis, B.D. Moser and D.G. Olson. 1981. Influence of age, sex and calcium and phosphorus levels on the mechanical properties of various bones in swine. *J. Anim. Sci.* 52: 1319-1330.
- Daghir, N.J. 1995. *Poultry Production in Hot Climates*. The University Press, Cambridge.
- Denbow, D.M. 2000. Gastrointestinal anatomy and physiology. pp.299-325. *In* Sturkie's *Avian Physiology* 5th ed. Springer-Verlag, New York.
- Denli, M., F. Okan and K. Celik. 2003. Effect of Dietary Probiotic, Organic Acid and Antibiotic Supplementation to Diets on Broiler Performance and Carcass Yield *Pak. J. Nutr.* 2: 89-91.
- De Man, J.C., M. Rogosa and M.E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-155.
- Dhawale, A. 2005. Better eggshell quality with gut acidifier. *Poult. Int.* 44(4): 18-21.

- Dibner, J. J and P. Buttin. 2002. Use of Organic as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. *J. Appl. Poult. Res.* 11: 453-463.
- Dobergoz, W. J., B. L. Black, and L. A. Casas. 1991. Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. *Journal of Poultry Science* 70(Suppl.1): 158.
- Duke, G.E. 1986. Alimentary canal: Secretion and digestion, special digestive functions and absorption. pp. 269-288. *In Avian Physiology* (P.D. Sturkie, ed.) 4th ed. Springer Verlag, New York.
- Dunhan, H.J., C. Williams, F.W. Edens, I.A. Casas and W.J. Dobrogosz. 1993. *Lactobacillus reuteri* immune modulation of stress-associated diseases in newly hatched chickens and turkeys. *Poult. Sci.* 72 (Suppl. 2): 103.
- Eliet, G. and E.P. Shrents. 1992. Intestinal fuels : glutamine, short-chain fatty acids and dietary fiber. *J. Amer. Dietetic Association.* 92 (10): 1239-1246.
- Elwyn, R.M., E.U. Duane and J.L. Austin. 1991. *Swine Nutrition*. Butterworth-Heinemann, United States.
- Etheridge, R.D., R.W. Seerley and T.L. Huber. 1984. The effects of diet on faecal moisture, osmolarity of faecal extracts, products of bacterial fermentation and loss of minerals in feces of weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 58: 1403-1411.
- Farrell, C. 2004. Controlling *E. coli* in the weaned pig, pp. 137-140. *In* J.M. Murphy, T.M. Kane, C.F.M. de Lange, eds. London Swine Conference. London, Ontario.
- Farquharson, C. 2003. Bone growth. pp. 170-185. *In* C. G. Scanes, ed. *Biology of Growth of Domestic Animals*. Iowa State Press - Blackwell Publishing Co., Ames, Iowa.

- Foegeding, P. M. and F. F. Busta. 1991. Chemical food preservation. Disinfection, sterilization & preservation. (S. S. Blockeditor). Lea Febiger, Philadelphia PA.
- Fox, S.M. 1988. Probiotics: Intestinal inoculants for production animals. *Vet. Med.* (August): 806-830.
- Frankel, W.L., W. Zhang, A. Singh, D.M. Klurfeld, S. Don, T. Sakata, I. Modlin, and J.L. Rombeau. 1994. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. *Gastro.* 106: 375-380.
- Franklin, M.A., A.G. Mathe, J.R. Vickers and R.A. Clift. 2002. Characterization of microbial population and volatile fatty acid concentrations in jejunum ileum, and caecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *J. Anim. Sci.* 80: 2904-2910.
- Furest, W. F. and M. R. Kare. 1962. The influence of pH on fluid tolerance and perforneec. *Poult. Sci.* 41: 71-77.
- Galfi, P. and J. Bokori. 1990. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. *Acta Vet. Hungarica.* 38: 3-17.
- Ganchrow, D. and J.R. Ganchrow. 1985. Number and distribution of taste buds in the oral cavity of hatchling chicks. *Physiol. Behav.* 34: 889-94.
- Gauthier, R. 2005. Organic acid and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoter in poultry. Forum International The Agriculture 17-19 August 2005. Foz do Iguacu PR, Brazil.
- Geyra, A, Z. Uni and D. Sklan. 2001. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *J. Poult. Sci.* 80: 776-782.

- Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation on the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* (125): 1404-1412.
- Gibson, G.R. and M.D. Collins. 1999. Concept of balance colonic microbiota, prebiotics and synbiotics, pp. 139-153. *In* L.A. Hanson and H. Robert (eds.). Probiotic other nutrition factor and intestinal microflora. Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia.
- Giesen, A. 2005. The value of organic acids in drinking water. *World poultry.* 21(12): 15-17.
- Gross, W.B. and H.S. Seigel. 1986. Effects of initial and second period of fasting on heterophil/lymphocyte ratio and body weight. *Avian Diseases* 30: 345-346.
- Grassmann, E. and T. Klasna. 1986. Comparative studies on the effect of supplements of fumaric and citric acid on body composition and enzyme activities of rats, differently supplied with protein. *Landwirtschaftliche Forschung.* 39: 307-319.
- Hai Meng, T. 2006. Acidifiers: synergy of acids make for better efficacy. *Asian poult. mag.* 7(7): 30-33.
- Hardy, B. 1999. A world without growth promoters. pp. 177. *In* Lyons, T.P. and D.J.A. Cole. eds. Concepts in pig science. Nottingham University Press. Nottingham, U.K.
- Hernandez, F., V. Garcia, J. Madrid, J. Orengo, P. Catala and M.D. Megias. 2006. Effect of formic acid on performance, digestibility, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chicken. *Br. Poult. Sci.* 47: 50-67.
- Hintz, H.F., H.F. Schryver and C.E. Stevens. 1978. Digestion and absorption in the hindgut of nonruminant herbivores. *J. Anim. Sci.* 46: 1803-1807.

- Ivan, E. I. 2003. Microbiology epidemiology and parasitology. Poult. Invest. 42: 33-37.
- Izat, A.L., N.M. Tidwell, R.A. Thomas, M.A. Reiber, M.H. Adams, M. Colberg, and P.W. Waldroup. 1990. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on the microflora of the intestine and carcass. Poult. Sci. 96: 818-826.
- Jacobasch, G., D. Schnried, M. Kruschewski and K. Schmehl. 1999. Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. Journal of Coloretal Disease 14 (4-5): 201-211.
- Jain, N.C. 1993. Essentials of Veterinary Hematology. Lea&Febiger, Philadelphia.
- Jensen, B.B. and H. Jørgensen. 1994. Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs. Appl. Env. Microb. 60: 1897-1904.
- Johnson, N. E., B.F. Harland, E. Ross, L. Gautz and M.A. Dunn. 1992. Effects of dietary Aluminum and niacin on chick tibia. Poult. Sci. 71: 1188-1195.
- John, M.B., D.S. Lus, D. Gerald, E. Brad, H. Howard and H.L. William. 1989. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium*. Available Source: <http://www.arthritist.org/topics/friend.html>, September 18, 2008.
- Kare, M. R. and J. G. Rogers. 1976. The special senses. *In*: P. D. Sturkie, ed. Avian Physiology. 3rd ed. Springer-Varlag, New York.
- Kelly, D., J.A. Smyth and K.J. McCracken. 1991. Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of feed intake on digestive enzyme activity during the immediate post-weaning period. Br. J. Nutr. 65: 181-188.

- Kestin, S.C., T.G. Knowles, A.E. Tinch, N.G. Gregory. 1992. Prevalence of leg weakness in broiler chickens and its relationship with genotype. *Vet. Rec.* 131: 190-194.
- Khajavi, M., S. Rahimi, Z.M. Hassan, M.A. Kamali, and T. Mousavi. 2003. Effect of feed restriction early in life on humoral and cellular immunity of two commercial broiler strains under heat stress conditions. *Br. Poult. Sci.* 44(3): 490-7.
- Kirchgessner, M. and F. X. Roth. 1988. Ergotrope Effekte durch organische säuren in der Ferkelaufzucht und Schweinmast. *Übers. Tierernaehr.* 16: 93-108.
- Kirkpatrick, K. and E. Fleming. 2008. Water quality. ROSS Tech 08/47. Avigen, Scotland, UK.
- Knowles, T.G., S.C. Kestin, S.M. Haslam, S.N. Brown, L.E. Green, A. Butterworth, S.J. Pope, D. Pfeiffer, C.J. Nicol. 2008. Leg disorders in broiler chickens: prevalence risk factors and prevention. *Plos One.* 2:1-5.
- Krause, D.O., P.C. Harrison and R.A. Easter. 1994. Characterization of the nutritional interactions between organic acids and inorganic bases in the pig and chick. *J. Anim. Sci.* 72: 1257-1262.
- Krieger, N. S., N. E. Sessler and D. A. Bushinsky. 1992. Acidosis inhibits osteoblastic and stimulates osteoclastic activity in vitro. *Am. J. Physiol.* 262: F442-F448.
- Kyriakis, S.C. 1983. Post weaning diarrhea syndrome (PNDS) of piglets: A new therapeutic approach with the supporting therapy (STH). *Pig News and Inf.* 4: 23-27.
- Leeson, S., H. Namkung, M. Antongiovanni and H. Lee. 2005. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poult. Sci.* 84: 1418-1422.
- Leeson, S. and J.D. Summer. 2001. Nutrition, Disease and Stress. *In* S. Leeson and J.D. Summers, eds. *Nutr. Chocken*, 4th ed. Guelph, Ontario, Canada.

- Lueck, E. 1980. *Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects*. Springer-verlag, Germany.
- Manoli, L.P., G.D. Gamaro, P.P. Silveira and C. Dalmaz. 2000. Effect of chronic variate species and on total radical-trapping potential in distinct regions of rat brain. *Neurochem Res.* 25(7): 915-921.
- Mathew, A.G., A.L. Sutton, A.B. Scheidt, D.M. Forsyth, J.A. Patterson and D.T. Kelly. 1991. Effects of a propionic acid containing feed additive on performance and intestinal microbial fermentation of the weanling pig, pp. 464-469. *In Proc. 5th Int. Symp. Digest. Physiol. in The Pig*. EAAP Publication No 54. Wageningen (Doorwerth), The Netherlands.
- Maxwell, M.H. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poult. Sci. J.* 49:34-43.
- Moharrery, A. 2005. Effect of malic acid on growth performance, carcass characteristic and feed efficiency in the broiler chickens. *Poult. Sci.* 10: 781-786.
- Moharrery, A. and M. Mahzonieh. 2005. Effect of malic acid on visceral characteristics and coliform counts in small Intestine in the broiler and layer chickens. *Inter. J. Poult. Sci.* 4: 761-764.
- Mroz, Z. 2005. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. *Adv. Pork. Prod.* 16: 169-182.
- Mujdat A., N. Kokabagli and R. Kahrman. 1998. Effect of dietary suplymentation organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. *J. Vet. Anim. Sci.* (23): 451-455.

- Murakami A.E., M.I. Sakamoto, M.R.M. Natali, L.M.G. Souza and J.R.G. Franco. 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry Sci.* 86: 488-495.
- Nahanshon, S. N., H. S. Nakaue and L. W. Mirosh. 1994. Performance of Single Comb White Leghorn laying pullets fed diets supplemented with direct-fed microbials. *Poultry Sci.* 73: 1699-1711.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa.
- New, S. A. 2002. The role of the skeleton in acid-base homeostasis. *Proc. Nutr. Soc.* 61: 151-164.
- Nunez, M. C., J.D. Bueno, M.V. Ayudarte, A. Almendros, A. Rios, M.D. Suarez and A.Gil. 1996. Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursery piglets. *J. Nutr.* 126: 933-944.
- Okolelova, T.M. and L.I. Krivoruchko. 1991. Physiological and biochemical indicators and productivity of hens on a diet supplemented with fumaric acid. *Doklady 87 Vsesoyuznoi Ordena Lenina i Ordena Trudovogo Krasnogo Znameni Akademii Sel'skokhozya _stvennykh Nauk im. V. I. Lenina.* 9: 52-55.
- Oppenheim, J.J. and E.M. Shevach. 1990. *Immunophysiology: the role of cells and cytokines in immunity and inflammation.* Oxford University Press, New York, NY.
- Øverland, M., N.P. Kjos, M. Borg, E. Skjerve and H. Sørum. 2008. Organic acids in diets for entire male pigs: Effect on skatole level, microbiota in digesta, and growth performance. *Livest. Sci.* 115: 169-178.

- Oviedo-Rondón, E.O., P.R. Ferket and G.B. Havenstein. 2006a. Nutrition factors that affect leg problems in broiler and turkeys. *Avian and Poult. Biol. Rev.* 17(3): 89-103.
- Oviedo-Rondón, E.O., P.R. Ferket and G.B. Havenstein. 2006b. Understanding long bone development in broiler and turkeys. *Avian and Poult. Biol. Rev.* 17(3): 77-88.
- Partanen, K.H. and Z. Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diet. *J. Nutr.* 12: 1-30.
- Pearson, A. D., M. Greenwood, T.D. Healing, D. Rollins, M. Shahamat, J. Donaldson and R. R Colwell. 1993. Colonization of broiler chickens by water borne *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 987-996.
- Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boiago, S.R. Carvalho and V.F. Bordon. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chicken fed natural growth promoters. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola.* 7(4): 221-229.
- Philipsen, P.L. J. 2005. Acidifying the drinking water. *Invest. Pig Topics.* 21(1): 23-25.
- Pluske, J.R. I.H. Williams and F.X. Aheme. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Live. Prod. Sci.* 51: 215-236.
- Poosuwan, K., C. Bunchasak, K. Markvichitr, J. Thiengtham and T. Poeikhampha. 2007. Effects of adding methionine hydroxy analog free acid to drinking water on growth performance and gastrointestinal ecology. *In The Proceeding of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology.* King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok.
- Rabassa, A.A. and A.I. Rogers. 1992. The role of short-chain fatty acid metabolism in colonic disorders. *Journal Gastroenterol* 87 (4): 419-423.

- Radcliffe, J.S., Z. Zhang and E.T. Kornegay. 1998. The effects of microbial phytase, citric acid and their interactions in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 1880-1886.
- Rath, N.C., W.E. Huff and G.R. Huff. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. *Poult. Sci.* 85: 410-414.
- Ravindran, V. and E.T. Kornegay. 1993. Acidification of weaner pig diets: a review. *J. Sci. Food Agric.* 62: 313-322.
- Risley, C.R., E.T. Kornegay, M.D. Lindemann, C.M. Wood and W.N. Eigel. 1992. Effects of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. *J. Anim. Sci.* 70: 196-206.
- Ritchie, B.W., J.G. Harrison and R.L. Harrison. 1994. *Avian Medicine Principle and Application*. Winger's Publishing, Inc., Florida.
- Roth, F.X. and M. Kirchgessner. 1989. Bedeutung von pH-Wert und Pufferkapazität des Futters für die Ferkelfütterung. 1. Mitteilung: pH-Wert und Pufferkapazität von Futtermischungen bei Einsatz von organischen Säuren. *Landwirtsch. Forsch.* 42: 157-167.
- Saito, I. 1966. Comparative anatomical studies of the oral organs of poultry. V. Structures and distribution of test buds of the flow. *Bull. Fac. Agric. Miyazaki Univ.* 13: 95-102.
- Sakata, T., M. Adachi, M. Hashida, N. Sato and T. Kojima. 1995. Effect of n-butyric acid on epithelial cell proliferation of pig colonic mucosa in short-term culture. *Dtsch. Tierarzt. Wschr.* 102: 163-164.
- Sen, S. and S.L. Chakrabarty. 1984. Amylase from *Lactobacillus cellobiosus* isolated from vegetable wastes. *J. Ferment. Tech.* 62: 407-413.

- Siegel, H.S. 1995. Stress strains and resistance. *Br. Poult. Sci.* 36: 3-22.
- Simon, O. 2005. Micro-organisms as feed additives-probiotics. *Adv. Pork Prod.* 16: 161-167.
- Smith, E. L., R.L. Hill, I.R. Lechman, R.J. Lefkowitz, P. Handler and A. White. 1983. *Principle of Biochemistry Mamalian Biochemistry*. McGraw-Hill, Inc, USA.
- Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. V. 2. Williams and Wilkins, Baltimor.
- Stark, B.A. and J.M. Wilkinson. 1989. *Probiotics: Theory and Application*. Chalco Publication, Marlow, UK.
- Steel, R.G.D. and T.H. Torries. 1980. *Principle and Procedure of Statistic*. McGraw Hill Book Company, NY, USA.
- Stringer, D.A. 1985. Acceptance of single-cell protein for animal feeds, pp. 685-694. *In* C.W. Robinson and J. A. Howell, eds. *Comprehensive Biotechnology*. Vol 4. Pergamon Press, New York.
- Sudo, S.Z. and G.E. Duke. 1980. Kinetics of absorption of volatile fatty acids from the ceca of domestic turkeys. *Comp. Biochem. Physiol.* 67: 231-237.
- Tan, B.J., S. Ohtani and K.I. Tanaka. 1999. Effect of early feed restriction of varied severity on growth performance carcass composition and lipid metabolism. *J. Anim. Sci.* 70: 297-305.
- Tan, H. M. 2006. Acidifiers: synergy of acids make for better efficacy. *Asi. Poul. Mag.* 7(7): 30-33.

- Thacker, P.A. 2001. Water in swine nutrition, pp.381-398. *In* A. J. Lewis and L. L. Southern, ed. Swine Nutrition. 2nd ed. CRC Press, New York, United State.
- Thompson, J.L. and M. Hinton. 1997. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on *salmonellas* in the crops. *British Poult. Sci.* 38: 59-65.
- Tizard, I. R. 2000. *Veterinary Immunology: An Introduction*. 7th Ed. Saunders, An Inprint of Elsevier.
- Uni, Z., S. Ganot and D. Sklan. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *J. Poult. Sci.* 77: 75-82.
- Uni, Z., Y. Noy and D. Sklan. 1995. Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light strain chicks. *J. Poult. Sci.* 74: 1622-1629.
- Van Beers-Schreurs, M.J.A. Nabuurs, L. Vellenga, H.J. Breukink. 1995. The effect of weaning and diets on villous height and crypt depth in the small intestines of piglets, p. 103. *In* Proceedings of the IXth International Conference on Production Diseases in Farm Animals. Berlin, Germany.
- Van de Eijk, C. 2002. Acidifiers and AGP's compared. *Feed Mix.* 10(6): 34-36.
- Varel, V.H. and W.G. Pond. 1985. Enumeration and activity of cellulolytic bacteria from gestating swine fed various levels of dietary fiber. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 858.
- Velazquez, O.C., H.M., Lederer and J.L. Rombeau. 1996. Butyrate and the colonocyte, implications for neoplasia. *Digestive Diseases and Science* 41(4): 727-739.

- Veselá, M., M. Drdák and S. Standará. 2003. Relation between free amino acids and the biogenic amines contents in green tomatoes inoculated with *Lactobacillus plantarum*. Czech J. Food Sci. 21: 51-58.
- Walsh, M.C., B.T. Richert, A.L. Sutton, J.S. Radcliffe and R. Odgaard. 2004. Past, present, and future uses of organic and inorganic acids in nursery pig diets, pp. 155-158. *In* Proc. Am. Assoc. Swine Vet., Des Moines, IA.
- Werner, R. 1992. Essential Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Science Publ. Co., Berlin.
- Xia, M.S., C.H. Hu, and Z.R. Xu. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 83: 1868-1875.
- Yokogoshi, H., T. Iwatas, K. Ishida and A. Yoshida. 1987. Effect of amino acid supplementation to low protein diet on brain and plasma levels of tryptophan and brain 5-hydroxyindoles in rats. *J. Nutr.* 117: 42-47.



สภาพแวดล้อมในโรงเรียน

ตารางผนวกที่ 1 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุดในโรงเรียนระบบปิดที่ควบคุม
สภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในช่วงอายุ 1-42
วัน

อายุ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	
1	28	31	73
2	28	31	73
3	28	32	79
4	28	32	86
5	28	31	78
6	28	33	73
7	26	32	79
8	27	31	79
9	28	31	79
10	28	31	79
11	27	31	79
12	27	31	86
13	27	31	78
14	25	29	85
15	25	29	67
16	25	33	66
17	25	31	85
18	25	28	78
19	25	29	84
20	25	28	92

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

อายุ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	
21	26	29	85
22	26	28	85
23	26	27	92
24	25	28	85
25	25	28	85
26	25	29	92
27	24	26	84
28	25	29	92
29	25	29	92
30	26	29	92
31	22	26	92
32	24	26	84
33	23	27	84
34	24	27	84
35	24	27	84
36	24	25	84
37	26	28	85
38	24	27	92
39	26	26	92
40	25	30	92
41	26	27	92
42	24	27	92
ค่าเฉลี่ย	25.67	29.05	83.79

การคำนวณ

1. น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (Weight gain: WG)

คือ ความแตกต่างของน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มทดลอง ถึงน้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง

$$\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น} = \text{น้ำหนักสิ้นสุด} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}$$

2. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Rate: FCR)

คือ ปริมาณอาหารทั้งหมดที่สัตว์กินเข้าไป ทำให้น้ำหนักตัวสัตว์เพิ่มขึ้น 1 หน่วย

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม}}$$

3. อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain: ADG)

คือ ความแตกต่างของน้ำหนักเริ่มต้น และสิ้นสุดต่อระยะเวลาในการเลี้ยง

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักสิ้นสุด} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง}}$$

การวัดความแข็งแรงของกระดูก (Bone breaking strength)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องมือวัดความแข็งแรงของกระดูก ได้แก่ เครื่อง Autograph (universal testing machine) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น AG 10 KNIS

2. แท่นทดสอบแรงดัดทำลาย ซึ่งเป็นชุดเครื่องมือสำหรับใช้วัดแรงดัด (3 point bending) ที่สามารถปรับระยะห่างระหว่างจุดรองรับกระดูกความเร็วหัวกด และขนาดหัวกดได้

ระยะระหว่างจุดรองรับกระดูก (span length) 45.50 มิลลิเมตร

อัตราเร็วของหัวกด (test speed) 50 มิลลิเมตรต่อนาที

เส้นผ่านศูนย์กลางหัวกด 6.35 มิลลิเมตร

ความยาวของหัวกด 50.32 มิลลิเมตร

น้ำหนักของ Load cell 50 kN/500 kgf

3. รายงานผลออกทางหน้าจอแสดงผล (monitor) เป็นตัวเลข การตั้งค่าเครื่องมือตามวิธีของ Crenshaw *et al.* (1981) และ Johnson *et al.* (1992)

ขั้นตอนการวัดความแข็งแรงของกระดูก

1. นำกระดูก tibia ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระดูกมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 12 ชั่วโมง)

2. นำกระดูกมาวางบนคาน โดยจะวางด้านที่เว้าลงด้านล่างหันเข้าหาพื้นเสมอ

3. เดินเครื่องตามสภาวะเครื่องที่ได้ตั้งไว้

4. อ่านค่าแรงสูงสุดที่ได้ ซึ่งค่าที่ได้นี้เป็นค่ามวลปรากฏ (apparent mass; Mapp.) นำมาเข้าสมการ เพื่อให้ได้ค่าแรงที่แท้จริง จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาค่าความแข็งแรงของกระดูกต่อไป

การสอบเทียบมวลมาตรฐาน (Standard mass, Mstd.)

เพื่อให้ทราบค่าแรงกดที่แท้จริงเนื่องจากค่าที่ปรากฏจะไม่ตรงกับค่าแรงที่แท้จริง ดังนั้นจึงต้องมีการสอบเทียบโดยใช้มวลมาตรฐานที่น้ำหนัก 10-60 กิโลกรัม วิธีการคือ

1. ติดตั้งเครื่องมือให้พร้อมสำหรับการสอบเทียบมวลมาตรฐาน

1.1 วางมวลมาตรฐานบนเครื่องมือและอ่านค่าแรงที่เกิดขึ้นและค่อยๆ เพิ่มมวลมาตรฐานเรื่อยๆ (increase) ทำจนครบน้ำหนักที่ต้องการ

1.2 ลดน้ำหนักมวลมาตรฐานลง (decrease) อ่านค่าแรงที่ได้อีกครั้ง

2. นำค่าที่ได้ในข้อ 1.1 และ 1.2 มาเฉลี่ย ดังแสดงในตารางผนวกที่ 2

3. จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่ได้จากข้อ 2 ไปสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของมวลมาตรฐานกับค่ามวลปรากฏ โดยใช้สมการแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$Y = 0.0183 + 1.0074X$$

โดย Y = มวลมาตรฐาน (Mstd; kg)

X = มวลปรากฏ (Mapp; kg)

ตารางผนวกที่ 2 การสอบเทียบน้ำหนักจากมวลมาตรฐานของกราฟที่มีช่วงระยะห่าง 10 (range 10)

ลำดับ	มวลมาตรฐาน (กิโลกรัม)	ค่าปรากฏ (kgf)		ค่าเฉลี่ยมวลปรากฏ
		Increasing	Decreasing	
1	10	9.95	9.95	9.95
2	20	19.90	19.90	19.90
3	30	29.70	29.81	29.79
4	40	39.76	39.71	39.73
5	50	49.62	49.66	49.64
6	60	59.57	59.57	59.57

การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์ลำไส้

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์ลำไส้ปฏิบัติตามวิธีของ ศุภลักษณ์ (2545) ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่าง (Specimen collection)

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ประกอบด้วย

1.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างที่บรรจุ Fixative

1.1.2 บีเกอร์ใส่ Normal saline

1.1.3 ถาดเทียบ

1.1.4 มีดผ่าตัด

1.1.5 คีมคีบ (forcep)

1.1.6 กระจก และคินสอ

1.2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

1.2.1 ตัดลำไส้เล็กแยกออกเป็นส่วนต้น และส่วนกลาง ล้างเลือดและสิ่งติดมา กับเนื้อเยื่อด้วย Phosphate buffer solution (สุวรรณา, 2548) ประกอบด้วย

NaCl	8	กรัม
NaH ₂ PO ₄	1.38	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 7.4 โดยใช้ NaOH		

1.2.2 ใช้คีมคีบ คีบเนื้อเยื่อใส่ขวดที่บรรจุ Fixation

1.2.3 ใช้คินสอเขียนระบุว่าเป็นเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนใด วัน เดือน ปีที่เก็บ

1.2.4 ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อให้เนื้อเยื่อแข็งพอที่จะตัดเป็นชิ้นเล็กได้

1.2.5 ตัดแต่ง (trim) เนื้อเยื่อให้มีขนาดพื้นที่หน้าตัด 1-2 ตารางเซนติเมตร ความหนาไม่เกิน 5 มิลลิเมตร

1.2.6 แช่ใน Fixative ที่เปลี่ยนใหม่ขนาด 10-20 เท่าของเนื้อเยื่อ

2. การคงสภาพเนื้อเยื่อ (Fixation)

Fixation เป็นกระบวนการเก็บรักษา ป้องกันเนื้อเยื่อให้มีสภาพใกล้เคียงกับเมื่อมีชีวิตมากที่สุดทั้งขนาด รูปร่าง ลักษณะและองค์ประกอบทางเคมี โดย Fixation ที่นิยมใช้ทั่วไปตามห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้แก่ Phosphate buffer formalin 10% (Biagi, 2006) ซึ่งมีส่วนประกอบ ดังนี้

Formalin 40%	100.000	มิลลิลิตร
Monobasic Sodium Phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	18.160	กรัม
Sodium Hydroxide (NaOH)	4.125	กรัม
น้ำกลั่นเติมจนได้ปริมาตร	1000.000	มิลลิลิตร

ระยะเวลาในการคงสภาพประมาณ 8-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับประเภทของเนื้อเยื่อ

3. การล้าง (Washing)

ชิ้นเนื้อที่คงสภาพด้วย **Neutral buffer formalin solution** ให้ล้างด้วยน้ำประปาโดยนำชิ้นเนื้อที่คงสภาพแล้วมาวางในบล็อกที่ปิดฝา ใส่ภาชนะไปรองไว้ใต้ก้นน้ำ เปิดน้ำไหลผ่านตลอดเวลาประมาณ 30 นาที-1 ชั่วโมง ถ้าชิ้นเนื้อคงสภาพไว้เกิด 24 ชิ้น ทุกๆ 12 ชั่วโมงให้ล้างน้ำนานประมาณ 10 นาที

4. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue processing)

นำกลับชิ้นเนื้อ (tissue cassette) ที่ผ่านการล้างแล้วใส่ในตะกร้าแล้วนำตะกร้าไปแขวนกับตะขอของเครื่อง **Automatic tissue processor** ซึ่งมีภาชนะบรรจุสารเคมี 12 โถและใช้เวลาในแต่ละขั้นตอน แสดงดังตารางผนวกที่ 3

ตารางผนวกที่ 3 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ำยาเคมีและระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Tissue processing)

ขั้นตอน	สารเคมี	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
1	70% Alcohol	5.0
2	70% Alcohol	2.0
3	80% Alcohol	1.0
4	80% Alcohol	1.0
5	95% Alcohol	1.0
6	95% Alcohol	1.0

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ขั้นตอน	สารเคมี	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
7	Abs. Alcohol	1.0
8	Abs. Alcohol	1.0
9	Xylene	1.0
10	Xylene	1.0
11	Liquid paraffin	1.5
12	Liquid paraffin	1.5

5. การฝังชิ้นเนื้อในพาราฟิน (Embedding)

หลังจากครบเวลาในขั้นตอนที่ 12 ของการเตรียมชิ้นเนื้อ นำตะกร้า **Block** ชิ้นเนื้อออกจากเครื่อง **Automatic Tissue Processor** แล้วนำมาใส่ใน **Tissue storage tank** ของเครื่อง **Tissue embedder** ที่เปิดทิ้งไว้ให้ **Paraffin** ละลายไม่ต่ำกว่า 4 ชั่วโมง สำหรับขั้นตอนในการทำ **Block** ชิ้นเนื้อ มีดังนี้

5.1 นำถาดใส่ชิ้นเนื้อ (**Tissue cassette**) ออกจาก **Tissue storage tank** เปิดออกดูขนาด และจำนวนของชิ้นเนื้อเพื่อเลือก **Mold**

5.2 เลือก **Mold** ที่อุ่นไว้ใน **Base mold storage oven** ตามขนาดของชิ้นเนื้อ

5.3 หยอด **Liquid paraffin** ลงใน **Mold** พอประมาณให้ท่วมชิ้นเนื้อ

5.4 ใช้คีบคีบที่อุ่นไว้ คีบชิ้นเนื้อ โดยพิจารณาว่าจะวางอย่างไร แล้วรีบวางชิ้นเนื้อฝังลงไป ใน **Liquid paraffin** ควรทำอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 นาที

5.5 วาง **Cassette** ลงบน **Mold**

5.6 หยด **Liquid paraffin** เติมลงไปให้เต็ม **Mold**

5.7 วางทิ้งไว้ให้เย็นบน **Cool plate** แล้วแกะ **Block** ขึ้นเนื้อออกจาก **Mold**

4. การตัดชิ้นเนื้อให้เป็นแผ่นบาง (Sectioning)

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตัด **Paraffin section** ประกอบด้วย **Rotary microtome, Microtome knife, Tissue floating bath, Hot air oven, Fine pointed forcep, Soft hair brush, Slide, Carbon pencil, Slide rack, Section adhesive** และน้ำแข็ง

4.2 การเตรียมเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Setting up the microtome)

4.2.1 ทดสอบการทำงานของเครื่องโดยลองหมุน **Hand wheel** และ **Coarse feed** ว่าใช้งานได้ดี

4.2.2 เลื่อน **Block Holder** กลับสู่เครื่องจนสุด

4.2.3 ใส่ **Knife holder** เลื่อนเข้าไปใกล้ **Block holder** เว้นระยะห่างประมาณ $\frac{1}{2}$ นิ้ว แล้วล็อก **Knife holder** กับฐานตัวเครื่องให้แน่น

4.2.4 ใส่ **Microtome knife** เข้ากับ **Knife holder** แล้วขันสกรูล็อกใบมีดให้แน่น

4.3 วิธีการ **Trim** และ **Section**

4.3.1 ปรับ **Microtome scale** ให้มีความหนาประมาณ 10-15 ไมโครเมตร แล้วหมุน **Hand wheel** จนกว่าชิ้นเนื้อจะเต็มหน้าตัด

4.3.2 ปรับ **Micron scale** ให้เหลือ 3-5 ไมโครเมตร

4.3.3 ใช้ก้อนน้ำแข็งถูบริเวณชิ้นเนื้อเพื่อช่วยให้ตัดง่ายขึ้น

4.3.4 เริ่มตัด section โดยหมุน Hand wheel จนได้ Paraffin section เป็น Ribbon

4.3.5 ใช้คีบจับแถบของ Paraffin section ไปลอยบน Tissue floating bath อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส ที่เติม Adhesive แล้ว (อาจใช้ 50% Alcohol ช่วยให้ section แผล่ยึดออก)

4.3.6 ใช้คีบแยกเอา section ออกจากกัน

4.3.7 นำสไลด์มาซ้อน section ที่ได้

4.3.8 เขียนประเภทและหมายเลขชิ้นเนื้อที่สไลด์ แล้วตากให้แห้งสนิท

4.3.9 นำสไลด์ที่ได้เข้าอบใน hot air oven เพื่อยึด section ให้ติดกับสไลด์ยิ่งขึ้น อย่างน้อย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 58-61 องศาเซลเซียส

4.3.10 เมื่อครบเวลา นำสไลด์ออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นเพื่อรอข้อมสีต่อไป

4. การข้อมสี (Staining)

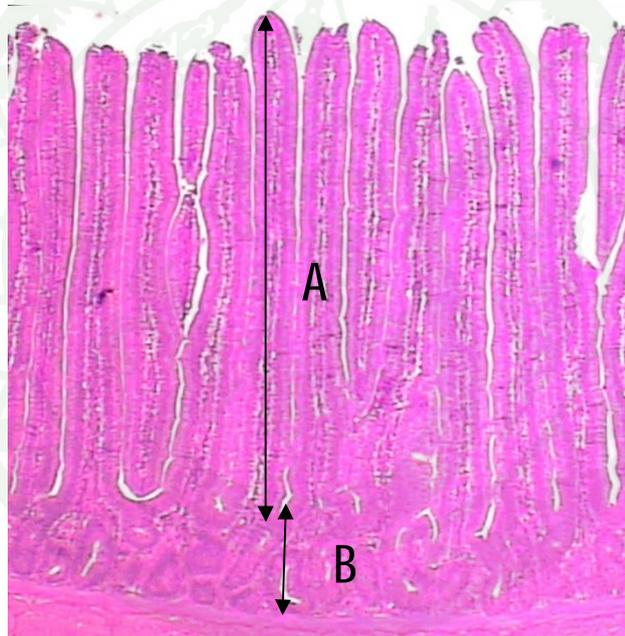
การข้อมสีสไลด์ด้วยวิธีธรรมดาที่นิยมใช้กันมากและเป็นวิธีมาตรฐานคือ Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining อุปกรณ์ที่ใช้ในการข้อมสี (Staining equipment) ประกอบด้วย Stainijg dish with cover, Staining rack with holder, Slide forcep, Slide tray และ Glass bottle โดยมีขบวนการในการข้อมสีชิ้นเนื้อ ดังนี้ Deparaffinization, Hydration, Dehydration, Clearing และ Mounting (ขั้นตอนในการข้อมสี แสดงดังตารางผนวกที่ 4)

ตารางผนวกที่ 4 ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining

ขั้นตอน	วิธีทำ	ระยะเวลา
1	แช่สไลด์ใน Xylene	5 นาที
2	แช่สไลด์ใน Xylene	5 นาที
3	จุ่มและแช่สไลด์ใน Abs.alcohol	2 นาที
4	จุ่มและแช่สไลด์ใน Abs.alcohol	2 นาที
5	จุ่มและแช่สไลด์ใน 95% alcohol	2 นาที
6	จุ่มและแช่สไลด์ใน 95% alcohol	2 นาที
7	ล้างด้วยน้ำประปา	-
8	ย้อมสไลด์ในสี Haematoxylin (สีใหม่)	2-3 นาที
9	แช่ในน้ำประปาไหล	3-5 นาที
10	จุ่มสไลด์ใน Blueing solution	10-20 ครั้ง
11	แช่ในน้ำประปาไหลนาน	1 นาที
12	จุ่มสไลด์ใน 95% alcohol	10-20 ครั้ง
13	ย้อมสไลด์ในสี Eosin (สีใหม่)	10-30 วินาที
14	จุ่มและแช่สไลด์ใน 95% alcohol	15 วินาที
15	จุ่มและแช่สไลด์ใน 95% alcohol	15 วินาที
16	จุ่มและแช่สไลด์ใน Abs.alcohol	2 นาที
17	จุ่มและแช่สไลด์ใน Abs.alcohol	2 นาที
18	จุ่มและแช่สไลด์ใน Xylene	2 นาที
19	จุ่มและแช่สไลด์ใน Xylene	2 นาที
20	จุ่มและแช่สไลด์ใน Xylene	2 นาที
21	Mount	-

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กจากการสุ่มวัด 10 บริเวณในแต่ละตำแหน่งของสไลด์ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1995) โดยวัดความสูงวิลลัส (Villous height) จากบริเวณที่สูงสุดของวิลลัสถึงบริเวณฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปต์ (Crypt depth junction) และความลึกของคริปต์ (Crypt depth) วัดจากฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปต์ถึงบริเวณต่ำสุดของคริปต์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด จากนั้นคำนวณหาสัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปต์ รายละเอียดการวัด แสดงดังภาพผนวกที่ 2



ภาพผนวกที่ 1 แสดงความสูงวิลลัส (Villous height, A) และความลึกคริปต์ (Crypt depth, B) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กของไก่กระทาง

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ *E. coli* (Mac Conkey Agar) ตามวิธีของ Franklin *et al.* (2002)

Peptone	17.000	กรัม
Polypeptone	3.000	กรัม
Lactose	10.000	กรัม
Bile salts mixture	1.500	กรัม
Sodium chloride	5.000	กรัม
Neutral red	0.030	กรัม
Crystal violet	0.001	กรัม
Agar	13.500	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* (MRS agar, De Man, Rogosa and Sharpe Agar) ตามวิธีของ De Man *et al.* (1960)

Proteose Peptone No.3	10.000	กรัม
Beef Extract	10.000	กรัม
Yeast Extract	5.000	กรัม
Dextrose	20.000	กรัม
Polysorbate 80	1.000	กรัม
Ammonium Citrate	2.000	กรัม
Sodium Acetate	5.000	กรัม
Magnesium Sulfate	0.100	กรัม
Manganese Sulfate	0.050	กรัม
Dipotassium Phosphate	2.000	กรัม
Agar	15.000	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

3. สารละลาย Peptone water ตามวิธีของ Atlas (1993)

Peptone	10.000	กรัม
Sodium Chloride	5.000	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella (Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth, RVS)

Soya peptone	4.500	กรัม
Sodium chloride	7.200	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	1.260	กรัม
Di-potassium hydrogen phosphate	0.180	กรัม
Magnesium chloride (anhydrous)	13.580	กรัม
Malachite green	0.036	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella (Tetrathionate broth, TTB)

Beef Extract	5.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	3.0	กรัม
Calcium carbonate	45.0	กรัม
Sodium Thiosulfate (anhydrous)	38.1	กรัม
Oxgall	4.7	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม iodine solution 19 มิลลิลิตร และ brilliant green solution 9.5 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างที่ 7.0 โดยใช้ hydrogen chloride 1 N

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella (Hektoen enteric, HE)

Peptic Digest of Animal Tissue	12.0	กรัม
Yeast Extract	3.0	กรัม
Bile Salts	9.0	กรัม
Lactose	12.0	กรัม
Sucrose	12.0	กรัม
Salicin	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium Thiosulfate	5.0	กรัม
Ferric Ammonium Citrate	1.5	กรัม
Agar	14.0	กรัม
Acid Fuchsin	0.1	กรัม
Bromthymol Blue	65.0	มิลลิกรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด

7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella (Xylose lysine deoxycholate, XLD)

Yeast Extract	3.00	กรัม
L-lysine	5.00	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Lactose	7.50	กรัม
Sucrose	7.50	กรัม
Sodium deoxycholate	1.00	กรัม
Sodium chloride	5.00	กรัม
Sodium thiosulfate	6.80	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.80	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
Agar	12.50	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) ตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003)

Pancreatic Digest of Casein	15.0	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5.0	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด หนึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar ตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003)

Beef Extract Powder	20.0	กรัม
Acid Digest of Casein	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17.0	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton broth ตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003)

Beef Extract Powder	2.0	กรัม
Acid Digest of Casein	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short Chain Fatty Acids, SCFAs)

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายจากตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง (cecal digesta) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ใ้ก่กระทงในแต่ละซ้่าถูกนำมาฆ่าด้วยวิธี asphyxiation โดยใช้วิธี CO₂ และเปิดซากเพื่อนำตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง นำมาลดอุณหภูมิลงทันทีโดยแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย เพื่อหยุดกระบวนการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง

วิธีการเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Biagi *et al.*, 2006)

1. นำตัวอย่าง *cecal digesta* ที่แช่แข็งมาทำให้ละลายที่ 4 องศาเซลเซียส
2. ชั่งตัวอย่าง *cecal digesta* 1 กรัม มาใส่ใน *Microtube* เดิมน้ำกลั่น 1 เท่าตามปริมาตรนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง *vortex* จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง *Centrifuge* ที่ความเร็ว 14,000 rpm ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
3. ใช้ *Micropipette* ดูดสารละลายส่วนใส (*Supernatant*) ใส่ใน *Microtube* ทำตามข้อ 2 จนกว่าจะได้สารละลายที่ใส
4. ใช้ *Micropipette* ดูดสารละลายส่วนใส (*Supernatant*) ใส่ใน *Microtube* ประมาณ 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทันทีจนกว่าจะนำไปฉีดเข้าเครื่อง *Gas Chromatography* เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายต่อไป

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ *GC Grade* ของบริษัท *Fluka* ประเทศเยอรมัน ได้แก่ กรดโปรปิโอนิก (*EC label 94425*) และกรดบิวทีริก (*EC label 19215*) ที่ทราบความเข้มข้นชัดเจนมาเจือจางในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (*GC Grade*) ลงครั้งละ 2 เท่า เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับนำไปฉีดเข้าเครื่อง *Gas Chromatography*

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย

สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างจะถูกนำมาฉีดเข้าเครื่อง *Gas Chromatography* (*Shimadzu Model GC-2010 High-end, Shimadzu, Kyoto, Japan*) และมีตัว *flame ionization* เป็นตัว *Detector (GC-FID)* สารละลาย 1 ไมโครลิตร จะถูกฉีดเข้า *Silica capillary column (DB-WAX, 30 m × 0.25 mm i.d., film thickness of 0.50 μm, J&W Scientific, CA)* ซึ่งมีอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส โดยมีก๊าซฮีเลียม (*He*) เป็นตัวพาเข้าไปด้วยอัตราเร็ว 1.4 มิลลิลิตรต่อนาที ในอัตราส่วน

1:20 นอกจากนี้ยังใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิที่บริเวณฉีดสารเข้าสู่ **Column** และที่ **Detector** ให้มีค่าเท่ากับ 225 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ผลจะเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโดยใช้ความแตกต่างของระยะเวลาที่กรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดแยกออกมา (**Retention time**) ซึ่งบอกเป็นพื้นที่ (**Area**) ตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียม นำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดที่พบในตัวอย่างในหน่วยความเข้มข้นเป็นมิลลิโมล

การวิเคราะห์หา Immunoglobulin G (IgG) ในซีรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเจาะเลือดไก่ โดยอดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 12 ชั่วโมง นำเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงโดยเครื่อง **centrifuge** ที่ความเร็ว 3,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อนำซีรัมไปวิเคราะห์หาระดับของ **Immunoglobulin G** โดยวิธี **ELISA (Enzyme linked immunoabsorbent assay)**

หลักการการทดสอบหาระดับแอนติบอดีในซีรัม โดยวิธี ELISA

1. การเคลือบไมโครเพลท

แอนติเจนถูกเคลือบที่ก้นของไมโครเพลท แอนติเจนจะเกาะติดกับเพลทพลาสติก ภายหลังจากการบ่มอย่างเพียงพอแล้วเทสารละลายออก จึงเหลือแอนติเจนอยู่ที่ก้นหลุม

2. การเติมซีรัม

ซีรัมจะประกอบด้วยแอนติบอดีจำเพาะ โดยแอนติบอดีดังกล่าวจะจับกับแอนติเจนที่เคลือบที่ก้นหลุมอย่างเหนียวแน่น

3. การเติมคอนจูเกต

นิยมใช้ **goat anti-Chicken IgG** คือ แอนติบอดีชนิด **IgG** ของไก่ที่เตรียมจากแพะ ภายหลังจากล้างส่วนของซีรัมไม่จับกับแอนติเจนแล้ว ก็เติมคอนจูเกต ซึ่งประกอบด้วยส่วนของ เอนไซม์ **peroxidase** ติดฉลากบนแอนติบอดีชนิด **IgG** ของไก่ คอนจูเกตจะจับกับแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนอีกต่อหนึ่งอย่างเหนียวแน่น

4. การเติมสับสเตรท

ภายหลังจากล้างคอนจูเกต ที่ไม่จับที่แอนติบอดีที่กั้นหลุมแล้ว จึงเติมส่วนของ สับสเตรท ได้แก่ **TMB** ใส่หลุมทุกๆ หลุม ก้นหลุมที่มีแอนติบอดีจะเปลี่ยนสีของสับสเตรท จากสี ใสเป็นสีฟ้า-เขียว เนื่องจากการจับกันของคอนจูเกตกับแอนติเจน ปริมาณของสีเป็นสัดส่วน โดยตรงกับแอนติบอดีในตัวอย่างซีรัม นำไมโครเพลทที่เติมสับสเตรทแล้วมาตรวจวัดความเข้มของสี โดยทดสอบคุณสมบัติการดูดกลืนแสง (**optical density** หรือ **O.D.**) ด้วยเครื่องอ่านผลอ็โไลซา

อุปกรณ์และสารเคมี

1. Microtube well
2. เครื่อง ELISA plate reader
3. ELISA Coating Buffer (Carbonate-Bicarbonate 0.05M, pH 9.6)
4. ELISA Wash Solution (Tris 50 mM, NaCl 0.14 M, Tween 20 0.05%, pH 8.0)
5. ELISA Blocking Solution (Tris 50 mM, NaCl 0.14 M, BSA 1%, pH 8.0)
6. Sample/Conjugate Diluent (Tris, 50 mM, NaCl 0.14 M, BSA 1%, Tween 20)
7. Enzyme Substrate (TMB)
8. ELISA Stop Solution (H_2SO_4 0.18 M)

ขั้นตอนการวิเคราะห์หา Immunoglobulin G (IgG) ในซีรัม

เติม Coating Buffer ปริมาณ 100 μ ลงในแต่ละ well



บ่มที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง



ล้างจำนวน 5 ครั้ง โดยใช้ Wash Solution



เติม Blocking Solution ปริมาณ 200 μ ลงในแต่ละ well



บ่มที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที



ล้างจำนวน 5 ครั้ง โดยใช้ Wash Solution



เติม standard หรือ ตัวอย่างที่เจอจากแล้ว ปริมาณ 100 μ ลงในแต่ละ well



บ่มที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง



ล้างจำนวน 5 ครั้ง โดยใช้ Wash Solution



เติม HRP detection antibody ปริมาณ 100 μ ลงในแต่ละ well



บ่มที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง



ล้างจำนวน 5 ครั้ง โดยใช้ Wash Solution



เติม TMB Substrate Solution ปริมาณ 100 μ ลงในแต่ละ well



บ่มที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที



หยุดปฏิกิริยาโดย Stop Solution ปริมาณ 100 μ ลงในแต่ละ well



นำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 nm โดยเครื่องอ่านผลอัติโนมัติ



นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณ IgG โดยเทียบกับ standard curve ที่ได้

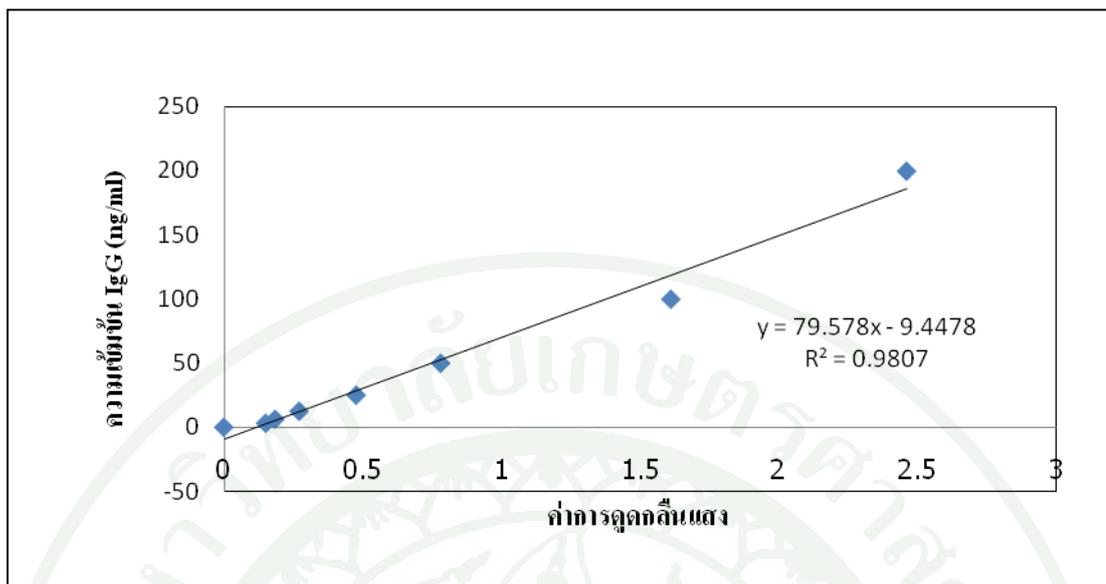
การทำ standard curve

ใช้ Chicken Reference Serum (6.25 mg/ml IgG, RS10-102) และ Sample Diluent โดยมีความเข้มข้น 8 ระดับ คือ 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 และ 0 ng/ml นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ IgG ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ค่าดูดกลืนแสงที่ได้นำไปพล็อตกับค่าความเข้มข้นของ IgG จะได้ standard curve ที่ใช้ในการหาปริมาณความเข้มข้น IgG ในตัวอย่างต่างๆ ได้

ในการทำ **standard curve** ครั้งนี้ค่าของการดูดกลืนแสงที่ได้จากความเข้มข้นต่างๆ ปรากฏดังตารางผนวกที่ 5 และเมื่อนำไปเขียนกราฟจะได้ดังภาพผนวกที่ 3 โดยความเข้มข้นของ IgG เป็นแกน Y และค่าดูดกลืนแสงเป็น X

ตารางผนวกที่ 5 ค่าความเข้มข้นของ IgG และค่าการดูดกลืนแสง

ความเข้มข้นของ IgG (ng/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร
200.00	2.46
100.00	1.61
50.00	0.78
25.00	0.48
12.50	0.27
6.25	0.19
3.12	0.15
0.00	0.00



ภาพผนวกที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย IgG ในความเข้มข้นต่างๆ

จากภาพผนวกที่ 3 ค่า linear regression มีสมการดังนี้

$$Y = 79.578X - 9.4478$$

$$R^2 = 0.9807$$

โดย Y เป็นค่าความเข้มข้นของ IgG มีหน่วยเป็น ng/ml

X เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวพิชญา แซ่อึ้ง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดภูเก็ต
สถานที่ติดต่อ	15/4 ถ.พิสิษฐ์กรณ์ย์ ต.ป่าตอง อ.กะทู้ จ. ภูเก็ต 83150
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	รางวัลชมเชย (Honorable Mention Prize) การนำเสนอ ผลงานวิจัย สาขาสัตว์ ในการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 ระหว่างวันที่ 17-20 มีนาคม พ.ศ. 2552 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัด กรุงเทพฯ