ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัตวบาล
สาขา

สัตวบาล
ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมพรีไบโอติก (Aspergillus meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่

Effects of Prebiotic Supplementation (Aspergillus meal) on Production Performance Egg Quality and Microorganism in Digestive Tract of Laying Hens

นามผู้วิจัย นางสาวพัชรี ชนะชัย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....
(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญอ้อม โฉมที, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....
(อาจารย์วิริยา ลุ้งใหญ่, ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....
(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วัน ..... **เดือน** ..... **พ.ศ** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่

Effects of Prebiotic Supplementation (*Aspergillus* meal) on Production Performance Egg Quality and Microorganism in Digestive Tract of Laying Hens

โดย

นางสาวพัชรี ชนะชัย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พัชรี ชนะชัย 2554: ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 100 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่ โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่ของไก่ไข่ โดยใช้ไก่พันธุ์ทางการค้า (สายพันธุ์ เฮช แอนด์ เอ็น "บราวน์นิกค์") อายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 288 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 16 ตัว ทำการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่างกัน 3 ระดับ คือ 0% (กลุ่มควบคุม), 0.10% และ 0.20% พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ที่ระดับ 0.20% ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่ โดยใช้ไก่พันธุ์ทางการค้า (สายพันธุ์ เฮช แอนด์ เอ็น "บราวน์นิกค์") อายุ 30 สัปดาห์ จำนวน 512 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 8 ซ้ำๆ ละ 16 ตัว ทำการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ต่างกัน 4 ระดับ คือ 0% (กลุ่มควบคุม), 0.10%, 0.20% และ 0.30% จากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต ($P>0.05$) ขณะที่ความสูงไข่ขาวและค่า Haugh unit สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แม้ว่าการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่มีผลต่อความยาวของลำไส้ ความยาวของระบบท่อนำไข่ ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และปริมาณของจุลินทรีย์ในไส้ติ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายในไส้ติ่ง และความสูงของ villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น ($P<0.05$) นอกจากนี้การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.20% และ 0.30% ช่วยลดอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ดังนั้นการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร จึงช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิต เพิ่มคุณภาพไข่ขาว และลดความเครียดของไก่ไข่ได้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Patcharee Chanachai 2011: Effects of Prebiotic Supplementation (*Aspergillus* meal) on Production Performance Egg Quality and Microorganism in Digestive Tract of Laying Hens. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 100 pages.

Two experiments were designed to evaluate effects of prebiotic supplementation (*Aspergillus* meal) on production performance, egg quality and microorganism in digestive tract of laying hens. First experiment was investigated the effects of prebiotic supplementation (*Aspergillus* meal) on production performance and egg quality of laying hens. Two hundreds and eighty eight of 28 weeks commercial laying hens (H & N Brownicks) were divided into 3 groups of 6 replications with 16 laying hens each. Total of 3 treatment groups were performed as ; 1) control (without *Aspergillus* meal supplementation), 2) *Aspergillus* meal 0.10% and 3) *Aspergillus* meal 0.20%. The result indicated that *Aspergillus* meal supplementation did not affect to production performance and egg quality when compared to control group ($P>0.05$). However, feed conversion ratio was improved significantly when supplemented *Aspergillus* meal with 0.20% in diet ($P<0.01$). The second experiments was investigated the effects of prebiotic supplementation (*Aspergillus* meal) on production performance, egg quality and microorganism in digestive tract of laying hens. Five hundreds and twelve of 30 weeks commercial laying hens (H&N Brownicks) were divided into 4 groups of 8 replications with 16 laying hens each. Total of 4 treatment groups were devided as follows; 1) control (without *Aspergillus* meal supplementation), 2) *Aspergillus* meal 0.10%, 3) *Aspergillus* meal 0.20% and 4) *Aspergillus* meal 0.30%. The results indicated that *Aspergillus* meal supplementation did not affect to production performance ($P>0.05$), while albumen height and haugh unit were significantly incressed ($P<0.01$). *Aspergillus* meal supplementation in diet did not affect to the length of intestine, the length of oviduct, internal organ weight and population of microorganism in ceacum ($P>0.05$). Moreover, the villi height of duodenum and short chain fatty acids in ceacum were significantly increased ($P<0.05$), and the hetrophil/lymphocyte ratio was significantly decressed ($P<0.01$) in *Aspergillus* meal 0.20% and 0.03% groups. In conclusion, supplementation of *Aspergillus* meal in diet improve production performance, internal egg quality and reduced stress in laying hens.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญอ้อม โฉมที และอาจารย์ ดร. วิริยา ลุ้งใหญ่ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำปรึกษา และแนะนำในการทำงานวิจัย และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนความเมตตา และการอบรมสั่งสอนในทุกด้านที่อาจารย์มอบให้ และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประวีร์ วิชชุลตา ประธานการสอบ และรอง ดร. ศาสตราจารย์ รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบริษัท ไทยเวทนิวทริเทค จำกัด ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย และฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ และพนักงานทุกท่านที่อำนวยความสะดวกใน ระหว่างที่ทำการทดลอง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานด้วยดีเสมอมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่เจี๊ยบ และคุณพีรพัฒน์ ตลอดจนญาติพี่น้องทุกๆท่านที่เมตตา เป็นกำลังใจ และสนับสนุนด้านการศึกษามาโดยตลอด ตลอดจนถึงขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรบสั่งสอนข้าพเจ้า รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาตรี โท และเอก ภาควิชาสัตวบาลทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

พัชรี ชนะชัย

เมษายน 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	24
ผลการทดลองและวิจารณ์	33
สรุปและข้อเสนอแนะ	62
สรุป	62
ข้อเสนอแนะ	62
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	82
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	100

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของ *Aspergillus* meal	20
2	ส่วนประกอบของอาหารทดลอง	27
3	องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง	32
4	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต	35
5	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่	38
6	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต	42
7	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่	46
8	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อความยาวอวัยวะ	49
9	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อน้ำหนักอวัยวะของไก่ไข่	50
10	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายในไส้ติ่ง	53
11	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง	56
12	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก	60
13	ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหารต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์	61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุดในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในการทดลองครั้งที่ 1	83
2	อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุดในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในการทดลองครั้งที่ 2	84
3	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ำยาเคมีและระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ อัตโนมัติ (Tissue processing)	89
4	ขั้นตอนการย้อมสี Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี Progressive Staining	92

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กลไกการทำงานของพรีไบโอติก	13
2	กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์	14
3	การหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่	18
4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็ก	21
5	ลักษณะการเจริญของ villus ที่บริเวณลำไส้เล็ก	22
6	ต้นทุนค่าอาหารทดลองต่อกิโลกรัม	36
7	ต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม	36
8	ต้นทุนค่าอาหารทดลองต่อกิโลกรัม	43
9	ต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม	43

ภาพผนวกที่

1	ความสูง villi (Villi height, A) และความลึกของ crypt (Crypt depth, B) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กของไก่	93

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ไข่

Effects of Prebiotic Supplementation (*Aspergillus* meal)on Production Performance Egg Quality and Microorganism in Digestive Tract of Laying Hens

คำนำ

ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่มักประสบปัญหาเรื่องโรคติดเชื้อ ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อผู้ผลิตเป็นอย่างมาก เพราะส่งผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิต ผู้ผลิตจึงใช้สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เพื่อรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรีย แต่การใช้สารปฏิชีวนะต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค (pathogenic bacteria) ดื้อยา อีกทั้งหลายประเทศมีมาตรการห้ามใช้สารปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์ที่ส่งออก เช่น สหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น เป็นต้น ในปัจจุบันผู้ผลิตจึงหันมาให้ความสนใจใช้สารเสริม (feed additive) มาทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะ เช่น โปรไบโอติก (probiotic) และพรีไบโอติก (prebiotic) โปรไบโอติก คือกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เมื่อสัตว์กินเข้าไปแล้วมีผลในการลดเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ พร้อมกับช่วยเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารทำให้สัตว์เจริญเติบโต ทำให้ ผลผลิตดีขึ้น (Havenaar *et al*., 1992) แต่โปรไบโอติกต้องให้อย่างต่อเนื่องเพื่อรักษาระดับให้คงที่ และไม่สามารถทนกรดในกระเพาะอาหารได้ ส่งผลให้เหลือจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่สามารถผ่านไปถึงลำไส้ได้น้อย (นรินทร์, 2544) ผู้ผลิตจึงให้ความสนใจในการใช้พรีไบโอติกมากขึ้น เพราะพรีไบโอติก คือสารที่ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในร่างกายสัตว์ ช่วยในการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในอาศัยอยู่ระบบทางเดินอาหาร จึงมีประโยชน์ต่อตัวสัตว์ (Gibson and Roberfroid, 1995) จึงนับว่าพรีไบโอติกมีประโยชน์อย่างมากในการใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่ และไม่มีผลข้างเคียงเรื่องสารพิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

พรีไบโอติกที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Aspergillus* spp. ชนิดต่างๆ เช่น *Aspergillus mycelium* (Salamkhan *et al*., 2000) หรือเชื้อ *Aspergillus orizae* อาจเรียกว่า *Aspergillus* meal ซึ่งไม่ใช่เซลล์ที่มีชีวิตหรือเป็นสปอร์ (Harms and Miles, 1988) มีลักษณะเป็นผงและมีความคงตัว โดยระดับที่เหมาะสมสำหรับการเสริมสารนี้ในสัตว์ปีก คือ 0.20% ในอาหาร และสัตว์กระเพาะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เดี่ยวชนิดอื่นๆ ประมาณ 0.30%-0.50% ในอาหาร การเสริม *Aspergillus* meal มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย มี mycelial fiber ที่เป็นประโยชน์ต่อการแบ่งตัวของเซลล์แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก (Salamkhan *et al*., 2000) ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Lacctobacillus* spp. ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *Salmonella enteritidis* และ *E. coli* (Cummings *et al*., 2001; Simmering and Blaut, 2001; Cummings and Macfarlane, 2002) ดังนั้นการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของไก่ไข่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ของไก่ไข่

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ กรดไขมันสายสั้นที่ระเหยได้ในไส้ติ่ง และลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่ไข่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

พรีไบโอติก

พรีไบโอติกจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ และกรดในระบบทางเดินอาหารสัตว์ ไม่ถูกดูดซึมที่ระบบทางเดินอาหารส่วนบน แต่สามารถถูกหมักย่อยได้โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ที่เป็นประโยชน์ จึงเป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ เพราะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของร่างกาย และยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น จากการที่พรีไบโอติกเป็นสารอาหารที่มีอยู่ตามธรรมชาติ และหาได้ง่าย (Gibson and Roberfroid, 1995) จึงมีการนำพรีไบโอติกมาใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ เพื่อนำมาทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะอย่างแพร่หลาย

ประโยชน์ของพรีไบโอติก

1. หาง่ายและพบในธรรมชาติ

พรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่มีอยู่ในธรรมชาติและพบได้ทั่วไปในพืช เช่น ข้าว สาลี กล้วย กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง และยีสต์ เป็นต้น เมื่อนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ จึงไม่มีผลข้างเคียงเรื่องสารพิษตกค้าง และยังทนทานต่ออุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตอาหาร จึงสามารถนำมาใช้ได้ง่ายและปลอดภัย อีกทั้งไม่ต้องกังวลเรื่องจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดก่อนที่จะออกฤทธิ์ในตัวสัตว์ (สาโรช, 2547)

2. ลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ

พรีไบโอติกมีส่วนช่วยเพิ่มสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในร่างกาย เพิ่มกิจกรรมและจำนวนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในลำไส้ เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษให้ลดลงโดยการแข่งขัน หรือกีดกันการเกาะจับพื้นที่ผิวในลำไส้ และช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในให้เหมาะสม เพื่อลดการติดเชื้อ (Ross, 1999) นอกจากนี้ยังส่งผลให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ให้ลดลงจนไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Gibson and Collins, 1999)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ

พรีไบโอติกบางชนิด เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมในลำไส้ใหญ่ ทำให้ดูดซึมแร่ธาตุได้ดีขึ้น และทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นให้กับเซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้ด้วย นอกจากนี้ความเข้มข้นของแคลเซียมในลำไส้ที่เพิ่มขึ้น ช่วยให้เกิด insoluble bile หรือเกลือของกรดไขมัน ซึ่งช่วยลดอันตรายจากกรดไขมัน หรือน้ำดี (bile) ที่มีต่อเซลล์ในลำไส้ใหญ่ (colon ocytes) และความเข้มข้นของประจุบวก (cation) ที่ลำไส้ใหญ่นี้ อาจช่วยควบคุมอัตราการแบ่งตัว และการตายของเซลล์ (cell turnover) ได้ (Lutz and Scharrer, 1991)

4. ลดอัตราการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่

พรีไบโอติกช่วยลดการย่อยโปรตีนในลำไส้ใหญ่ โดยการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ที่มีเอนไซม์สลายโปรตีน เช่น azoreductase, nitroreductase, nitrate reductase และ β-glucuronidase ในปริมาณที่ต่ำ จึงลดการสลายโปรตีนที่ก่อให้เกิดสารพิษในกลุ่มแอมโมเนีย อินโดล (indoles) และฟีนอล (phenols) ทำให้โอกาสที่สารพิษเหล่านี้ จะส่งผลให้เกิดการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ใหญ่ อันเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ลดลง (Swanson and Fahey, 2002) และในการหมักย่อยพรีไบโอติกของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ผลผลิตสุดท้ายได้เป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย เช่น แลคติก (lactic) อะซิติก (acetic) โพรพิโอนิก (propionic) และบิวทีริก (butyric) ซึ่งบิวทีริกมีส่วนช่วยกระตุ้นให้เซลล์เนื้องอก (tumor) หยุดการเจริญเติบโต หยุดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์เนื้องอก (apoptosis) ซึ่งมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ในการต้านทานการเกิดโรคมะเร็งได้ (Gibson and Wang, 1994)

5. ลดระดับคลอเลสเตอรอล

พรีไบโอติกมีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันในตับทำให้ไขมัน และคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Williams and Jackson, 2002; Canzi *et al*., 1995) เนื่องจากพรีไบโอติกมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถสร้างเอนไซม์ Bile Salt Hydrolase (BSH) ซึ่งทำให้น้ำดี แตกตัวออกเป็นกรดน้ำดีอิสระ และกรดอะมิโน ส่งผลให้ประสิทธิภาพการละลายไขมันลดลง เนื่องจากกรดน้ำดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อิสระ มีประสิทธิภาพการละลายไขมันต่ำกว่าน้ำดี นอกจากนั้นกรดน้ำดีอิสระส่วนใหญ่ยังถูกขับออกจากร่างกายไปพร้อมกับมูล ดังนั้นเพื่อให้ร่างกายสามารถย่อยไขมันไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงมีการนำคลอเลสเตอรอลมาใช้ในการสังเคราะห์น้ำดีขึ้นมาใหม่ ทำให้ระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Corzo and Gilliland, 1999; Bertazzori *et al*., 2001; Djovinov *et al*., 2005; Begley *et al*., 2006)

6. ช่วยผลิตวิตามิน

Gibson and Roberfroid (1995) พบว่า จุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* สามารถผลิตวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 และไบโอติน ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอะมิโน การสร้างโปรตีน และการทำงานของ ระบบประสาทส่วนกลาง จึงส่งผลให้การเจริญเติบโตของสัตว์ดีขึ้น (Stringer, 1985)

7. เพิ่มความยาวของ villi

Trevino *et al*. (1990) พบว่า การเสริมพรีไบโอติกเพิ่มความสูงของ villi ต่อความลึกของ crypt เพิ่มปริมาณของเซลล์ goblet ช่วยขับหลั่งสารเมือกออกมาปกป้องลำไส้จากเชื้อโรค เพิ่มความสม่ำเสมอ และความสามารถในการทำหน้าที่ (integrity) ของ villi และช่วยปรับปรุงสุขภาพของทางเดินอาหาร โดยเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อในระบบทางเดินอาหาร และเพิ่มพลังงานสุทธิในสัตว์ (Hooge, 2003) ซึ่งเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่สามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น ดีเอ็นเอ และไขมัน ที่สำคัญต่อการพัฒนาและการเจริญของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้ และการกระตุ้นการไหลเวียนของเส้นเลือดในลำไส้ (Rabassa and Rogers, 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประเภทของพรีไบโอติก

1. โอลิโกแซคคาไรด์ (oilgosaccharides)

โอลิโกแซคคาไรด์จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ (mono-saccharide) จำนวน 2-10 หน่วย มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) หรือจัดว่าเป็นโพลีแซคคาไรด์สายสั้นๆ (กรรณิการ์, 2545) โอลิโกแซคคาไรด์มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ เช่น ข้าวสาลี กล้วย หอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง และยีสต์ (สาโรจน์, 2547) ตัวอย่างของโอลิโกแซคคาไรด์ที่สำคัญมีดังนี้

1.1 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo–oligosaccharide; FOS)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ แต่สามารถถูกหมักย่อยได้โดยจุลินทรีย์ในบริเวณลำไส้ใหญ่ จึงมีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ซึ่งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เหล่านี้ สามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษได้ โดยกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลง ทำให้เกิดความไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Ross, 1999) สอดคล้องกับการศึกษาของ Campbell *et al.* (1997) ที่ศึกษาการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 6 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารหนู พบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bifidobacteria* และจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีจำนวนเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Roberfroid *et al.* (1998) รายงานว่า การใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 4 กรัมต่อวัน ช่วยเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bifidobacteria* ในระบบทางเดินอาหารได้

1.2 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto–oligosaccharide; GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ หรือทรานสกาแลคโตซิเลสโอลิโกแซคคาไรด์ (transgalacto- sylase oligosaccharide; TOS) สังเคราะห์ได้จากน้ำตาลแลคโตส (lactose) ในน้ำนม โดยขบวนการทรานสกาแลคโตซิลเลชั่น (transgalactosylation) ด้วยเอนไซม์ β-transgalactosydase (Ross, 1999) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อย และดูดซึมได้ในลำไส้เล็กของคน และสัตว์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacteria* ในหลอดทดลอง (Bouhnik *et al.*, 1997) การศึกษาของ Moro *et al.* (2002) พบว่า การเลี้ยงทารกด้วยน้ำนมวัวที่มีการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้ปริมาณเชื้อ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ในระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น และความค่าเป็นกรด-ด่างในอุจจาระลดลง

1.3 โอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง (soybean-oligosaccharide)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลืองมีประมาณ 40-50 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง (Obendorf *et al*., 1998) โดยโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดหลักๆ ที่พบในถั่วเหลืองที่โตเต็มที่แล้ว มีสตาร์ไซโอส (stachyose) ประมาณ 14-41 กรัมต่อกิโลกรัม และราฟิโนส (raffinose) ประมาณ 1-9 กรัมต่อกิโลกรัม (Hymowitz *et al.*, 1972) จากการศึกษาของ Lan *et al*. (2006) พบว่าโอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง ช่วยเพิ่มจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria ในสกุล *Lactobacillus*, *pediococcus*, *Weissella* และ *Leuconostoc* ในไส้ติ่งของไก่กระทง

1.4 แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannanoligosaccharide; MOS)

แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากผนังเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerervisiae* ส่วนประกอบของแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ คือ กลูแคน (glucan) ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ แมนแนน (mannan) ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และไคติน (chitin) ประมาณ 12.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น (Lyons, 1994) Ferket *et al.* (2002) พบว่า แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อในระบบทางเดินอาหาร ลดการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ เพิ่มอัตราส่วนความสูง villi ต่อความลึกของ crypt และเพิ่มปริมาณของเซลล์ goblet จึงช่วยหลั่งเมือกออกมาปกป้องลำไส้จากจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ อีกทั้งช่วยเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีพรีไบโอติกที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Aspergillus mycelium* (Salamkhan *et al*., 2000) หรือเชื้อ *Aspergillus orizae* เป็นสารเสริมที่ไม่ใช่เซลล์สิ่งมีชีวิต หรือสปอร์ (Harms and Miles, 1988) มีลักษณะเป็นผง และมีความคงตัวเมื่อผ่านกระบวนการหมักแล้วจะอยู่ในรูปที่เรียกว่า *Aspergillus* meal ซึ่งมีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว และมี mycelial fiber ที่เป็นประโยชน์ต่อการแบ่งตัวของเซลล์จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก (Salamkhan *et al*., 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 แลคทูโลส (lactulose)

แลคทูโลสเป็นน้ำตาลไดแซคคาไรด์ที่แยกได้จากน้ำนม ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ แต่ย่อยได้ด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria ในลำไส้ ได้เป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย ทำให้ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลง จนไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษจำพวก *Bacteriodes*, *Clostridium* และ *Eubacterium* อีกทั้งช่วยเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* และ *Streptococcus* (Ross, 1999)

1.6 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ชนิดอื่นๆ (non–digestible oligosaccharide)

โอลิโกแซคคาไรด์ชนิดที่ไม่สามารถย่อยได้ชนิดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น แอลฟา-กลูโค-โอลิโกแซคคาไรด์ (α-gluco-oligosaccharide) เบต้า-ไกลโค-โอลิโกแซคคาไรด์ (β-glyco-oligosaccharide) ไอโซมอลโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (isomalto-oligosaccharide) แลคโตซูโครส (lactosucrose) และไซโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (xyto-oligosaccharide) โอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าวจัดเป็นอาหารของจุลินทรีย์เป็นประโยชน์ในลำไส้ (Ross, 1999; Monsan and Paul, 1995)

2. โพลิแซคคาไรด์ (polysaccharide)

2.1 non-starch polysaccharide (NSP) จัดเป็นโพลิแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด จับกันด้วยพันธะ β-1-3 และ β-1-4 glycosidic โดย NSP แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ cellulose (ไม่ละลายน้ำ) non-cellulosic polymer และ pectic polysaccharide (ละลายน้ำ) (Choct and Kocker, 2002) NSP ที่ละลายน้ำประกอบด้วย กัม (gum) และเพกติน (pectin) ซึ่งถูกหมักย่อยได้อย่างรวดเร็วในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น ส่วน NSP ที่ไม่ละลายน้ำ เช่น รำข้าวสาลี ข้าวไรย์ และข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น จะถูกหมักย่อยอย่างช้าๆ ในลำไส้ใหญ่ (Mroz *et al*., 2000) การหมักย่อย NSP ที่ไม่ละลายน้ำ โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่จะทำให้เกิดการผลิตกรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะกรดบิวทีริก ซึ่งมีบทบาทในการบำรุงรักษาสุขภาพ และความสมบูรณ์ของเซลล์เยื่อบุของลำไส้ใหญ่ (สุวรรณา, 2548) อย่างไร ก็ตาม NSP มีสูตรโครงสร้างหลากหลาย เอนไซม์จากสัตว์ไม่สามารถเข้าไปย่อยได้ NSP จึงเป็นสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะอื่น (anti-nutrients) ทำให้มีผลลดการเจริญเติบโต และลดสมรรถภาพการผลิตของไก่ รวมทั้งการลดการย่อยได้ของโภชนะโดยเฉพาะไขมัน (วรรณพร และพันทิพา, 2543; Langhout, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 อินนูลิน (inulin) เป็นโพลิแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งอินนูลินไม่สามารถย่อยสลายและดูดซึมในลำไส้เล็ก จึงมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกได้เช่นเดียวกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ การเสริมอินนูลินในอาหารคนสามารถออกฤทธิ์เป็นพรีไบโอติกได้ (Ross, 1999) สอดคล้องกับ Gibson and Roberfroid (1995) ที่รายงานเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเคมี และการย่อยของอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากหัวชิคอริ พบว่า อินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ถูกย่อยสลายและถูกจุลินทรีย์นำไปใช้จนหมด โดยเฉพาะจุลินทรีย์จำพวก *Bifidobacteria* ที่สามารถย่อยสลายฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ดีกว่าอินนูลิน

3. น้ำตาลแอลกอฮอล์ (alcohol sugar)

น้ำตาลแอลกอฮอล์ จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีการสังเคราะห์โพลิเมอร์เพียง 1-2 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่สามารถนำมาเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลได้ ตัวอย่างของน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่สำคัญมีดังนี้

3.1 ไซลิทอล (xylitol) เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอน 5 อะตอม มีประโยชน์ในการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปาก และไซลิทอลยังมีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์และมนุษย์ (Salminen *et al*., 1985b; Naaber *et a*l., 1996) และสามารถยับยั้งการเกาะจับของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในหลอดทดลอง และในลำไส้ของมนุษย์ (Uhari *et al*., 1996)

3.2 ซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นสารให้ความหวานสำหรับอาหารเพื่อสุขภาพ เมื่อเติมในน้ำเชื่อมที่มีน้ำตาลซูโครสจะช่วยลดการเกิดผลึกระหว่างการเก็บ และซอร์บิทอลเป็นสารที่เติมลงในอาหาร เพื่อควบคุมความชื้น (humectant) สำนักงานอาหารและยาในสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้ซอร์บิทอล เป็นสารเสริมในอาหาร (food additive) ได้ (Salminen *et al*., 1985b)

3.3 แมนนิทอล (mannitol) พบในพืชบางชนิด เช่น beets, celery, มะกอก และสาหร่ายทะเล สารแมนนิทอลมีความหวานประมาณ 0.4-0.5 เท่าของน้ำตาลทราย และมีคุณสมบัติคล้ายกับซอร์บิทอล แมนนิทอลใช้เป็นสารให้ความหวานสำหรับอาหารเพื่อสุขภาพ และสามารถใช้เป็นสารช่วยเพิ่มเนื้อสัมผัส เป็นสารป้องกันการจับตัวเป็นก้อน (anticaking agent) หรือเป็นสารป้องกันความชื้นแมนนิทอล (Salminen *et al*., 1985a)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 แลคติทอล (lactitol) ช่วยเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ของคน ป้องกันการติดเชื้อในลำไส้และป้องกันการก่อมะเร็ง อีกทั้งยังสามารถช่วยเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแกรมบวก และลดระดับค่าความเป็นกรด-ด่างในมูลได้ (Salminen *et al.,* 1993)

3.5 โซเดียมกลูโคเนตมีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น D-gluconic acid, sodium salt, monosodium salt เป็นต้น โซเดียมกลูโคเนตเป็นผลิตผลจากการหมักของกลูโคสที่ไม่สมบูรณ์ โดยจุลินทรีย์จำพวก*Gluconobacter* spp. ละลายน้ำได้ดี มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก และเป็นสารตั้งต้นในการหมัก butyric acid (Depenmeier *et al*., 2002) ซึ่งจุลินทรีย์จำพวก *Gluconobacter* spp. พบได้จากการหมักดอกไม้และผลไม้ สามารถพบในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอลล์เป็นส่วนประกอบ เช่น เบียร์ และ ไวน์ เป็นต้น (Battey and Schaffner, 2001) โซเดียมกลูโคเนตเมื่อเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะสามารถเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย เช่น อะซิติก โพรพิโอนิก บิวทีริก เป็นต้น จึงส่งผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น (Biagi *et al*., 2006)

4. พรีไบโอติกกลุ่มอื่นๆ

พรีไบโอติกกลุ่มอื่นๆ เช่น Mucin glycoproteins ถูกสร้างโดย goblet cells ที่อยู่ในเยื่อบุผิวลำไส้ และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้ และ Related mucopolysaccharides เช่น chondroitin sulphate, heparin, pancreatic และ bacterial secretions ซึ่งเป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้ อีกทั้งยังมี protein and peptides สารนี้สร้างขึ้นในอาหาร สร้างโดยการหลั่งของตับอ่อนหรือสร้างโดยแบคทีเรียแต่จะมีปริมาณน้อยกว่าพวกคาร์โบไฮเดรต (สาโรช, 2547)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

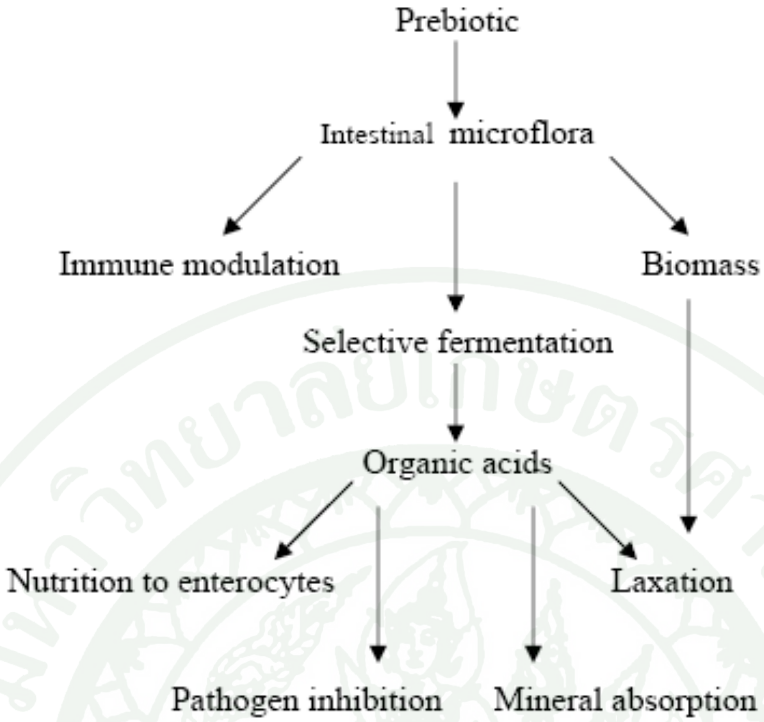
กลไกการทำงานของพรีไบโอติกมีความซับซ้อน เพราะต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์เข้ามามีส่วนร่วม ดังแสดงในภาพที่ 1 อีกทั้งพรีไบโอติกยังมีแหล่งที่มาหลากหลาย และสารที่เป็นองค์ประกอบก็มีความแตกต่างกัน จึงมีกลไกได้หลายวิธีซึ่งสรุปได้ดังนี้

1. การแก่งแย่งเพื่อขจัดออก (competitive exclusion) โดยการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการต่อต้านการเกาะของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษบนผนังลำไส้ อีกทั้งแย่งอาหารไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษใช้ในการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนได้ดังแสดงในภาพที่ 2 นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ยังสามารถผลิตสารต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Hentges, 1992) เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง และกรดไขมันสายสั้น เช่น กรดแลคติก (lactic) กรดอะซิติก (acetic) กรดโพรพิโอนิก (propionic) และกรดบิวทีริก ซึ่งช่วยลดค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้และไส้ติ่งให้ต่ำลง จนมีสภาพไม่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ

2. พรีไบโอติกจะเข้าไปเกาะจับกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถยึดเกาะกับเยื่อบุผนังลำไส้ได้ จึงถูกกำจัดออกไป (Aniansson *et al*., 1990) ดังแสดงในภาพที่ 2

3. ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น จุลินทรีย์จำพวก lactic acid bacteria สามารถกระตุ้นการทำงานของ macrophage โดยการกินสิ่งแปลกปลอมเพิ่มมากขึ้น ขณะเดียวกันก็หลั่งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสิ่งแปลกปลอม เช่น β-glucuronidase และ β-galactosidase ออกมามากขึ้น (Perdigon and Alvarez, 1992) นอกจากนี้พรีไบโอติกยังสามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อบุผนังลำไส้เพื่อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันให้เพิ่มขึ้น (Chesson, 1993; Savage *et al*., 1996)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

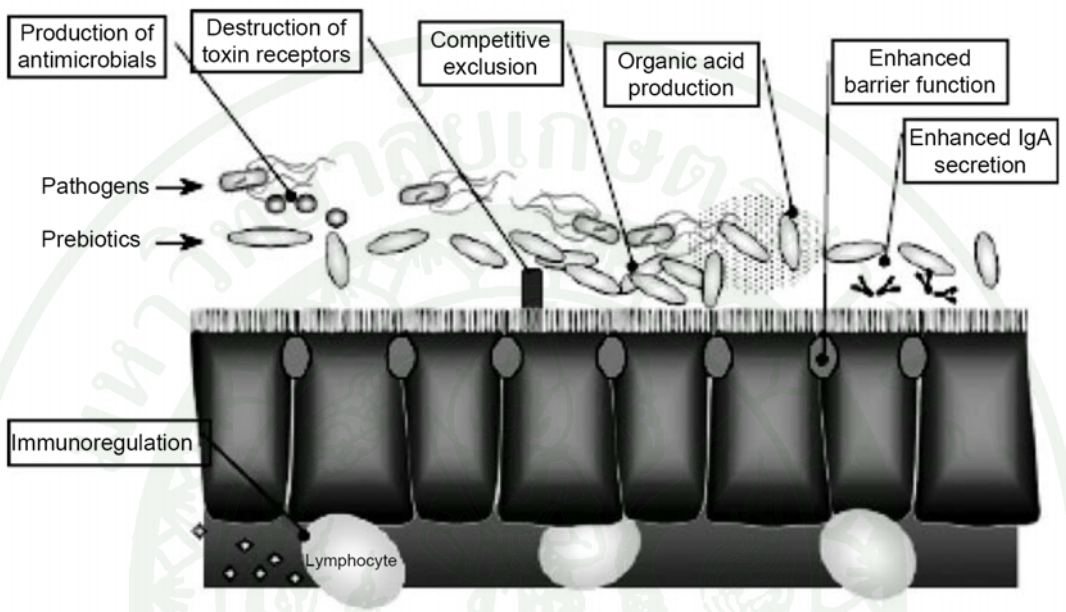
ที่มา: Anonymous (2010)

4. ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น กรดอะซิติก กรดบิวทีริก กรดโพรพิโอนิก และกรดแลกติก มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระบบทางเดินอาหาร (Mroz, 2000) และช่วยเพิ่มจำนวนของเซลล์ goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้เล็ก จึงช่วยปกป้องลำไส้เล็กจากการติดเชื้อได้ (Savage *et al*., 1997) ดังแสดงในภาพที่ 2

5. พรีไบโอติกมีผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์และการต้านอนุมูลอิสระ (Chorvaticova *et al*., 1999; Krizkova *et al*., 2001) เป็นผลมาจากในการหมักย่อยพรีไบโอติกของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้ผลผลิตสุดท้ายได้เป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย โดยเฉพาะบิวทีริกมีส่วนช่วยกระตุ้นให้เซลล์เนื้องอก หยุดการเจริญเติบโต หยุดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์เนื้องอก (Gibson and Wang, 1994)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. พรีไบโอติกช่วยลดการโยกย้าย (translocation) ของเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เข้าไปในระบบของร่างกายเป็นการช่วยรักษาระบบภูมิคุ้มกันไว้ไม่ให้ถูกใช้โดยไม่จำเป็น (Monsan and Paul, 1995)



ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

ที่มา: Frank and Levinus (2008)

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารของไก่ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด และมีการดำรงชีวิตอย่างเป็นระบบ เมื่อลูกไก่ฟักออกจากไข่ ระบบทางเดินอาหารจะปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ (germ free animals) แต่เมื่อลูกไก่ได้กินอาหารหรือวัสดุรองพื้นก็จะได้รับจุลินทรีย์เข้าไปในร่างกาย ทำให้เกิดการเจริญและพัฒนาของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ดำรงชีพที่ไม่ใช้ออกซิเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliforms) และ *Enterococus* หลังจากนั้นจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus* จะมีการเจริญมาแทนที่และกลายเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Karpinska *et al*., 2001) บริเวณกระเพาะพัก จะพบจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* เป็นส่วนใหญ่ที่เกาะอยู่บนเยื่อบุของกระเพาะพัก ส่วนบริเวณกระเพาะแท้และกระเพาะบดจะพบจุลินทรีย์ได้น้อยชนิด ซึ่งเป็นผลมาจากที่บริเวณ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กระเพาะแท้และกระเพาะบด มีภาวะความเป็นกรดค่อนข้างสูง โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 1-2 (Barrow, 1994) และที่บริเวณลำไส้เล็กจะพบจุลินทรีย์จำพวก lactic acid bacteria จุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* และจุลินทรีย์กลุ่ม *Enterococus* โดยจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* จะมีปริมาณมากที่สุดในลำไส้เล็กส่วนปลาย โดยเฉลี่ย 10^{12}-10^{15} cfu/g (สุภาพ และคณะ, 2545) ส่วนที่บริเวณลำไส้ใหญ่เป็นส่วนของทางเดินอาหารที่มีจุลินทรีย์จำนวนมาก และมีมากกว่า 200 ชนิด (Barrow, 1994) ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบมากคือ จุลินทรีย์ ในกลุ่ม *Enterobacteraceae Lactobacillus Enterococus Bacteroides* spp. และ *Eubacterim* spp. (Paul *et al*., 2000)

จำนวนและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อาหาร ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในลำไส้ อัตราเร็วในการไหลผ่านของอาหาร ระบบสรีระวิทยาของสัตว์ การบีบตัวของกระเพาะและลำไส้ โดยลำไส้ใหญ่จะมีปริมาณจุลินทรีย์ มากกว่าในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก เนื่องจากมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ (Gibson and Collins, 1999)

จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารสามารถจำแนกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. ประเภทที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) คือ จุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Clostridium perfringen* เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในสัตว์ได้ (Kyriakis, 1983)

E. coli จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆ (Short-rod shape) ขนาดเล็กประมาณ 1.1-1.5 x 2.0-6.0 ไมโครเมตร แกรมลบมีแคปซูลบางๆหุ้มเซลล์ไว้ เคลื่อนไหวโดยใช้แส้รอบตัว ลำดับเบสบนดีเอ็นเอ (DNA) คล้ายกับ *Shigella* spp. การแยกความแตกต่างของ เชื้อทั้ง 2 ชนิด โดย *E. coli* สามารถใช้น้ำตาลแลกโตส (Lactose positive) และให้ลักษณะโคโลนี (อรุณ, 2537)

Salmonella spp. จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ มีขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย หรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาว และมีอยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) ยกเว้น *Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum* และบางสายพันธุ์ไม่มีแฟลกเจลลา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ ยกเว้น *Salmonella paratyphi*, *Salmonella choleraesuis* ที่สร้างกรด และก๊าซจากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส อุณหภูมิที่เจริญได้ 37-45 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุด คือ 42 องศาเซลเซียส เจริญได้ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4.5-9.0 (Chapman, 1988)

2. ประเภทที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (Non-pathogenic bacteria) คือ จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย นอกจากนี้อาจมีประโยชน์ในหลายกรณี เช่น ช่วยควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อร่างกายสัตว์ จุลินทรีย์ประเภทนี้ ได้แก่ *Lactobacillus Bifidobacterium* (John *et al.,* 1989) *Bacillus Lactococcus Vargococcus Leuconostoc Pediococcus Aerococcus Tetragenococcus Streptococcus Enterococcus Oenococcus* (Vuyst and Vandamme,1994) และยีสต์ (Simon, 2005) เป็นต้น

Lactobacillus spp. จัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบมากในลำไส้เล็กส่วนปลาย จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนยาว ท่อนสั้นหรือทรงรี ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming gram positive rods or regular shape) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ทนต่อสภาพที่มีออกซิเจน (Facultative bacteria) จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria ซึ่งสามารถหมักย่อยได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดแลคติค (Sneath *et al.*, 1986)

Bifidobacteria มีโครงสร้างของเซลล์เป็นแบบ Curved rod หรือ bifid rods มีความยาว 2-8 ไมโครเมตร จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ และไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต บริเวณผิวด้านนอกไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังพบว่า *Bifidobacteria* สามารถผลิตกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลคติค และกรดอะซิติก สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ วิตามิน และสารเสริมการเจริญเติบโต (growth factor) รวมถึงกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยป้องกันและทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ และรักษาสมดุลของลำไส้ อีกทั้งยังมีผลต่อการสร้างสารอาหาร วิตามิน กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ เป็นต้น (Ballongue, 1993)

นอกจากนี้ Lyons (1987) รายงานว่าในสัตว์ที่มีสุขภาพดี ระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่สมดุล ซึ่งในสภาพดังกล่าวระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria อยู่เป็นจำนวนมาก เช่น *Lactobacillus* spp. และ *Streptococcus* spp. ซึ่งในสภาพสมดุล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

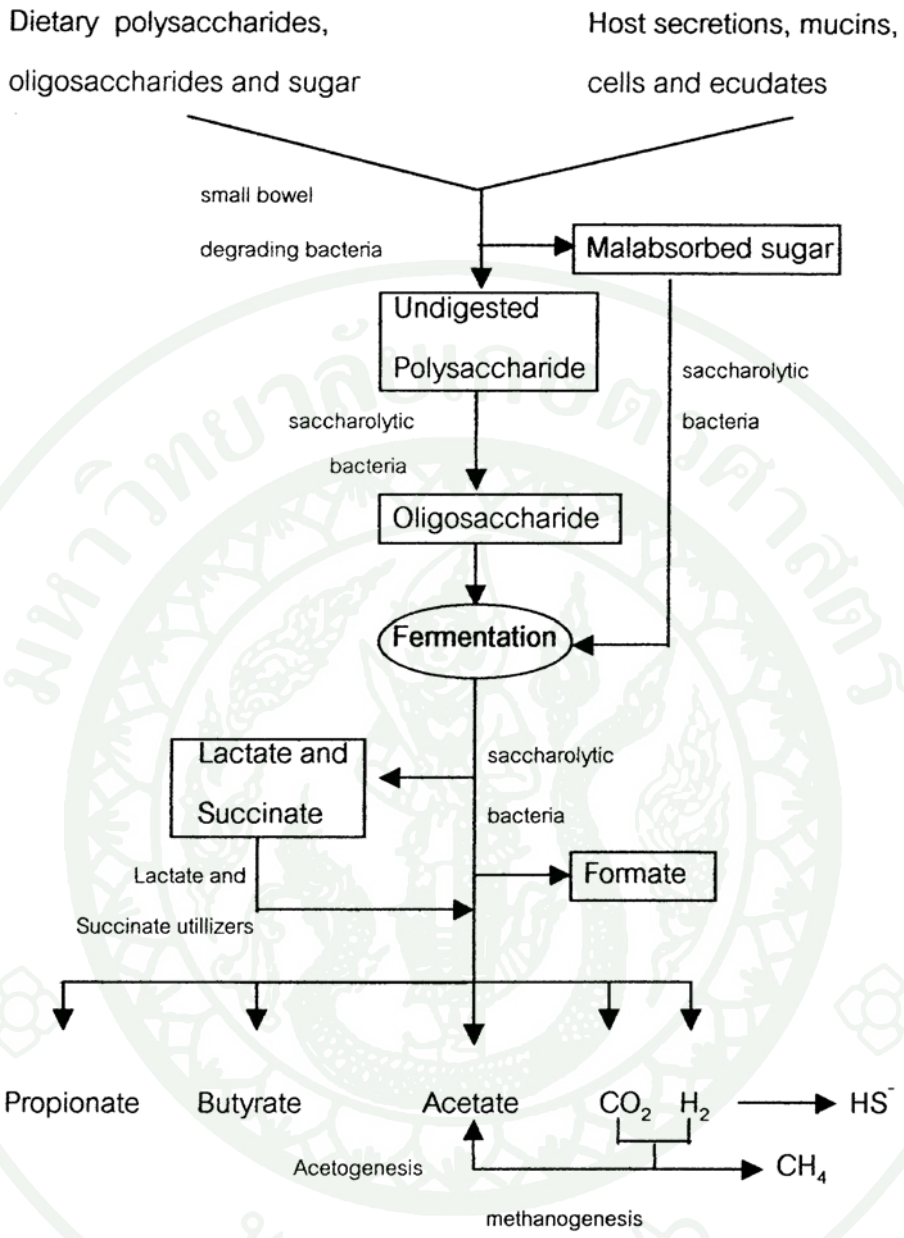
นี้จะเสียไป เมื่อสัตว์เกิดความเครียด ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์จำพวก lactic acid bacteria ลดลง และจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *E. coli* เพิ่มปริมาณมากขึ้น

การหมักย่อยพรีไบโอติกโดยจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

คาร์โบไฮเดรตหรือแป้งส่วนใหญ่จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ α-amylase หรือ α-1,4 glucan-4-gluconohydrolase ที่พบในน้ำลายและตับอ่อน (สาโรช, 2547) แต่พรีไบโอติกจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทที่ไม่ถูกย่อย และดูดซึมในลำไส้ส่วนต้นของสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Gibson and Roberfroid, 1995) เพราะเอนไซม์ไม่สามารถย่อยพันธะ β-glycosidic ที่มีอยู่ในพรีไบโอติก (สาโรช, 2547) อีกทั้งพรีไบโอติกมีคุณสมบัติเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะ จึงถูกใช้เป็นอาหารและหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในบริเวณลำไส้ เช่น กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนจำเพาะสำหรับจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* และ *Eubacterium* (Monsan and Paul, 1995) โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มแซคคาโรไลติก (saccharolytic) สามารถผลิตเอนไซม์ polyhydrolase และ glycosidase ได้หลายชนิด จึงย่อยสายโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตหรือพรีไบโอติกได้ดี ขณะที่จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นโทษ เช่น *Clostridium*, *Enterobacterium* และ *Coliforms* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มโปรติโอไลติก (proteolytic) ซึ่งย่อยโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตได้ต่ำ หรือไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ (Gibson and Roberfroid, 1995; Hudson and Marsh, 1995)

เมื่อเกิดการหมักย่อยของพรีไบโอติกจะได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก ซึ่งถูกดูดซึมที่เซลล์เยื่อบุผิว และเส้นเลือดเพื่อเข้าสู่ตับ โดยกรดอะซิติกให้พลังงานประมาณ 1.5-2 กิโลแคลอรีต่อกรัม (Livesey, 1990) กรดโพรพิโอนิก สามารถยับยั้งการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลในเลือด ทำให้ปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Stephen, 1994) และกรดบิวทีริก เป็นแหล่งพลังงานในเซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณลำไส้ใหญ่ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ลำไส้ใหญ่ (Cumming, 1995) ซึ่งกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายจะถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วที่เซลล์เยื่อบุลำไส้ในลำไส้เล็กส่วนท้าย ช่วยกระตุ้นการดูดซึมของเกลือและน้ำ (Sakata, 1987; Frankel *et al.*, 1994) และเป็นแหล่งพลังงานให้กับจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถนำสารที่เหลือจากการย่อยของเชื้ออื่นไปเป็นอาหารของตัวเองได้ (Gibson and Roberfroid, 1995) ดังแสดงในภาพที่ 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 การหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่

ที่มา: Hudson and Marsh (1995)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เกิดขึ้นจากการหมักย่อยพรีไบโอติก ซึ่งได้แก่ กรดอินทรีย์ (organic acid) เช่น กรดแลกติก กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) เอมีน (amine) และก๊าซชนิดต่างๆ เช่น ไฮโดรเจน (H_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) มีเทน (CH_4) และไฮโดรเจน ซัลไฟด์ (H_2S) เป็นต้น (Gibson and Roberfroid, 1995; Hudson and Marsh, 1995)

Aspergillus meal

เชื้อราสกุล *Aspergillus* จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes พบได้ทั่วไปในดินและอากาศ เจริญเติบโตได้ดีในเขตอากาศร้อน ซึ่งเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus* spp. จะเจริญเติบโตได้ดี ไม่มีสี หรือมีสีอ่อน และมีผนังกั้น (septum hyphae) ก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีลักษณะเป็นก้านยาว ตรง ส่วนมากมักไม่แตกกิ่งก้าน ที่ปลายจะโป่งออกเป็นกระเปราะ เรียกว่า vesicle ที่บริเวณรอบๆ vesicle เป็นเซลล์ที่ให้กำเนิดสปอร์ เรียกว่า phialide มีลักษณะคล้ายขวดมีชั้นเดียวหรือสองชั้น ส่วนปลายมี protoplasm ที่มีผนังกั้นอยู่ และเปลี่ยนรูปร่างเป็นลักษณะเกือบกลมสร้างผนังล้อมรอบ เป็น conidia ซึ่ง conidia ที่สร้างภายหลังจะอยู่ใน phialide และดัน conidia อันแรกให้โผล่ออกมา เรื่อยๆ จนต่อเป็นสายคล้ายลูกโซ่ มีสีต่างกันตามชนิดอาหารและสภาวะที่ได้รับ ซึ่ง colony ส่วนมากมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่ ขอบหยักหรือเรียบเห็นชัดเจน ผิวหน้าโดยทั่วไปมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ มีการเจริญเป็นวงแหวน (zonation) เจริญได้เร็ว และไม่จำกัดขนาด (Raper and Fennell, 1965)

เชื้อราสกุล *Aspergillus* ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมที่หลากหลาย เช่น การทำเหล้า ทำซีอิ้ว การผลิตเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ย่อยแป้ง และถูกนำมาใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตพรีไบโอติก โดยเมื่อผ่านกระบวนการหมักแล้ว จะมีลักษณะเป็นผงและมีความคงตัว เรียกว่า *Aspergillus* meal (Harms and Miles, 1988) ซึ่งสัดส่วนของ *Aspergillus* meal ปริมาณ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย กาก หรือส่วนที่เหลือจากการหมักของเชื้อ *Aspergillus mycelium* (Salamkhan *et al*., 2000) หรือเชื้อ *Aspergillus orizae* (Harms and Miles, 1988) จำนวน 625 กรัม กากถั่วเหลือง 160 กรัม กากข้าวโพด 45 กรัม ส่วนที่เหลือจากการหมักข้าวโพด 68 กรัม ยีสต์ 20 กรัม และหางนมผง 82 กรัม โดย *Aspergillus* meal จัดเป็นสารเสริมที่ไม่ใช่เซลล์สิ่งมีชีวิตหรือสปอร์ (Harms and Miles, 1988) มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว เพราะช่วยเพิ่มโภชนะ เนื่องจากเมื่อนำ *Aspergillus* meal มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะ พบว่ามีโปรตีนสูงถึง 16.94% ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Salamkhan *et al*. (2000) ที่พบว่า *Aspergillus* meal มีโปรตีนเป็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

องค์ประกอบ 16.4% ไขมัน 1.80% เยื่อไย 28.90% และองค์ประกอบอื่นๆ (Salamkhan *et al*., 2000) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของ *Aspergillus* meal

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
โปรตีน	16.40
ไขมัน	1.80
เยื่อใย	28.90
เถ้า	10.30
ความชื้น	7.00
คาร์โบไฮเดรต	35.60
แป้ง	10.80
แคลเซียม	0.22
ฟอสฟอรัส	0.05
โพแทสเซียม	0.35
กรดอะมิโนไลซีน	0.38
กรดอะมิโนเมทไธโอนีน	0.18
กรดอะมิโนทรีโอนีน	0.54
กรดอะมิโนอาร์จินีน	0.46

ที่มา: ดัดแปลงจาก Salamkhan *et al*. (2000)

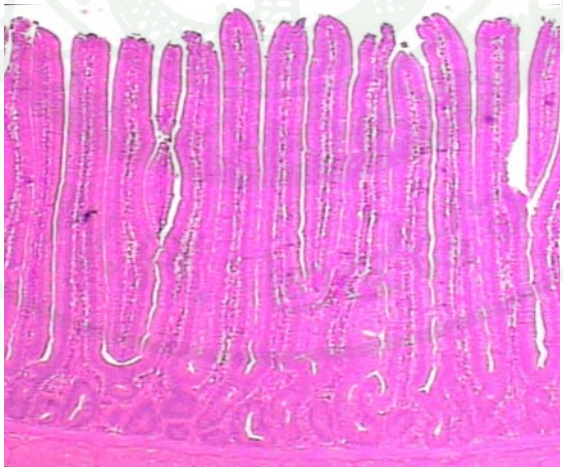
นอกจากนี้ *Aspergillus* meal ยังมี mycelial fiber ที่เป็นประโยชน์ต่อการแบ่งตัวของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก (Salamkhan *et al*., 2000) มีส่วนช่วยในการพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร การย่อยได้ของโภชนะ เพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย และช่วยเพิ่มความยาวของ villi ในลำไส้เล็กส่วนต้น และลำไส้เล็กส่วนกลาง มีส่วนช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Lacctobacillus* spp. ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *Salmonella enteritidis* และ *E. coli* (Cummings *et al*., 2001; Simmering and Blaut, 2001; Cummings and Macfarlane, 2002) การที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารมีจำนวนเพิ่มขึ้นนั้น เป็นผลมาจากการอัตราการสร้างและสลาย (turnover) ของเซลล์ที่ผนังลำไส้เล็ก (enterocyte) การแย่งอาหารกับจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ และแย่งพื้นที่เกาะจับที่บริเวณผนังลำไส้ โดยจะมีการสร้างแบคเทอริโอซิน (bacteriocins) ซึ่งเป็นโปรตีนหรือสารประกอบประเภทโปรตีน (Klaenhammer *et al*., 1992) ที่มีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

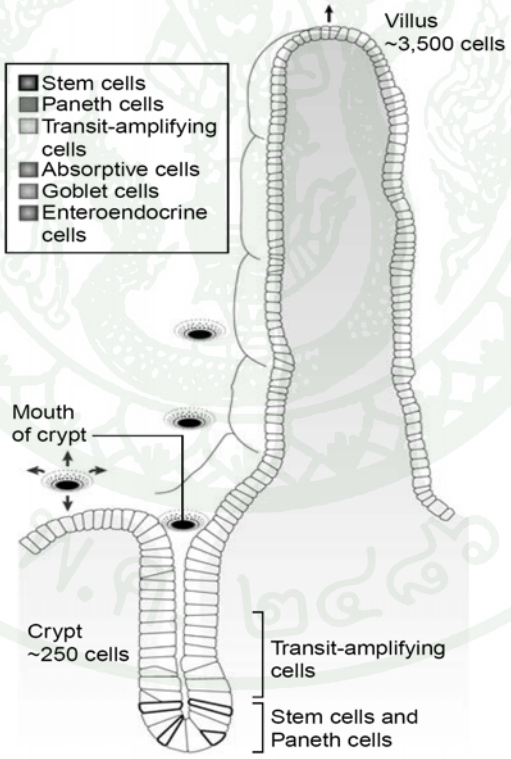
ลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่มีการดูดซึมสารอาหารมาก โดยลำไส้เล็กแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ลำไส้ส่วนกลาง (jejunum) และลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) โครงสร้างของส่วนเยื่อผิว (mucosa) ในลำไส้เล็กของไก่กระทง มีการพัฒนาทันทีเมื่อได้รับอาหารหลังจากฟักออกจากไข่ เพื่อทำการย่อยโภชนะต่างๆ ในอาหาร นอกจากนี้พบว่าพื้นผิวภายในลำไส้มีกิ่งยื่นออกมามากมาย เรียกว่า villi (ภาพที่ 4) มีหน้าที่ในการดูดซึมสารอาหาร แต่ละ villi มีเส้นเลือดดำและเส้นเลือดแดงมาหล่อเลี้ยงจำนวนมาก และที่บริเวณฐานของ villi มีถุงรูปร่างคล้ายท่อเรียกว่า crypt มีต่อมขับสารที่เรียกว่า succus entericus ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ย่อยทั้งคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เช่น sucrase maltase lactase aminopeptidase และ dipeptidase (พันทิพา, 2547)



ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็ก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

villi ของไก่จะมีการพัฒนาและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในทุกส่วนของลำไส้เล็กหลังฟักออกจากไข่ 2 วัน โดย villi จะเจริญและพัฒนาของในแบบของเซลล์ที่เรียกว่า migratic activity ที่มีจุดเริ่มต้นมาจากกลุ่มเซลล์ที่อยู่ใต้ villi ชื่อว่า crypt of liberkühn โดยเซลล์จะเจริญเติบโตขึ้นมาเรื่อยๆ จากบริเวณ crypt จากนั้นขยับขึ้นไปจนถึงจุดยอดของ villi (Frandson, 1992) พร้อมกับเจริญไปเป็นเซลล์ดูดซึม (Absorptive cell) และเซลล์หลั่งน้ำเมือก (Geyra *et al*., 2001) ดังแสดงในภาพที่ 5 จากนั้นจะมีการสลัดเซลล์ที่แก่และตายแล้วบริเวณส่วนยอดให้หลุดออกไป แล้วจะมีเซลล์ใหม่ที่เจริญดันขึ้นมาแทนที่ villi และ microvilli สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้แก่ลำไส้เล็กได้สูงถึง 600 เท่า เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อบริเวณอื่นที่มีผิวเรียบทรงกระบอกธรรมดา ดังนั้นหาก villi และ crypt of liberkhun มีอัตราส่วนความยาวเพิ่มขึ้น เป็นผลดีต่อการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของ villi ต่อสารอาหารต่างๆ จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ของร่างกายดีขึ้น (Frandson, 1992)



ภาพที่ 5 ลักษณะการเจริญของ villus ที่บริเวณลำไส้เล็ก

ที่มา: Crosnier *et al*. (2006)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักตัว และเครื่องชั่งน้ำหนักอาหาร

2. โรงเรือนเลี้ยงไก่ไข่ใช้เป็นโรงเรือนระบบปิด ควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ติดตั้งอยู่ด้านท้ายโรงเรือน มีการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ด้านข้างโรงเรือนติดผ้าม่านพลาสติกสีทึบ เพื่อลดรังสีความร้อนจากภายนอกเข้าสู่โรงเรือน

3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์และวัดค่าที่ศึกษาประกอบด้วย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของโภชนะต่าง ๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532)

3.2 เครื่อง pH meter รุ่น IQ 150 ซึ่งมีหัววัดเป็น micro probe รุ่น PH17-SS แสตนเลต เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.8 mm (IQ Scientific Instruments, Inc., Carlsbad, CA, USA) เพื่อวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

3.3 อุปกรณ์ผ่าตัดและเครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิตอล ความละเอียด 2 ตำแหน่ง เพื่อชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน อุปกรณ์ในการเจาะเลือด ประกอบด้วย กระบอกฉีดยาขนาด 10 ซีซี เข็มฉีดยาเบอร์ 23 หลอดทดลอง และกล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิล และลิมโฟซัยท์ โดยใช้สีย้อม Wright-Giemsa

3.4 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ ได้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ McConkey เพื่อตรวจนับเชื้อ *E. coli* อาหารเลี้ยงเชื้อ 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. และอุปกรณ์ในการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง และเครื่องนึ่งแรงดันฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) และ Anaerobic Jar สำหรับบ่มเชื้อ และอุปกรณ์จำเป็นอื่น ๆ สำหรับตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์

3.5 เครื่อง Centrifuge (TOMY model MX-301, TOMY Kogyo Co., Ltd., Japan) เพื่อปั่นเหวี่ยงของเหลวจากไส้ติ่ง และเครื่อง Gas Chromatography (GC 2010 Shimadzu Corporation CO., LTD.) เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย ในตัวอย่างอาหารจากไส้ติ่ง

3.6 อุปกรณ์ผ่าตัด สารละลาย Neutral Buffer Formalin 10% และสารละลาย Phosphate Buffer Saline เพื่อเก็บและเตรียมตัวอย่างลำไส้ อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อชั้น mucosa ในลำไส้ โดยตัดเนื้อเยื่อที่บริเวณลำไส้เล็ก ได้แก่ ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง และลำไส้เล็กส่วนท้าย ด้วยเครื่อง microtome ขนาดความหนา 5 ไมโครเมตร มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin และนำมาศึกษาลักษณะของความสูง villi ความลึกของ Crypt และอัตราส่วนความสูง villi ต่อความลึกของ crypt โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัทไทยจุลทรรศน์ จำกัด

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ของไก่ไข่

สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่พันธุ์ทางการค้า (พันธุ์ เฮชแอนด์เอ็น “บราวน์ นิกค์”) ที่กำลังให้ผลผลิต อายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 288 ตัว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยแบ่งไก่ไข่ออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 16 ตัว

การจัดการเลี้ยงดู

ไก่ไข่ถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) กรงที่ใช้เลี้ยงไก่ไข่เป็นกรงตับพื้นลวดขนาด 40 × 45 × 40

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เซนติเมตร ต่อกรง โดย 1 กรงใส่ไก่ไข่ จำนวน 4 ตัว มีพื้นที่ต่อตัว 450 ตารางเซนติเมตร มีรางอาหารอยู่ด้านหน้า ขนาดกว้าง 15 เซนติเมตร ลึก 10 เซนติเมตร และระบบให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวหยด (nipple) ไก่ไข่ได้รับอาหาร และน้ำแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลองเหมือนกันในทุกกลุ่ม และได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้เป็นสูตรอาหารทางการค้า เมื่อทำการวิเคราะห์ พบว่า มีระดับโปรตีน 17.24 % พลังงานรวม 3,414 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ไขมัน 3.67% เยื่อใย 3.61% แคลเซียม 4.34% และฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.38% โดยอาหารแต่ละกลุ่มมีการเสริม *Aspergillus* meal ในระดับต่างกัน ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารสูตรควบคุม (ไม่มีการเสริม *Aspergillus* meal)
กลุ่มที่ 2 อาหารสูตรควบคุม เสริมด้วย *Aspergillus* meal 0.10 % ในอาหาร
กลุ่มที่ 3 อาหารสูตรควบคุม เสริมด้วย *Aspergillus* meal 0.20 % ในอาหาร

การบันทึกข้อมูล

การทดลองจะแบ่งออกเป็น 4 ช่วง ๆ ละ 14 วัน โดยในแต่ละช่วง มีการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และจำนวนไก่ตาย เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณ อาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม และน้ำหนักฟองไข่ โดยวันสุดท้ายของแต่ละช่วงเวลา ทำการสุ่มไข่ซ้ำละ 4 ฟอง ชั่งน้ำหนักไข่ทั้งฟอง น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว วัดความหนาเปลือกไข่ และความสูงไข่ขาว เพื่อนำข้อมูลไปคำนวณหาค่า Haugh unit แล้วประมวลข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Duncan's new multiple range test ระดับนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS (Statistical Analysis System: SAS, 1988) ตามแบบหุ่นทางสถิติดังนี้

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร i

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

τ_i = อิทธิพลของระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร i โดย
i = 1 ไม่ได้เสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร
i = 2 เสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.1%
และ i = 3 เสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.2 %

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ i โดย $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0,\sigma^2)$

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และจุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหารของไก่ไข่

สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่พันธุ์ทางการค้า (พันธุ์ เฮชแอนด์เอ็น "บราวน์ นิกค์") ที่กำลังให้ผลผลิต อายุ 30 สัปดาห์ จำนวน 512 ตัว เป็นเวลา 20 สัปดาห์ โดยแบ่งไก่ไข่ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 8 ซ้ำ ๆ ละ 16 ตัว

การจัดการเลี้ยงดู

ไก่ไข่ถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) กรงที่ใช้เลี้ยงไก่ไข่เป็นกรงตับพื้นลวดขนาด 40 × 45 × 40 เซนติเมตรต่อกรง โดย 1 กรงใส่ไก่ไข่ จำนวน 4 ตัว มีพื้นที่ต่อตัว 450 ตารางเซนติเมตร มีราง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อาหารอยู่ด้านหน้า ขนาดกว้าง 15 เซนติเมตร ลึก 10 เซนติเมตร และระบบให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวหยด (nipple) ไก่ไข่ได้รับอาหารและน้ำแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลอง เหมือนกันในทุกกลุ่ม และได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้เป็นสูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet) ที่มีส่วนประกอบของอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 2ซึ่งคำนวณให้มีระดับโปรตีน 16% พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 2,750 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ไลซีน (lysine) 0.87% เมทไธโอนีน (Methionine) 0.42% และ เมทไธโอนีน+ซีสตีน (Methionine+Cysteine) 0.69% (ตารางที่ 3) อาหารแต่ละกลุ่มมีการเสริม *Aspergillus* meal ในระดับต่างกัน ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารสูตรควบคุม (ไม่มีการเสริม *Aspergillus* meal)
กลุ่มที่ 2 อาหารสูตรควบคุม เสริมด้วย *Aspergillus* meal 0.10 % ในอาหาร
กลุ่มที่ 3 อาหารสูตรควบคุม เสริมด้วย *Aspergillus* meal 0.20 % ในอาหาร
กลุ่มที่ 4 อาหารสูตรควบคุม เสริมด้วย *Aspergillus* meal 0.30 % ในอาหาร

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของอาหารทดลอง

ส่วนประกอบของอาหาร	**ปริมาณ (%)**
ข้าวโพด	55.56
กากถั่วเหลือง	13.18
รำสกัดน้ำมัน	1.31
กากถั่วเหลืองเต็มเมล็ด	17.50
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.15
โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต	1.65
แคลเซียมคาร์บอนเนต	9.93
เกลือ	0.24
พรีมิกซ์ [1]	0.50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หมายเหตุ [1] ส่วนประกอบ: วิตามินเอ 4.8 MIU วิตามินดี3 0.96 MIU วิตามินอี 3.20 IU วิตามินเค 3 0.8 กรัม วิตามินบี1 0.4 กรัม วิตามินบี2 1.60 กรัม วิตามินบี6 1.12 กรัม วิตามินบี12 0.004 กรัม ไบโอติน 0.036 กรัม กรดแพนโททินิก 3.76 กรัม กรดโฟลิก 0.20 กรัม ไนอะซิน 6 กรัม โคบอลต์ 0.13 กรัม คอปเปอร์ 2.4 กรัม เหล็ก 16 กรัม ไอโอดีน 0.016 กรัม แมงกานีส 24 กรัม สังกะสี 16 กรัม ซีลีเนียม 0.028 กรัม และสื่อเติมจนครบ 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางโภชนะ	**คำนวณ**	**วิเคราะห์** [1]
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	2,750.00	3292.66
โปรตีน (%)	16.00	16.95
ไขมัน (%)	5.30	6.46
แคลเซียม (%)	4.14	4.63
ฟอสฟอรัส (%)	0.70	0.51
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.40	-
เยื่อใย (%)	3.07	3.47
ไลซีน (%)	0.87	-
เมทไธโอนีน (%)	0.42	-

หมายเหตุ [1] วิเคราะห์โภชนะ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของAOAC (2000) วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม และฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์พลังงานรวมด้วยเครื่อง Bomb calorimeter แล้วนำค่ามาคำนวณ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

1. บันทึกสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 10 ช่วง ๆ ละ 14 วัน โดยในแต่ละช่วง มีการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และจำนวนไก่ตาย เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม และน้ำหนักฟองไข่ โดยวันสุดท้ายของแต่ละช่วงเวลา ทำการสุ่มไข่ซ้ำละ 4 ฟอง เพื่อชั่งน้ำหนักไข่ทั้งฟอง น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว วัดความหนาเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว และคำนวณหาค่า Haugh unit

2. บันทึกองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐาน โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้าของอาหารทดลอง ด้วยวิธี proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532)

3. ศึกษาอัตราส่วนของค่าเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มไก่ไข่ ซ้ำละ 2 ตัว รวมทั้งหมด 64 ตัวเพื่ออดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 12 ชั่วโมง นำเลือดที่เจาะได้มาหาอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ โดยนำตัวอย่างเลือดมาเสมียร์ลงบนกระจกสไลด์ ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ 15-20 นาที และทำการย้อมด้วยสี wrihgt-giemsa และนำมาหาอัตราส่วนเม็ดเลือด โดยการนับแยกชนิดเม็ดเลือดต่ออัตราส่วน 100 เซลล์ ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) โดยวิธีการดัดแปลงจาก Ritchie *et al*. (1994)

4. ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระบบทางเดินอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มไก่ไข่ ซ้ำละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 32 ตัว ฆ่าด้วยวิธี asphyxiation โดยใช้วิธี CO_2 เพื่อศึกษานิเวศวิทยาในระบบทางเดินอาหาร โดยแบ่งออกเป็นบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะพัก กระเพาะแท้ กระเพาะบด ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ลำไส้เล็กส่วนปลาย ไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่ ตามลำดับ โดยใช้เครื่อง pH meter และชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน คือ ตับ ม้าม ไขมันช่องท้อง ลำไส้เล็ก และระบบท่อนำไข่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวของทางเดินอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มไก่ไข่ ซ้ำละ 2 ตัว รวมทั้งหมด 64 ตัว ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง และลำไส้เล็กส่วนท้าย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ villi และ crypt โดยการชะล้างเนื้อเยื่อด้วย phosphate buffer saline จากนั้นแช่ลงใน Neutral Buffer Formalin 10% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปฏิบัติตามขั้นตอนทาง histology technique โดยตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวของทางเดินอาหาร โดยวัดความสูง villi ความลึกของ crypt และอัตราส่วนความสูงของ villi ต่อความลึกของ crypt ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1996) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัทไทยจุลทรรศน์จำกัด

6. ศึกษาปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการสุ่มไก่ไข่ซ้ำละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 32 ตัว เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้น โดยใช้ตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง ผสม HCl 6 N. อัตราส่วน 5 ต่อ 1 เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อเก็บตัวอย่างส่วนใส จากนั้นทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงก่อนนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 14,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จึงนำตัวอย่างส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย คือ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก ด้วยเครื่อง gas chromatography ตามวิธีของ Biagi *et al*. (2006)

7. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มไก่ไข่ซ้ำละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 32 ตัว เพื่อศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง โดยใช้ตัวอย่างจากไส้ติ่งต่อสารละลาย peptone 1% อัตราส่วน 1:9 ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

7.1 หาปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *Lactobacillus* spp. ด้วย de Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน anaerobic jar ตามวิธีของ Baigi *et al.* (2006)

7.2 หาปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil.* โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Baigi *et al.* (2006)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.3 หาปริมาณจุลินทรีย์ ในกลุ่ม *Salmonella* spp. โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis Soya PeptoneBroth (RVS) บ่มที่อุณหภูมิ 42.5 องศาเซลเซียส และ Tetrathionate Broth (TTB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำไปเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำเพาะได้แก่ Xylose lysine deoxycholate (XLD) และ Hektoen enteric (HE) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดเวลานำมาอ่านค่าและบันทึกข้อมูลเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณเชื้อตามวิธี MPN (Most Propable number) ตามวิธีของ ไพโรจน์ (2545)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan's new multiple range test ระดับนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS (Statistical Analysis System: SAS, 1988) ตามแบบหุ่นทางสถิติ ดังนี้

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร i

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

τ_i = อิทธิพลของระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร i โดย

i = 1 ไม่ได้เสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร

i = 2 เสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.1%

i = 3 เสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.2 %

และ i = 4 เสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.3 %

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ i โดย $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0,\sigma^2)$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มไก่หลวงสุวรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

2. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

3. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองครั้งที่ 1 ในช่วงเดือนตุลาคม 2550-ธันวาคม 2550
การทดลองครั้งที่ 2 ในช่วงเดือนกรกฎาคม 2551-ธันวาคม 2551

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่ ในไก่ไข่

1. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต

1.1 ผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่

ผลการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% ในอาหารต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ พบว่า แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดยการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0% (กลุ่มควบคุม), 0.10% และ 0.20% ในอาหาร ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่มีค่าเท่ากับ 93.92, 94.16 และ 95.44 ส่วนน้ำหนักไข่มีค่าเท่ากับ 64.11, 64.42 และ 65.04 กรัม ตามลำดับ และการเสริม *Aspergillus* meal ไม่มีผลต่อมวลไข่ โดยการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% ส่งผลให้มวลไข่มีค่าเท่ากับ 60.66 และ 62.07 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่า 60.22 ดังแสดงในตารางที่ 4

แม้การเสริม *Aspergillus* meal ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ ซึ่งสอดคล้องกับ Cristina and Pop (n.d.) ที่ทำการเสริมพรีไบโอติกชนิดแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 1 % ในอาหาร พบว่า ไม่มีผลต่อผลผลิตไข่ และมวลไข่ แต่จากผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ ในกลุ่มที่เสริม *Aspergillus* meal เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อาจเป็นผลมาจากพรีไบโอติกเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ จึงมีส่วนช่วยเพิ่มสมดุลของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ส่งผลให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโภชนะได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Mokslai, 2006) สอดคล้องกับการศึกษาของ Harms and Mile (1988) รายงานว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ร่วมกับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนช่วยปรับปรุงเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Waldroup *et al.* (1972) ที่เสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.075% ในสูตรอาหารที่มีกากถั่วเหลืองที่เติมปลาป่น 5% ในไก่ไข่พันธุ์ อายุ 30 สัปดาห์ เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ช่วยเพิ่มจำนวนของไข่พันธุ์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเสริม *Aspergillus* meal ร่วมกับกากถั่วเหลือง และปลาป่น ในสูตรอาหาร ทำให้ในสูตรอาหารมีโปรตีนเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่ได้เติม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 ผลต่อปริมาณการกินอาหาร

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหารของไก่ไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) ซึ่งการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.10% และ 0.20% ส่งผลให้ปริมาณการกินอาหารมีค่าเท่ากับ 122.65 และ 122.88 กรัมต่อตัวต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 124.70 กรัมต่อตัวต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4

แม้การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับ Salamkhan *et al*. (2000) ที่พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% ในอาหาร ไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหารของไก่กระทง แต่จากการทดลอง พบว่า ปริมาณการกินอาหารในกลุ่มที่เสริม *Aspergillus* meal ลดลง อาจเป็นผลมาจากพรีไบโอติกจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดจับกันด้วยพันธะ β-glycosidic linkage ซึ่งมีทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ (Choct and Kocker, 2002) พรีไบโอติกที่ละลายน้ำไม่ได้ จะถูกหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ (Mroz *et al*., 2000) ทำให้เกิดแก๊ส และเกิดการบวมพองของลำไส้ ทำให้การกินอาหารของสัตว์ลดลง (Asano *et al*., 1977) หรืออาจมีสาเหตุจากผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักย่อยพรีไบโอติก เช่น กรดบิวทีริกมีผลไปกระตุ้นการหลั่งของเอนไซม์ glucagon like peptide 1 (GLP1) จากลำไส้ให้เข้าสู่กระแสเลือด แล้วส่งผลกระตุ้นการทำงานของสมองในส่วนรับรู้การอิ่ม (Roberfroid, 2008) จึงทำให้ปริมาณการกินอาหารของสัตว์ลดลง

1.3 ผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.20% ส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม มีค่าเท่ากับ 1.98 ซึ่งดีกว่ากลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 2.07 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P=0.01) แต่ไม่แตกต่างจากการเสริมที่ระดับ 0.10% ที่มีค่าเท่ากับ 2.02 ดังแสดงในตารางที่ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)			P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	
เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่	93.92 ± 1.97	94.16 ± 2.86	95.44 ± 1.56	0.46
น้ำหนักไข่ (กรัม)	64.11± 0.39	64.42 ± 0.39	65.04 ± 0.37	0.25
มวลไข่	60.22 ± 1.70	60.66 ± 2.32	62.07 ±1.27	0.22
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	124.70 ± 3.60	122.65 ± 4.70	122.88 ± 3.43	0.62
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม	2.07 ± 0.04 ^{A}	2.02 ± 0.06 ^{AB}	1.98 ± 0.03 ^{B}	0.01

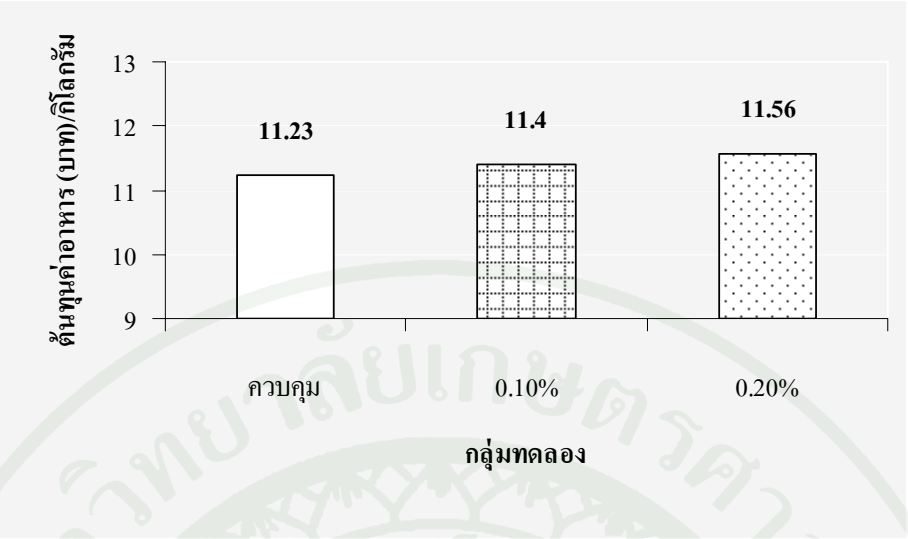
หมายเหตุ $^{A \text{ และ } B}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)
ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% ส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องจาก *Aspergillus* meal จัดเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ และมี mycelial fiber ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร จึงช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารอาหาร (Mamick, 1993; Tangendjaja, 1993) ส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพื่อเปลี่ยนเป็นผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับ Salamkhan *et al*. (2000) พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.20% ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับ Potter (1972) ที่ศึกษาการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารไก่งวง ทั้งเพศผู้และเพศเมีย เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร และสมรรถภาพการผลิต

1.4 ผลต่อต้นทุนค่าอาหารและต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

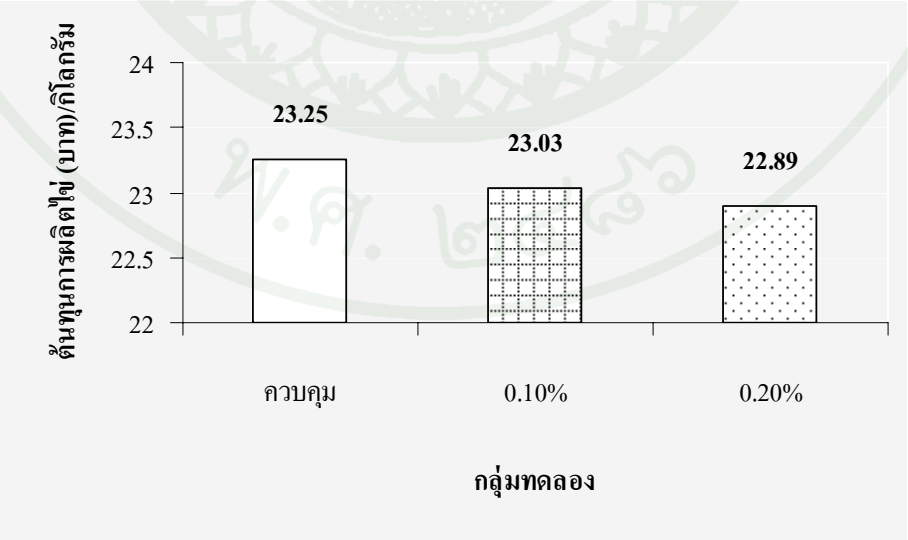
ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ต่อราคาต้นทุนอาหาร พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% มีราคาต้นทุนค่าอาหารเท่ากับ 11.4 และ 11.56 บาทต่อกิโลกรัม และในกลุ่มควบคุมมีราคาต่ำสุดเท่ากับ 11.23 บาทต่อกิโลกรัม ดังแสดงในภาพที่ 6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ต้นทุนค่าอาหารทดลองต่อกิโลกรัม

เมื่อคิดคำนวณต้นทุนการผลิตไข่ต่อกิโลกรัม พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% มีต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม เท่ากับ 23.03 และ 22.89 บาท ต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าสูงสุดซึ่งเท่ากับ 23.25 บาทต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 7) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ส่งผลให้สัตว์มีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น (Mamick, 1993; Tangendjaja, 1993) เนื่องจากช่วยปรับปรุงอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม จึงทำให้ต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์



ภาพที่ 7 ต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่

การเสริม *Aspergillus* Meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ในส่วนของ น้ำหนักไข่ขาว ค่า Haugh Unit น้ำหนักไข่แดง สีของไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ และความหนาของเปลือกไข่ (P>0.05) และเมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักไข่ พบว่าการเสริม *Aspergillus* Meal ไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ไข่ขาว เปอร์เซ็นต์ไข่แดง และเปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญของสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 5

จากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* Meal ไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ สอดคล้องกับ Chen *et al.* (2005) ที่ศึกษาการเสริมพรีไบโอติกชนิดโอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose) ที่ระดับ 1% และอินนูลิน ที่ระดับ 1% ในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่มีผลต่อคุณภาพไข่ (P>0.05) เช่นเดียวกับ Grimes *et al*. (1997) พบว่า การเสริม *Aspergillus* Meal ที่ระดับ 0.2% ในอาหารไก่ไข่ ไม่มีผลต่อน้ำหนักเปลือกไข่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แม้ว่าพรีไบโอติกจะสามารถใช้เป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร เพราะมีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Tomasik and Tomasik, 2003) แต่กลับไม่มีผลต่อคุณภาพของไข่ อาจเนื่องจากปัจจัยทางด้านสุขภาพ ด้านประสิทธิภาพการใช้อาหาร และความสามารถในการดูดซึมและใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุในตัวสัตว์เอง (Chen *et al.,* 2005)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)			P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	
น้ำหนักไข่ขาว (กรัม)	42.75 ± 0.42	42.83 ± 0.57	43.01 ± 0.40	0.92
เปอร์เซ็นต์ไข่ขาว	66.67 ± 0.40	66.44 ± 0.68	66.11 ± 0.39	0.73
ความสูงไข่ขาว (มิลลิเมตร)	6.58 ± 0.06	6.73 ± 0.18	6.85 ± 0.13	0.39
ค่า Haugh unit	79.25 ± 0.50	79.92 ± 1.06	80.78 ± 0.83	0.45
น้ำหนักไข่แดง (กรัม)	15.03 ± 0.24	15.30 ± 0.46	15.63 ± 0.19	0.42
เปอร์เซ็นต์ไข่แดง	23.45 ± 0.40	24.48 ± 0.17	24.05 ± 0.32	0.09
สีไข่แดง	10.89 ± 0.14	10.76 ± 0.30	10.04 ± 0.10	0.63
น้ำหนักเปลือกไข่ (กรัม)	6.33 ± 0.03	6.29 ± 0.07	6.40 ± 0.06	0.41
เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่	9.88 ± 0.05	9.77 ± 0.14	9.84 ± 0.08	0.73
ความหนาเปลือกไข่ (มิลลิเมตร×100)	40.90 ± 0.30	40.42 ± 0.61	40.59 ± 0.40	0.75

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ ในทางเดินอาหารของไก่ไข่

1. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต

1.1 ผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่

ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ พบว่าการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.10%, 0.20% และ 0.30% ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่มีค่าเท่ากับ 90.81, 91.12 และ 91.53 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (91.11) เช่นเดียวกับน้ำหนักไข่ที่มีค่าเท่ากับ 64.42, 64.24 และ 64.52 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (64.66 กรัม) นอกจากนี้การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารยังไม่ส่งผลต่อมวลไข่ ซึ่งการเสริม *Aspergillus* meal ส่งผลให้มวลไข่มีค่าเท่ากับ 58.78, 58.77 และ 58.59 ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 58.55 สอดคล้องกับ Grimes *et al*. (1997) รายงานว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% ในอาหารไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ เช่นเดียวกับ Yildiz *et al*. (2006) ที่ศึกษาการเสริมเยรูซาเล็ม อาร์ติโชค ซึ่งเป็นพรีไบโอติกชนิดหนึ่งในอาหารไก่ไข่ พบว่า ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ และ Daneshyar *et al*. (n.d.) ทำการเสริมโปรไบโอติกในอาหาร พบว่า ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ และมวลไข่ แม้มีรายงานว่าการเสริมพรีไบโอติกในอาหารทำให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้น เพราะพรีไบโอติกเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Mokslai, 2006) แต่เป็นเพียงประโยชน์ทางอ้อมเท่านั้น เนื่องจากต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เข้ามามีส่วนช่วยในการใช้ประโยชน์จากโภชนะ (Mokslai, 2006) ในขณะที่อาหาร พันธุกรรม และการจัดการ เป็นปัจจัยโดยตรงที่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต (สาโรช, 2547) มากกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ 1 ที่เสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% ในอาหาร พบว่าไม่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามหากเปรียบเทียบการทดลองทั้งสอง พบว่า เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ และมวลไข่ของการทดลองที่ 1 มีค่าสูงกว่าการทดลองนี้ อาจเนื่องจากในสูตรอาหารมีระดับโปรตีน และพลังงานรวมสูงกว่า จึงส่งผลทำให้สมรรถภาพการผลิตดีกว่า

1.2 ผลต่อปริมาณการกินอาหาร

ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อปริมาณการกินอาหาร พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ส่งผลให้ปริมาณการกินอาหารของไก่ไข่มีค่าเท่ากับ 110.32, 110.45 และ109.46 กรัมต่อตัวต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่า 109.97 กรัมต่อตัวต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 6

การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ในอาหาร ไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร อาจเนื่องจากระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของสัตว์เป็นตัวควบคุมปริมาณการกินอาหาร (อุทัย, 2529) สอดคล้องกับการศึกษาของ Navidshad *et al*. (2010) ที่ศึกษาการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0%, 0.15% และ 0.30% ในอาหารไก่กระทง พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร แต่ขัดแย้งกับ Kim *et al*. (2003) ที่พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ช่วยปรับปรุงปริมาณการกินอาหาร และปริมาณน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในไก่กระทงได้ อาจเป็นผลมาจากการเสริมพรีไบโอติกมีผลไปกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ซึ่งมีผลต่อการทำงานของระบบทางเดินอาหาร โดยเป็นบริเวณที่มีการเคลื่อนที่ การย่อยอาหาร และดูดซึมอาหาร (Mahdavi *et al*., 2005) จึงทำให้สัตว์กินอาหารได้เพิ่มขึ้น

จากการทดลองสอดคล้องกับการทดลองครั้งที่ 1 ที่เสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% และ 0.20% พบว่า ไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร แม้ว่าการทดลองนี้จะมีค่าปริมาณการกินอาหารระหว่าง 109.46-110.45 กรัมต่อตัวต่อวัน ซึ่งต่ำกว่าการทดลองที่ 1 ที่มีค่าระหว่าง 122.65-124.70 กรัมต่อตัวต่อวัน อาจเนื่องจากอาหารทดลองเป็นอาหารผงบดละเอียด ทำให้มีลักษณะฟ่าม เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ 1 ที่อาหารเป็นแบบบดหยาบ ดังนั้นเมื่อสัตว์กินจน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เต็มทางเดินอาหาร จะทำให้ระบบทางเดินอาหารเกิดการขยายตัว ส่งผลให้ไปกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ จึงมีคำสั่งให้หยุดกิน (สาโรช, 2547) ดังนั้นสัตว์จึงกินอาหารได้น้อยลง

1.3 ผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ($P>0.05$) โดยการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% และ 0.30% ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.85 และ 1.84 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% ที่มีค่าเท่ากับ 1.86 ดังแสดงในตารางที่ 6

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม สอดคล้องกับ Navidshad *et al*. (2010) ที่ศึกษาการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารไก่กระทง พบว่า ไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว อย่างไรก็ตามการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% และ 0.30% ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลงเล็กน้อย สอดคล้องกับการทดลองที่ 1 ที่พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารที่ระดับ 0.20% ในอาหาร ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ อาจเนื่องจากการเสริม *Aspergillus* meal ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Mamick, 1993; Tangendjaja, 1993) และระยะเวลาการเคลื่อนที่ของอาหารในระบบทางเดินอาหาร (Grimes *et al*., 1997) จึงทำให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต

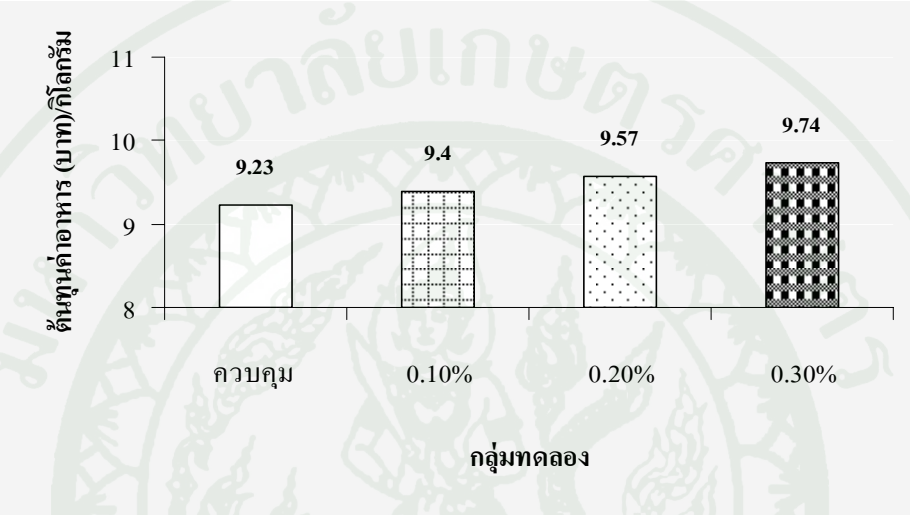
ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่	90.81 ± 1.73	91.12 ± 1.76	91.53 ± 1.68	91.11 ± 1.96	0.88
น้ำหนักไข่ (กรัม)	64.66 ± 0.82	64.42 ± 0.54	64.24 ± 1.13	64.52 ± 0.80	0.80
มวลไข่	58.55 ± 1.12	58.78 ±1.21	58.77 ± 1.72	58.59 ± 1.32	0.98
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	109.97 ± 2.64	110.32 ± 1.58	110.45 ± 2.31	109.46 ± 1.40	0.76
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม	1.86 ± 0.03	1.86 ± 0.02	1.85 ± 0.04	1.84 ± 0.04	0.64

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

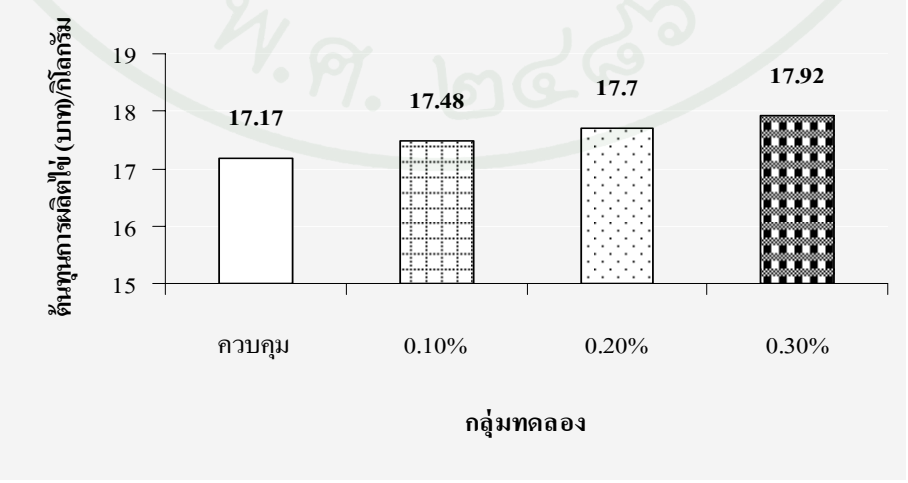
1.4 ผลต่อต้นทุนค่าอาหารและต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

การเสริม *Aspergillus* Meal ในอาหารที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ส่งผลให้มีต้นทุนค่าอาหารเท่ากับ 9.40, 9.57 และ 9.74 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าต่ำที่สุดซึ่งเท่ากับ 9.23 บาทต่อกิโลกรัม ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ต้นทุนค่าอาหารทดลองต่อกิโลกรัม

เมื่อนำข้อมูลมาคำนวณค่าต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม พบว่า ในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 17.17 บาทต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ในขณะที่กลุ่มที่เสริม *Aspergillus* Meal ในอาหารที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม เพิ่มขึ้นเท่ากับ 17.48, 17.70 และ 17.92 บาทต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* Meal ในอาหาร จะไม่สามารถลดราคาต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัมได้ เนื่องจากการเสริม *Aspergillus* Meal ทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณการกินอาหาร เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่กลับในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริม *Aspergillus* Meal ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม จึงเพิ่มขึ้นด้วย

2. ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่

การเสริม *Aspergillus* Meal ที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีของไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ และความหนาของเปลือกไข่ ($P>0.05$) และเมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักไข่ทั้งฟอง พบว่าไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ไข่ขาว เปอร์เซ็นต์ไข่แดง และเปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญของสถิติ ($P>0.05$) แต่เพิ่มความสูงไข่ขาว และค่า Haugh Unit อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยการเสริม *Aspergillus* Meal ที่ระดับ 0.10% 0.20% และ 0.30% ส่งผลให้ความสูงไข่ขาวมีค่าเท่ากับ 6.82, 6.79 และ 6.74 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.60 มิลลิเมตร และค่า Haugh Unit มีค่าเท่ากับ 80.84, 80.77 และ 80.33 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 79.23 ดังแสดงในตารางที่ 7

เปลือกไข่ ไข่ขาว และไข่แดง บ่งบอกคุณภาพของไข่ไก่ (Kul and Seker, 2004) จากการทดลองการเสริม *Aspergillus* Meal มีผลดีต่อค่าความสูงไข่ขาว และค่า Haugh Unit ซึ่งลักษณะทั้งสองนี้มีความสัมพันธ์กันโดยตรง ดังนั้นความสูงไข่ขาวที่เพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า Haugh Unit เพิ่มสูงขึ้นด้วย (Cieck and Kartalkanat, 2009) ค่า Haugh Unit เป็นค่าที่ใช้วัดคุณภาพของไข่ขาว แสดงถึงความสดใหม่ของไข่ (Keener *et al*., 2005) และไข่ที่ถูกเก็บไว้นานจะทำให้ความสูงของไข่ขาวลดลง (Toussant and Latshow, 1999) การที่ *Aspergillus* Meal ส่งผลดีต่อความสูงไข่ขาว และค่า Haugh Unit อาจเนื่องจากการเสริม *Aspergillus* Meal ช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย ซึ่งถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ที่เซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณลำไส้ (Pluske *et al*., 1997) จึงช่วยเพิ่มความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และส่งผลให้อัตราส่วนความสูงของ villi ต่อความลึกของ crypt มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นพื้นที่ผิวสัมผัสของเซลล์ villi ต่อสารอาหารต่างๆ เพิ่มขึ้น จึงมีส่วนช่วยเพิ่มการดูดซึมของแร่ธาตุในระบบทางเดินอาหาร(Cieck and Kartalkanat, 2009) ส่งผลให้ความสูงไข่ขาว และค่า Haugh Unit เพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แม้การเสริม *Aspergillus* Meal ส่งผลทำให้ความสูงไข่ขาว และค่า Haugh Unit เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักไข่แดง และเปอร์เซ็นต์ไข่แดง เนื่องจากการสะสมไข่แดงได้มาจากปริมาณอาหารที่ไก่กินเข้าไป โดยสารอาหารจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างสารไข่แดงที่ตับ แล้วถูกลำเลียงมาเก็บสะสมที่กระเปราะไข่บริเวณรังไข่ (Sturkie, 1986) และเมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณอาหารที่ไก่กิน พบว่าไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่เสริม *Aspergillus* Meal ในอาหาร และกลุ่มควบคุม จึงไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่แดง และเปอร์เซ็นต์ไข่แดง เช่นเดียวกับสีของไข่แดงในกลุ่มที่เสริม *Aspergillus* Meal ในอาหาร และกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน เนื่องจากกลไกการเกิดสีของไข่แดงจะต้องมีรงควัตถุชนิดแซนโทรฟิลล์ (xanthophyll) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งได้รับมาจากอาหาร โดยรงควัตถุชนิดแซนโทรฟิลล์มีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการเกิดสีของไข่แดง เพราะโมเลกุลของแซนโทรฟิลล์ประกอบด้วย ออกซิเจน ไฮดรอกซี (hydroxy) คีโตน (ketone) และเอสเทอร์ (ester) โดยโมเลกุลต่างๆ เหล่านี้ จะทำหน้าที่เป็นหมู่อะตอมที่แสดงสมบัติเฉพาะ เพื่อให้เกิดสีในไข่แดง (Fox and Vevers, 1960) และในสูตรอาหารของไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีข้าวโพดเป็นส่วนประกอบในปริมาณที่เท่ากัน ไก่ไข่จึงได้รับแหล่งของเบต้าแคโรทีน (β-carotene) ซึ่งเป็นสารสีที่มีอยู่ในข้าวโพด (Idstein *et al*., 1985) เท่ากัน สีของไข่แดงจึงไม่มีความแตกต่างกัน

จากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* Meal ไม่มีผลต่อน้ำหนักเปลือกไข่ เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ และความหนาเปลือกไข่ สอดคล้องกับรายงานของ Grimes *et al*. (1997) พบว่า การเสริม *Aspergillus* Meal ที่ระดับ 0.2% ในอาหารไก่ไข่ไม่มีผลต่อน้ำหนักเปลือกไข่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chen and Chen (2004) ที่เสริมพรีไบโอติกชนิดโอลิโกฟรุคโตส และอินนูลิน พบว่า ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปลือกไข่ แม้พรีไบโอติกมีส่วนช่วยในในการละลาย และดูดซึมแคลเซียม ซึ่งเกิดจากกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ผลิตขึ้น มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารต่ำลง จึงช่วยในการละลายและดูดซึมแคลเซียมและแร่ธาตุอื่นๆ ที่บริเวณลำไส้ใหญ่ได้ (Scholz-Ahrens and Schrezenmeir, 2002) แต่เนื่องจากแคลเซียมที่สะสมในเปลือกไข่ถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็ก (Boltumelo, 2004) ดังนั้นการเสริม *Aspergillus* Meal จึงไม่ส่งผลต่อคุณภาพของเปลือกไข่ในทุกกลุ่มการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อคุณภาพไข่

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
น้ำหนักไข่ขาว (กรัม)	42.81 ± 0.73	42.64 ± 0.37	42.05 ± 1.61	42.72 ± 0.73	0.41
เปอร์เซ็นต์ไข่ขาว	66.19 ± 0.38	66.19 ± 0.30	65.46 ± 1.57	66.20 ± 0.51	0.25
ความสูงไข่ขาว (มิลลิเมตร)	6.60 ± 0.10^{B}	6.82 ± 0.09^{A}	6.79 ± 0.14^{A}	6.74 ± 0.08^{A}	< 0.01
ค่า Haugh unit	79.23 ± 0.68^{B}	80.84 ± 0.59^{A}	80.77 ± 0.79^{A}	80.33 ± 0.57^{A}	< 0.01
น้ำหนักไข่แดง (กรัม)	15.57 ± 0.20	15.51 ± 0.20	15.89 ± 0.86	15.49 ± 0.25	0.31
เปอร์เซ็นต์ไข่แดง	24.10 ± 0.28	24.08 ± 0.21	24.73 ± 1.57	24.01 ± 0.40	0.29
สีไข่แดง	8.00 ± 0.15	7.97 ± 0.12	7.86 ± 0.19	7.79 ± 0.20	0.08
น้ำหนักเปลือกไข่ (กรัม)	6.27 ± 0.08	6.27 ± 0.10	6.32 ± 0.10	6.31 ± 0.12	0.62
เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่	9.71 ± 0.16	9.73 ± 0.13	9.84 ± 0.12	9.79 ± 0.15	0.07
ความหนาเปลือกไข่ (มิลลิเมตร×100)	43.50 ± 0.64	43.54 ± 0.38	44.13 ± 0.37	43.78 ± 0.60	0.27

หมายเหตุ $^{A \text{ และ } B}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อความยาวลำไส้เล็ก และท่อนำไข่

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อความยาวลำไส้เล็ก และท่อนำไข่ที่บริเวณอินฟันดิบูลัม แมกนัม อิสมัส เชลล์แกลน และวาจินา พบว่า แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 8

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่มีผลต่อความยาวลำไส้เล็ก อาจเนื่องจากปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความยาวลำไส้เล็ก คือ อายุของสัตว์ (Belyavin *et al*., 1987) และสายพันธุ์ของสัตว์ (Isshiki *et al*., 1992) ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นความยาวลำไส้เล็กในทุกกลุ่มการทดลองจึงไม่ต่างกัน สอดคล้องกับการทดลองของ Navidshad *et al*. (2010) พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อความยาวลำไส้เล็กของไก่กระทง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม Trevino *et al*. (1990) รายงานว่า การเสริมสารในกลุ่มพรีไบโอติก ทำให้ความยาวของลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้น อาจเกิดจากกระบวนการหมักย่อยพรีไบโอติกโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ทำให้เกิดกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย โดยเฉพาะกรดบิวทีริก ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำคัญของเซลล์เยื่อบุผนังที่บริเวณลำไส้ใหญ่ (Chesson, 1993) จึงช่วยในการเจริญเติบโต และแบ่งเซลล์ของเซลล์เยื่อบุผนังบริเวณลำไส้ใหญ่ (Scholz-Ahren *et al*., 2007)

นอกจากนี้พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่มีผลต่อความยาวของระบบท่อนำไข่ที่บริเวณ อินฟันดิบูลัม แมกนัม อิสมัส เชลล์แกลน และวาจินา อาจเนื่องจากระบบสืบพันธุ์ของไก่ไข่มีการเจริญ และพัฒนาเต็มที่แล้วก่อนการให้ไข่ครั้งแรก ดังนั้นการเสริม *Aspergillus* meal จึงไม่ส่งผลต่อความยาวของท่อนำไข่

4. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารไม่ส่งผลต่อน้ำหนักตับ ม้าม ไขมันช่องท้อง ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ลำไส้เล็กส่วนท้าย และท่อนำไข่ที่บริเวณอินฟันดิบูลัม แมกนัม อิสมัส เชลล์แกลน และวาจินา เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 9

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายในเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักตัว อาจเนื่องจากการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อเรียบ และกล้ามเนื้อลายของอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของสัตว์ ซึ่งมีการพัฒนาอย่างเต็มที่ก่อนแล้ว จึงเป็นผลให้ไก่มีน้ำหนักอวัยวะภายในไม่แตกต่างกัน (Tan *et al*., 1999) สอดคล้องกับ Navidshad *et al*. (2010) พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารไม่มีผลต่อน้ำหนักตับ และน้ำหนักลำไส้เล็กของไก่กระทง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับ Piray *et al*. (2007) ที่ศึกษาอิทธิพลของการเสริมโปรไบโอติก ที่ระดับ 0, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำดื่ม ร่วมกับการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0% 0.15% และ 0.30% ในอาหาร พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักหัวใจ น้ำหนักตับ น้ำหนักตับอ่อน น้ำหนักกึ๋น น้ำหนักม้าม และน้ำหนักต่อมเบอร์ซ่า เช่นเดียวกับ Mohammad *et al*. (2010) และ Khaksar *et al*. (2008) พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตับ น้ำหนักหัวใจ น้ำหนักไส้ติ่ง น้ำหนักระบบทางเดินอาหาร และน้ำหนักไขมันช่องท้องในไก่กระทง

อย่างไรก็ตาม Navidshad *et al*. (2010) พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.30% ในอาหาร ช่วยลดเปอร์เซ็นต์น้ำหนักไขมันช่องท้อง เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถหมักย่อย พรีไบโอติกจนได้กรดโพรพิโอนิก ซึ่งเป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายชนิดหนึ่ง ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สังเคราะห์กรดไขมัน เช่น fatty acid synthase mRNA จึงทำให้การสังเคราะห์กรดไขมันลดลง (Delzenne *et al*., 2002) หรืออาจมาจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์โดยตรง เช่น จุลินทรีย์ *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ Bile Salt Hydrolase (BSH) ทำให้น้ำดีแตกตัวออกเป็นกรดน้ำดีอิสระ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการละลายไขมันลดลง เพราะกรดน้ำดีอิสระมีประสิทธิภาพการละลายไขมันต่ำกว่าน้ำดี นอกจากนี้กรดน้ำดีอิสระส่วนใหญ่ยังถูกขับออกจากร่างกายไปพร้อมกับมูล จึงมีการนำคลอเลสเตอรอลมาใช้ในการสังเคราะห์น้ำดีขึ้นมาใหม่ ทำให้ระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Corzo and Gilliland, 1999; Bertazzori *et al*., 2001; Djovinov *et al*., 2005; Begley *et al*., 2006)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อความยาวของอวัยวะของไก่ไข่

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
ความยาวลำไส้เล็ก (เซนติเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	26.96 ± 1.73	28.94 ± 3.89	27.06 ± 2.88	26.06 ± 3.19	0.30
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	71.00 ± 20.05	62.31 ± 10.20	67.13 ± 5.54	60.19 ± 5.78	0.29
ลำไส้เล็กส่วนท้าย	63.81 ± 6.90	63.63 ± 8.24	63.81 ± 5.19	60.31 ± 3.90	0.29
ความยาวท่อนำไข่ (เซนติเมตร)					
อินฟันดิบูลัม	13.30 ± 2.32	14.09 ± 2.52	13.84 ± 2.73	12.52 ± 3.52	0.69
แมกนัม	37.94 ± 2.51	37.05 ± 4.09	36.90 ± 3.60	38.44 ± 2.53	0.75
อิสมัส	10.85 ± 1.70	9.79 ± 1.41	10.04 ± 2.25	9.43 ± 1.16	0.39
เชลล์แกลน	7.90 ± 0.89	8.73 ± 0.90	7.61 ± 0.98	8.40 ± 0.73	0.08
วาจินา	5.44 ± 3.23	6.24 ± 1.54	7.39 ± 2.16	5.69 ± 0.53	0.28

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อน้ำหนักของอวัยวะของไก่ไข่ (% น้ำหนักตัว)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
ตับ	2.22 ± 0.26	2.16 ± 0.20	2.03 ± 0.19	2.15 ± 0.21	0.12
ม้าม	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.22	0.57
ไขมันช่องท้อง	4.27 ± 0.89	3.94 ± 0.99	4.30 ± 1.23	4.49 ± 1.28	0.57
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.54 ± 0.09	0.56 ± 0.09	0.52 ± 0.05	0.51 ± 0.11	0.68
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	0.89 ± 0.23	0.76 ± 0.15	0.75 ± 0.17	0.72 ± 0.11	0.22
ลำไส้เล็กส่วนท้าย	0.60 ± 0.10	0.55 ± 0.11	0.60 ± 0.13	0.57 ± 0.09	0.74
อินฟันดิบูลัม	0.14 ± 0.05	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.80
แมกนัม	1.98 ± 0.69	1.61 ± 0.21	1.53 ± 0.30	1.90 ± 0.32	0.11
อิสมัส	0.33 ± 0.05	0.28 ± 0.03	0.30 ± 0.07	0.29 ± 0.04	0.25
เชลล์แกลน	1.22 ± 0.20	1.11 ± 0.07	1.14 ± 0.12	1.16 ± 0.22	0.65
วาจินา	0.35 ± 0.12	0.47 ± 0.10	0.47 ± 0.06	0.40 ± 0.10	0.14

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายในไส้ติ่งของไก่ไข่

การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารที่บริเวณกระเพาะพัก กระเพาะแท้ กึ๋น ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ลำไส้เล็กส่วนท้าย ไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ทำให้ปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10

เนื่องจากพรีไบโอติกมีคุณสมบัติเป็นแหล่งคาร์บอนจำเพาะ จึงถูกนำมาใช้เป็นอาหารและหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร (Monsan and Paul, 1995) ซึ่งการหมักของจุลินทรีย์พบมากที่สุดบริเวณไส้ติ่ง (Jensen and Jørgensen, 1994) เมื่อเกิดการหมักย่อยจะได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก ที่มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต (Gibson and Wang, 1994) และเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเยื่อบุผิวบริเวณลำไส้ (Robassa and Roger, 1992) อีกทั้งกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่ผลิตขึ้นยังทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารลดลง (Mroz, 2000) อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* (ตารางที่ 10) ขณะที่ปริมาณของกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายสูงขึ้น อาจเนื่องจากในระบบทางเดินอาหารมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์อาศัยอยู่หลายชนิด ดังนั้นปริมาณของกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่เพิ่มสูงขึ้น อาจมาจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ชนิดอื่นนอกจาก *Lactobacillus* นอกจากนี้ยังพบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร อาจเนื่องจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์สามารถรักษาสมดุลค่าความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ตลอดเวลา (Varel and Pond, 1985) โดยการหลั่งเยื่อเมือก และไบคาร์บอเนตออกมาเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบทางเดินอาหารให้มีสภาพที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และช่วยป้องกันเยื่อบุลำไส้จากการย่อยของเอนไซม์ (ชัยวัฒน์, 2541) หรืออาจเกิดจากกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่ผลิตขึ้น ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ที่เซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณลำไส้ เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานให้กับจุลินทรีย์และตัวสัตว์เอง (Pluske *et al*., 1997) ซึ่งปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ และเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์เยื่อบุลำไส้ ขณะที่บางส่วนจะถูกขับออก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทางอุจจาระ ปัสสาวะ และลมหายใจ (Gibson and Roberfroid, 1995; Eliotand and Shronts, 1992) จึงไม่ส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง สอดคล้องกับโสมรพีย์ (2550) พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตซึ่งเป็นพรีไบโอติกชนิดหนึ่งไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหาร ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายในไส้ติ่งของไก่ไข่

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร					
กระเพาะพัก	4.75 ± 0.50	4.46 ± 0.73	4.80 ± 0.39	4.45 ± 1.05	0.59
กระเพาะแท้	3.88 ± 0.71	3.96 ± 1.24	4.31 ± 0.84	3.80 ± 1.22	0.76
กระเพาะบด	3.61 ± 0.80	3.48 ± 1.09	4.15 ± 0.37	3.44 ± 1.06	0.35
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.98 ± 0.28	6.00 ± 0.11	6.04 ± 0.13	5.91 ± 0.33	0.74
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.01 ± 0.20	6.00 ± 0.30	6.01 ± 0.12	5.91 ± 0.32	0.83
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	6.89 ± 0.75	6.96 ± 0.53	7.09 ± 0.64	6.53 ± 0.81	0.42
ไส้ติ่ง	6.16 ± 0.41	6.05 ± 0.48	5.96 ± 0.42	5.95 ± 0.61	0.81
ลำไส้ใหญ่	6.68 ± 0.31	6.16 ± 0.69	6.71 ± 0.42	6.30 ± 0.52	0.10

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
ปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่าย (มิลลิโมล/ลิตร)					
กรดอะซิติก	16.00 ± 1.08^{b}	18.59 ± 1.66^{ab}	20.39 ± 0.97^{a}	19.81 ± 2.20^{a}	0.04
กรดโพรพิโอนิก	26.11 ± 2.72^{b}	35.77 ± 2.31^{a}	34.98 ± 4.28^{a}	37.04 ± 3.86^{a}	0.03
กรดบิวทีริก	7.65 ± 0.62^{b}	10.09 ± 1.10^{a}	9.82 ± 1.88^{a}	11.43 ± 3.07^{a}	0.03

หมายเหตุ $^{a,b \text{ และ } c}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ต่อจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง

การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10%, 0.20% และ 0.30% ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp., *Salmonella* spp. และ *E. coli* ที่อยู่ในไส้ติ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 11

พรีไบโอติกจัดเป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ที่สามารถหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gibson and Roberfroid, 1995) โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จะแย่งอาหารกับจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ และแย่งพื้นที่ในการเกาะจับที่บริเวณผนังลำไส้ จึงส่งผลให้จุลินทรีย์ที่เป็นโทษลดจำนวนลง (Kleanhammer *et al.,* 1992) นอกจากนี้พรีไบโอติกยังช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria นี้เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ เมื่อความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณลำไส้ลดลง จึงไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Samli *et al*., 2007) เช่น เชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* (Cummings *et al*., 2001) เมื่อจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษลดลง จึงส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น

แม้ว่าพรีไบโอติก มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Gibson and Roberfroid, 1995; Fating, 2004; Khaksar *et al*., 2008) แต่จากการทดลองพบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารไม่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในไส้ติ่ง สอดคล้องกับโสมรพีย์ (2550) ที่ศึกษาผลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหาร พบว่าไม่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* ในไส้ติ่งของไก่กระทง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Djouvinov *et al.* (2005) พบว่า การเสริมพรีไบโอติก (Lactina) ในอาหาร ไม่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* ในไก่กระทง อาจเนื่องจากร่างกายของสัตว์มีความสามารถในการรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ อยู่ตลอดเวลา จึงไม่ส่งผลกระทบต่อชนิด และการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Varel and Pond, 1985) นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอีกหลายอย่างเข้ามามีส่วนเกี่ยวข้อง ได้แก่ อายุของสัตว์ ปริมาณอาหารที่ได้รับ สภาพแวดล้อม ตำแหน่งของอวัยวะที่นำมาศึกษา วิธีการตรวจนับและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีผลต่อความแตกต่างของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาได้เช่นเดียวกัน (Gibson and Collins, 1999; Hartemink and Rombouts, 1999)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหาร ต่อปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
Lactobacillus spp. (logCFU/ml)	6.72 ± 0.26	6.61 ± 0.21	6.56 ± 0.32	6.45 ± 0.38	0.36
Salmonella spp. (logMPN/ml)	1.32 ± 0.59	1.34 ± 0.78	1.63 ± 0.37	1.54 ± 0.81	0.73
E. coli (logCFU/ml)	5.06 ± 1.08	4.24 ± 0.70	4.63 ± 1.73	4.76 ± 1.00	0.63

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาที่บริเวณลำไส้เล็ก ในส่วนของความสูงของ villi ความลึกของ crypt และอัตราส่วนของความสูง villi ต่อความลึกของ crypt พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10%, 0.20% และ 0.30% ในอาหาร ส่งผลให้ความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารส่งผลให้อัตราส่วนของความสูง villi ต่อความลึกของ crypt มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ($P=0.06$) ดังแสดงในตารางที่ 12

villi มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อย และดูดซึมสารอาหารที่บริเวณลำไส้เล็ก เพราะพื้นที่ผิวของ villi เป็นบริเวณแรกที่สัมผัสกับสารอาหารที่บริเวณลำไส้ (Gartner and Hiatt, 2001) ความสูง villi ที่เพิ่มขึ้น ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย การดูดซึมสารอาหาร และช่วยกระตุ้นระบบหมุนเวียนโลหิต (Badford, 2000; Gilmore and Ferretti, 2003) เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง พบว่าการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารช่วยปรับปรุงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กได้ โดยส่งผลให้ความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากการที่เซลล์ villi ได้รับพลังงานจากกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายที่จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ผลิตขึ้น ซึ่งกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายเหล่านี้ ไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผิวลำไส้อย่างรวดเร็ว และเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์ (Gibson and Roberfroid, 1995; Eliotand and Shronts, 1992) จึงส่งผลให้ความสูง villi เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Navidshad *et al.* (2010) พบว่าการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.30% ในอาหารส่งผลให้ความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

นอกจากนี้พบว่า การเสริม *Aspergillus* meal ในอาหาร ทำให้อัตราส่วนของความสูง villi ต่อความลึกของ crypt มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยความสูง villi และความลึกของ crypt เป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของระบบการย่อยและดูดซึมสารอาหาร (Motagne *et al.,* 2003) ถ้าอัตราส่วนของความสูง villi ต่อความลึกของ crypt เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้พื้นที่ผิวสัมผัสของเซลล์ villi ต่อสารอาหารต่างๆ เพิ่มขึ้นด้วย ทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหาร เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในร่างกายดีขึ้น (Gartner and Hiatt, 2001) ซึ่งอาจเป็นผลทำให้ความสูงไข่ขาว และค่า Haugh unit เพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์

ผลของการเสริม *Aspergillus* meal ในอาหารต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ พบว่าการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% และ 0.30% มีผลให้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ขณะที่การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.10% ไม่แตกต่างจากการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับอื่นๆ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 13

เมื่อไก่อยู่ในสภาวะที่เกิดความเครียดระดับของฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid) จะเพิ่มสูงขึ้น (Jain, 1993) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนนี้ส่งผลต่อเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิล โดยเม็ดเลือดขาวชนิดนี้เมื่อเจริญเต็มที่จะถูกปลดปล่อยมาจากไขกระดูก (bone marrow) แล้วเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น ในขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์จะลดปริมาณลง เนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายกลับไปยังไขกระดูก และเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (วิโรจน์, 2537) สอดคล้องกับรายงานของ Altan *et al.* (2000) กล่าวว่า สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดจะมีการหลั่งฮอร์โมนหลายชนิด เช่น คอร์ติซอล (cortisol) ซึ่งมีผลกดภูมิคุ้มกันโรคของร่างกาย ทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์มีปริมาณลดลง จึงส่งผลให้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ จึงใช้เป็นดัชนีตรวจวัดความเครียดของไก่ไข่ได้ (Gross and Siegel, 1986) โดยอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ปกติของสัตว์ปีกมีค่าระหว่าง 0.30-0.57 (Jain, 1993)

การเสริม *Aspergillus* meal ทำให้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ลดลง อาจเนื่องจากการเสริมพรีไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยทำปฏิกิริยากับ protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อบุผนังลำไส้ แล้วทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น (Chesson, 1993; Savage *et al*., 1996) จึงมีผลต่อการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ในระบบหมุนเวียนเลือดของสัตว์ปีก (วรพล และสุจินต์, 2545) และการที่อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ในการเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% และ 0.30% มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.22 ซึ่งต่ำกว่าค่าปกติ อาจเนื่องจากอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์สามารถผันแปรไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตามชนิดและอายุของสัตว์ สภาวะของร่างกาย และสิ่งแวดล้อมที่สัตว์ดำรงอยู่ (Jain, 1993) อีกทั้งโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองเป็นโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ จึงทำให้สัตว์อยู่สบาย และไม่เกิดความเครียด ดังนั้นอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ที่ตรวจพบจึงมีค่าต่ำกว่าปกติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
ความสูงของ villi (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1414.75 ± 287.39 [b]	1663.44 ± 77.96 [a]	1703.93 ± 175.43 [a]	1645.54 ± 166.58 [a]	0.02
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1070.63 ± 112.78	1224.94 ± 215.60	1271.87 ± 133.76	1191.89 ± 179.58	0.11
ลำไส้เล็กส่วนท้าย	719.51 ± 92.81	777.36 ± 117.33	843.17 ± 106.03	754.98 ± 145.17	0.22
ความลึกของ crypt (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	267.94 ± 34.42	243.09 ± 36.64	243.22 ± 44.53	255.07 ± 57.90	0.64
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	238.45 ± 53.42	277.00 ± 36.36	254.51 ± 38.27	247.66 ± 26.36	0.27
ลำไส้เล็กส่วนท้าย	163.30 ± 55.29	174.16 ± 41.15	167.01 ± 31.33	177.85 ± 45.33	0.91
ความสูงของ villi ต่อความลึกของ crypt					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.43 ± 1.71	6.96 ± 0.91	7.15 ± 1.12	6.70 ± 1.41	0.06
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	4.71 ± 1.27	4.44 ± 0.72	5.14 ± 1.43	4.89 ± 1.03	0.61
ลำไส้เล็กส่วนท้าย	4.68 ± 1.07	4.56 ± 0.66	5.20 ± 1.17	4.50 ± 1.45	0.59

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 ผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal) ในอาหารต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลและลิมโฟซัยท์

ลักษณะที่ศึกษา	ระดับพรีไบโอติก (*Aspergillus* Meal)				P-value
	ควบคุม	0.10%	0.20%	0.30%	
เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิล (%)	26.17 ± 10.39^{A}	22.71 ± 7.29^{AB}	19.25 ± 5.53^{BC}	17.79 ± 6.40^{C}	0.0011
เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์ (%)	73.83 ± 10.39^{A}	77.29 ± 7.29^{AB}	80.75 ± 5.53^{BC}	82.21 ± 6.40^{C}	0.0011
อัตราส่วนของเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์	0.38 ± 0.21^{A}	0.31 ± 0.13^{AB}	0.24 ± 0.08^{B}	0.22 ± 0.10^{B}	0.0006

หมายเหตุ $^{A,B \text{ และ } C}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ที่ระดับ 0%, 0.10% และ 0.20% ในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และคุณภาพไข่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเสริม *Aspergillus* meal ที่ระดับ 0.20% ในอาหารช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร จึงทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม และต้นทุนการผลิตต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง

ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ที่ระดับ 0%, 0.10% 0.20% และ 0.30 %ในอาหาร แม้ว่าจะไม่ส่งผลต่อต่อสมรรถภาพการผลิต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แต่ส่งผลให้ความสูงไข่ขาว และค่า Haugh unit เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความยาว และน้ำหนักของอวัยวะภายใน ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ติ่งไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการเสริม *Aspergillus* meal ทำให้ความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายเพิ่มขึ้น อีกทั้งช่วยลดระดับอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์

ดังนั้นการเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร จึงช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง และส่งผลให้ความสูงไข่ขาว ค่า Haugh unit ความสูง villi ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ระเหยง่ายเพิ่มขึ้น อีกทั้งช่วยลดระดับของอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟซัยท์ จึงส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพที่ดีขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ที่ระดับ 0.20% เหมาะจะเสริมเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต เพราะช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ช่วยเพิ่มคุณภาพความสูงของไข่ขาว และค่า Haugh unit ได้

3. การเสริมพรีไบโอติก (*Aspergillus* meal) ในอาหาร ที่ระดับ 0.20% และ 0.30% ช่วยลดความเครียดของสัตว์ได้ จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในฟาร์มที่มีการเลี้ยงสัตว์ในสภาวะเครียด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรรณิการ์ พนาบุญเจริญ. 2545. **ผลการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอินทรีย์รวมในอาหารลูกสุกรหย่านม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2541. **สรีรวิทยาทางเดินอาหาร**. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

นรินทร์ ตรองจิตต์. 2544. การนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในสัตว์ปีก. **สัตว์เศรษฐกิจ**. 19 (415): 55-53.

พันทิพา พงษ์เพียงจันทร์. 2547. **หลักการอาหารสัตว์: หลักโภชนศาสตร์ และการประยุกต์ เล่ม 2.** โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์, เชียงใหม่.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2545. **หลักการวิเคราะห์จุลินทรีย์**. คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

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

วรพล เองวานิช และ สุจินต์ สิมารักษ์. 2545. ภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนในไก่. **วารสารสงขลานครินทร์ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 24: 159-167.

วรรณพร ทะพิงค์แก และ พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2543. การใช้ NSP-enzymes ในอาหารลูกสุกร. **ธุรกิจอาหารสัตว์.** 17 (70): 36-42.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

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

สุภาพ กำลังแพทย์ เบญจมาศ วงศ์สาลี นิตยา นิจถาวร และ อนุรักษ์ รูปโฉม. 2545. ผลของ "MICRO-GUARD" ต่อจำนวนจุลินทรีย์ในสิ่งรองนอนโรงเรือนไก่เนื้อ: การศึกษาเบื้องต้น. **ประมวลรายงานการสัมนาทางวิชาการ "เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาเกษตรกรรมไทย"**, 23-24 พฤษภาคม 2545 ณ โรงแรมริมปาว จ.กาฬสินธุ์.

สุวรรณา พรมทอง. 2548. **การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสรีรวิทยา จุลกายวิภาค และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารไก่กระทงที่ได้รับอาหารสูตรมันสำปะหลังกับอาหารสูตรข้าวโพด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โสมรพีย์ ภูมิภักดีพรรณ. 2550. **ผลของการเสริมพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อังคณา หาญบรรจง และ ดวงสมร สินเจิมศิริ. 2532. **การวิเคราะห์และประเมินคุณภาพอาหารสัตว์**. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุทัย คันโธ. 2529. **อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2537. **คู่มือปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร.** กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ.

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Aniansson G., B. Andersson, R. Lindstedt and C. Svanbrong. 1990. Anti-adhesive activity of human casein against *Streptococus pneumoniae* and *Haemophilus* influenzae. **Microbial Pathology** 8: 315-323.

Anonymous. 2010. **Mechanism of prebiotics.** Available Source: http://www.litesse.com/wps/wcm/connect/litesse/litesse/health+benefits/prebiotic/Prebiotic2_en.htm, December 3, 2010.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Association of official agriculture chemists, Washington, D.C.

Asano, T., K. Yuasa, Y. Yosimura, S. Takenawa and H. Fukuba. 1997. Digestion, absorption and intestinal residue of various gluconic acids in rats. **J. Nutr. Food Sci.** 50: 287-294.

Atlas, R.M. and L.C. Park. 1993. **Handbook of Microbiology Media**. Boca Ration: CRC Press, Florida.

Ballongue, J. 1993. Bifidobacteria and probiotic action, pp. 357-428. *In* S. Salminen and A. van Wright, eds. **Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspect.** 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.

Barrow, A.P. 1994. The micoflora of the alimentary tract and avian pathogens: translocation and vertical transmission. *In:* **Microbiology of the Avian Eggs**. 1st ed. G.R. Board and R. Fuller (eds). Chapman & Hall, London. pp. 119-122.

Battey A.S. and Schaffner, D.W. 2001. Modeling bacterial spoilage in cold-filled ready to drink beverages by *Acinetobacter calcoaceticus* and *Gluconobacter oxydans*. **J. Appl. Microbiol.** 91(2): 237-247.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bedford, M. 2000. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: Implications and strategies to minimize subsequent problems. **World Poult. Sci. J.** 56:347-365.

Begley, M., C. Hill and C.G.M. Gahan. 2006. Bile salt hydrolase activity in probiotics. **Appl. Environ. Microbiol.** 72 (3): 1729-1738.

Belyavin, C.G., K.N. Boorman and J. Volynchook. 1987. Egg quality in individual birds. *In:* Egg Quality-Current Problems and Recent Advances. **Poult. Sci. Symp**. Series 20. Eds. Wells, R.G. & Belyavin, C.G., Butterworths, Borough Green, Sevenoaks, Kent TN 15 8PH, England. 87: 105-122.

Bertazzoni, M.E., A. Benini, M. Marzotto, H. Hendriks, A. Sbarbati and F. Dellaglio. 2001. **Preliminary screening of the health promoting properties of new lactobacilli strains: *in vitro* and *invivo***. HEALFO conference, Santa Maria Imbaro and Lanciano-Italy. 13-15 June.

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.

Boltumelo, P.T. 2004. Influence of limestone particle size in layer diet on shell characteristics at peak production. **Erisim:etd.uovs.ac.za.**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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.

Campbell, J.M., G.C. Fahey and B.W. Wolf. 1997. Selected indigestible oligosaccharide affect large bowel mass cecal and fecal short chain fatty acid pH microflora in rat. **J. Nutr**. (127): 444-448.

Canzi, E., F. Brighenti, M.C. Casiraghi, E.Del Puppo and A. Ferrai. 1995. Prolongged Consumption of inulin in ready to eat break fast cereals: **Effect on intestinal ecosystem, bowel habits and lipid metabolism**. Cost 92. Workshop on Dietary Fiber and Fermentation in the Colon. 15: 17/04. Helsinki, Finland.

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.

Chen Y.C., G.C. Nakthon and T.C. Chen. 2005. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. **J. Poult. Sci.** 4: 103–108.

_____. and T.C. Chen. 2004. Mineral utilization in layers as influenced by dietary oligofructose and inulin. **Int. J. Poult. Sci.** 3 :442-445.

Chesson, A. 1993. Probiotic and other intestinal mediators. In Cole, D.J.A., J. Wiseman and M.A. Varley. eds. **Princeiples of Pig Science.** Nottingham University Press.

Choct, M. and A. Kocker. 2002. **Non-starch carbohydrates: Digestion and secondary effects in monogastrics.** Available Source: http://www.psa.uiuc.edu/toc/abs/01/Mar01ab302. html, November 3, 2008.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chorvaticova, D., E. Machova, J. Sandula and G. Kogan. 1999. **Mutation Research** 444: 117-122.

Cicek, T. and A. Kartalkanat. 2009. Comparison of village eggs and commercial eggs in Terms of egg quality. **J. Anim. Vet. Adv.** 8 (12): 2542-2545.

Corzo, G. and S.E. Gilliland. 1999. Measurement of bile salt hydrolase activity from *Lactobacillus acidophilus* based on disappearance of conjugated bile salt. **J. Dairy Sci.** 82: 466-471.

Cristina G.R. and I.M. Pop. n.d. Improvement of laying hen performances by dietary mannanoligosaccharides supplementation. **Seria Zootehnie**. vol. 52.

Crosnier, C., D Stamataki and J. Lewis. 2006. Organizing cell renewal in the intestine: Stem cells, signals and combinatorial control. **Nat Rev Genet**. 7 (5): 349–59.

Cumming, J.H. 1995. Short chain fatty acid. In Human Colonic Bacteria: Roe in Nutrition. **Physiology Pathology** 101-130.

_____, G.T. Macfarlane and H.N. Englyst. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. **Am. J. Clin. Nutr**. 73 (Suppl.): 415-420.

_____. and _____. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. **Br. J. Nutr**. 87 (Suppl. 2): 145-151.

Daneshyar, M., K. Shahsavari and F. Shariatmadari. n.d. The effect of probiotic supplementation on productive traits, egg quality and plasma cholesterol of broiler breeder hens. ***In* 16 th European Symposium on Poultry Nutrition.**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Delzenne N.M., C. Daubioul, A. Neyrinck, M. Lasa and H.S. Taper. 2002. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical event and future prospects. **J. Nutr.** 87 (2): 255-259.

De Man, J.C., M. Rogosa and M.E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. **J. Appl. Bacteriol.** 23: 130-155.

Deppenmeier, U., M. Hoffmeister., and C. Prust. 2002. Biochemistry and biotechnological applications of Gluconobacter strain. **Appl. Microbiol. Biotech.** 60: 233-242.

Djouvinov, D., S. Boicheva, T. Simeonova and T. Vlaikova. 2005. Effect of feeding Lactina probiotic on performance, some blood parameters and caecal microflora of mule ducklings. **Trakia J. Sci**. 3(2): 22-28.

Eliotand, G. and E.P. Shronts. 1992. Intestinal fuels : glutamine, short-chain fatty acids and dietary fiber. **J. American Dietetic Associ.** 92 (10): 1239-1246.

Fathing. M.J.G. 2004. Bugs and the gut: An unstable marriage. **Best Pract. Rss. Clin. Gastroenterol.** 18: 233-239.

Ferket, P.R., C.W. and J.L. Gremed. 2002. Mannan oligosaccharides *versus* antibiotics for turkeys. In Lyons, T.P. and K.A. Jacques. eds. **Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Alltech's 18th Ann. Symp. Nottingham University Press**. Loughborough, U.K. 42-63.

Fox, H.M. and G. Vevers. 1960. **The Nature of Animal Colours**. 3 rd ed. Sidgwick and Jackson Limited, London.

Fox, S.M. 1988. Probiotics: Intestinal inoculants for production animals. **Vet. Med.** (August): 806-830.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Frandson, R.D. 1992. **Anatomy and physiology of farm animals.** 5 th ed. Philadelphia, Lea & Febiger.

Frank, H. and L.A. Dieleman. 2008. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. p. 352. *In*: G.R. Gibson and M.B. Roberfroid. **Handbook of prebiotics.** CRC Press, New York.

Frankel W.L., W. Zhang, A. Singh, D.M. Klurfeld, S. Don, T. Sakata and I. Modlin. 1994. ediation of the tropics effect of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. **Astroenterology.** 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.

Garner, L.P. and J.L. Hiatt. 2001. Color textbook of histology. 2nd Edn. *In*: Saunders, W.B., M.D. Baltimore, M.M. Ghaffari, M. Shivazad, M. Zaghari and R. Taherkhani. 2007. Effects of different levels of Metabolizable energy and formulation of diet based on digestible and total amino acid requirements on performance of male broiler. **Int. J. Sci.** 6(4): 276-279.

Geyra, A, Z. Uni and D. Sklan. 2001. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poult. Sci.** 80: 776-782.

Gibson, G.R. and M.D. Collins. 1999. Concept of balance colonic mirobiota, 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.

_____. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation on the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr**. 125: 1404-1412.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

_____. and X. Wang. 1994. Regulatory effect of Bifidobacterium on the growth of other Colonic bacteria. **J. Appl. Bacteria.** 77: 402-412.

Gilmore, M.S. and J.J. Ferretti. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen. **Sci.** 299: 1999-2002.

Grimes, J.L., D.V. Maurice, S. Lightsey and J.G. Lopez. 1997. The effect of dietary Fermacto on layer performance. **J. Appl. Poult.** 6: 366-403.

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.

Harms, R.H. and R.D. Miles. 1988. Research note: Influence of Fermacto® on the performance of laying hens when fed with different levels of methionine. **Poult. Sci.** 67: 842-844.

Hartemink, R. and F.M. Rombouts. 1999. Comparison of media for the detection of bifidobacteria, lactobacilli and total anaerobes from faecal samples. **J. Micro. Met.** 36: 181-192.

Havenaar, R., B.T. Brink and H.J. Jos. 1992. Selection of strains for probiotic use. pp. 209-224. *In* R. Fuller ed. **Probiotics: The scientific basis**. Chapman & Hall, London, U.K.

Hentges, D.J. 1992. Gut flora and disease resistance. *In* R. Fuller ed. **Probiotic: The scientific basis.** Chapman & Hall, London, U.K.

Hooge, D.M. 2003. Dietary mamnan oligosaccharides improve broiler and turkey performance: meta-analysis of pen trials around the world. *In* Lyons, T.P. and K.A. jacques. Eds. **Biotechnology in the Feed Industry**. Proc. Alltech's 19th Ann. Symp. Nottingham University Press. Loughborough, U.K.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hudson, M.J. and P.D. Marsh. 1995. **Carbohydrate metabolis in the colon.** *In* .G.R. Gibson and G.T. Macfralane (eds.) Human Colonic Bacteria Role in Nutrition, Physiology and Pathology. CRC Press, Boca Raton.

Hymowitz, T., F.I. Collins, J. Panczer and W.M. Walker. 1972. Relationhsip between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. **Agron J.** 64: 613-616.

Idstein, H., C. Bauer and P. Schreier. 1985. Volatile acids in tropical fruits: cherimoya (*Annona cherimolia* Mill.), guava (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L.var.Alphonso), papaya (*Carica papaya* L.). **Zeitschrift Fuer Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**. 180: 394-397.

Isshiki, Y., K. Yamauchi and Z.X. Zhou. 1992. Developmental differences of intestine in waterfowls and chickens. **Jap. Pout. Sci.** 29: 145-150.

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.

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.

Karpinska, E., B. Blaszczak, G. Kosowska, A. Degorski and B.W. Borzemska. 2001. Growth of the intestinal anaerobes in the nemly hatched chicks according to the feeding and providing eith normal gut flora. Bull. **Vet. Inst. Pulawy**. 45: 105-109.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Keener K. M., K. C. McAvoy, J. B. Foegeding, P. A. Curtis, K. E. Anderson and J. A. Osborne. 2006. Effect of Testing Temperature on Internal Egg Quality Measurements. **Poult. Sci.** 85: 550-555.

Khaksar, V., A. Golian, H. Kermanshahi, A.R. Movasseghian, A. Jamshidi. 2008. Effect of prebiotic Fermacto on Gut Development and performance of broiler chickens fed diet low in digestible amino acids. **J. Anim. Vet. Adv.** 3: 251-257.

Kim, S.H., S.Y. Park, D.J. Yu, S.J. Lee, K.S. Ryu and D.G. Lee. 2003. Effects of *Aspergillus oryzae* ferments on performance, intestinal microflora, blood serum components and environmental factors in Broiler. **Korean J. Poult. Sci.** 30: 151-159.

Klaenhammer, T.R., C. Ahn, C. Fremaux and Milton. 1992. Molecular properties of *Lactobacillus* bacteriocin, pp. 37-58. *Cited by* M.J. Gasson and W.M. De Vos. **Genetic and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria.** Chapman & Hall, Glasgow.

Krizkova L., Z. Durackova, J. Sasinkova and J. Krajcovic. 2001. Antioxidative and antimuagenic activity of yeast cell wall mannans *in vitro*. **Mutation Restriction** (497): 213-222.

Kul S. and I. Seker. 2004. Phenotypic correlations between some external and internal egg quality traits in the Japanese quail (*Cortunix cortunix japonica*). **Int. J. Poult. Sci.** 3 (6): 400-405.

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.

Lan, Y., B.A. Williams, M.W.A. Verstegen, R.Patterson and S. Tamminga. 2006**.** Soy oligosaccharides *in vitro* fermentation characteristics and its effect on caecal microorganisms of young broiler chickens. **Anim. Feed Sci. Tech.** 133: 286-297.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Langhout, P. 2000. New additives for broiler chickens. **Feed Mix. Special.** 24-27.

Livesey, G. 1990. **Fiber as energy in man.** *In* Kritchevsky D and C Bonfield eds. Dietary Fiber in Health and disease. St Paul, MN: Eagan Press; pp 46-57.

Lutz, T. and E. Scharrer. 1991. **Experiment Psychology.** 76: 615-618.

Lyons, T.P. 1987. Yeast culture, a natural feed additive for all species. **Feed Comp.** August: 20-23.

_____. 1994. Biotechnology in the feed industry: 1994 and beyond. *In* Lyons, T.P. and K.A. Jacques. eds. **Biotechnology in feed Industry**. Proc. of Alltech's 10th Ann. SYMP. Nottingham University Press. Loughborough, U.K.

Mahdavi, A.H., H.R. Rahmani and J. Pourreza. 2005. Effect of Probiotic Supplements on Egg Quality and Laying Hen's Performance. **J. Poult. Sci.** 4 (7): 488-492.

Mamick, B. 1993. **Fermacto verses enzymes.** Fermacto, Pet Ag Inc Elgin Illinosis, USA.

Mohammad, A.A., A. Golian, H. Kermanshahi and M. Sedghi. 2010. Comparison of Dietary Supplementation with Cumin Essential Oil and Prebiotic Fermacto on Humoral Immune Response, Blood Metabolites and Performance of Broiler Chickens. **Global Veterinaria.** 4 (4): 380-387.

Mokslai, Z.U. 2006. Influence of a prebiotic feed additive on some biochemical indices of blood and intestinal microbiota of broiler chickens. **J. Nutr.** 4: 57-62.

Monsan, P.F. and F. Paul. 1995. **Oligosaccharide feed additive**, pp. 233-245. *In* R.J Wallace. and A. Chesson (eds.). Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding. Wilhelm, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Montagne, L., J.R. Pluske and D.J. Hampson. 2003. A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non ruminant animals. **Anim. Feed Sci. Tech.** 108: 95-117.

Moro G, I. Minoli and M Mosca. 2002. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. **J. Pediatr. Gastroenterol Nutr**. 34: 291-5.

Mroz, Z. 2000. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. *In* **Annual Conference on Phytase in Animal Nutrition, June 8-9, 2000.** Lublin, Poland.

_____, A.J. Moeser, K. Vreman, J.T.M. van Diepen, T. Van Kempen, T.T. Canh and A.W. Jongbloed. 2000. Effect of dietary carbohydrates and buffering capacity on nutrient digestibility and manure characteristics in finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 78: 3096-3106.

Naaber, P., E. Lehto, S. Salminen and M. Mikelsaar. 1996. Inhibition of adhesion of Clostridium difficile to Caco-2 cell. **FEMS Immunol. Med. Microbiol**. 14 : 205-209.

Navidshad, B., M. Adibmoradi and Z.A. Pirsaraei. 2010. Effect of dietary supplementation of Aspergillus originated prebiotic (Fermacto) on performance and small intestine morphology of broiler chickens fed diluted diets. **Ital J Anim Sci.** 9: e12.

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.

Obendorf, R., M. Horbowicz, A.M. Dickerman, P. Brenac and M.E. Smith. 1998. Soluble oligosaccharides and galactosyl in maturing soybean seeds. **Crop Sci.** 38: 78–84.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Paul, W.J.J., B. Steef, N. Serve, H. Harm, A.P. Bert and K. Frans van. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickns during growth. **Appl.Environ. Microbiol.** 66: 2536-2540.

Perdigon, G. and S. Alvarez. 1992. Bacterial interactions in the gut. *In* R. Fuller ed. **Probiotics: The scientific basis.** Chapman & Hall, London, U.K.

Piray, A.H., H. Kermanshahi, A.M. Tahmasbi, J. Bahrampour. 2007. Effects of cecal cultures and aspergillus meal prebiotic (Fermacto) on growth performance and organ weights of broiler chickens. **Int. J. Poult. Sci.** 6: 340-344.

Pluske, J.R., D.J. Hampson and I.H. Williams. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: A review. **Livestock Production Sci.** 51 (1): 215-236.

Potter, L.M. 1972. Effect of erythromycin, Fermacto-500, herring fish meal and taurine in diets of young turkeys. **J. Poult. Sci.** 51: 352-331.

Rabassa, A.A. and A.I. Rogers. 1992. The role of short chain fatty acid metabolism in colonic disorders. **J. Gastroenterol.** 87 (4): 419-423.

Raper, K.B. and D.I. Fennell. 1965. **The Genus Aspergillus**. The William & Wilkins Company, Baltiomare. 686 p.

Ritchie, B.W., J.G. Harrison and R.L. Harrison. 1994. **Avain Medicine Principle and Application.** Florida. Winger's Publishing, Inc. p 138.

Roberfroid, M. B. 2008. General Introduction: Prebiotics in Nutrition. pp. 1-9. *In* G.R. Gibson and M.B. Roberfroid. **Handbook of prebiotics.** CRC Press, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Roberfroid, M. B., J.A.E. Van Loo and G.R. Gibson. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. **J. Nutr.** 128: 11–19.

Ross, G.C. 1999. Prebiotic, pp. 141-156. *In* W.T. Geral ed. **Prebiotic a Critical Review**. Horizon Scientific Press, Wymondham.

Sakata, T. 1987. Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for tropics effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal tropic factors. **Br. J. Nutr.** 58: 95-103.

Salamkhan, A., A. Khalique and T.N. Pasha. 2000. Effect of dietary supplementation of various levels of Fermacto® on the performance of broiler chicks. **Agri. Biol.** 2: 32-34.

Salminen, S., E. Salminen, J. Bridges and V. Marks. 1985a. The effects of sorbitol on the gastointestinal microflora in rats. **Z. Ernahrungswiss**. 25 : 91-95

_____,_____, _____, and P. Koivistoinen. 1985b. Gut microflora interaction with xylitol in rat, mouse and man. **Food Chem. Tovicol**. 23 : 985-990

_____, M. Deieghton and S. Gorbach. 1993. **Latic Acid Bacteria in health and disease**, pp. 199-225. *In* S. Salminen and W. Attevon (eds.). Lactic Acid Bacteria. Lea and Febiger Malvern, Rennsylvania.

Samli, H.E., N. Senkoylu, F. Koc, M. Kanter and A. Agma. 2007. Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. Arch. **Anim. Nutr.** 61: 42-49.

Savage, T.F., P.F. Cotter and E.I. Zakrzewska. 1996. The effects of mannanoligosaccharide on immunoglobulin plasma IgA and bile Iga of Wrolstad MW male turkeys. **Poult. Sci.** 75 (Suppl.1): 143.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Savage, T.F., E.I. Zakrzewska and J.R. Andreasen. 1997. The effects of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poults on performance and the morphology of the small intestine. **Poult. Sci.** 76 (suppl.1): 139.

SAS. 1988. **SAS User's Guide: Statistics**. SAS Institute. United State: Inc, Nortth. Carolina.

Scholz-Ahrens, K.E. and J. Schrezenmeir. 2002. Inulin, oligofructose and mineral metabolism experimental data and mechanism. **Br. J. Nutr**. 87 Suppl. 2:S179–86.

_____, P. Ade, B. Marten, P. Weber, W. Timm, Y. Asil, C.C. Gluer and J. Schrezenmeir. 2007. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. **J. Nutr.** 137: 838S-846S.

Sen, S. and S.L. Chakrabarty. 1984. Amylase from *Lactobacillus cellobiosus* isolated from vegetable wastes. **J. Fermen. Tech.** 62: 407-413.

Simmering, R., M. Blaut. 2001. Pro- and Prebioticsthe tasty guardian angles. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 55: 19-28.

Simon, O. 2005. Micro-organisms as feed additives-probiotics. **Adv. Pork Prod.** 16: 161-167.

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**. Chalcobe Publication,Marlow, UK.

Stephen, A. 1994. **Propionate sources and effect on lipid metabolism**. In *Falk Symposium73*. Short chain fatty acid, pp.260-271.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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.

Sturkie, P.D. 1986. **Avian Physiology**. 4th ed. Springer-Verlag New York, Inc., New York.

Swanson, K.S. and G.C. Fahey Jr. 2002. Prebiotics in compention animal nutrion. *In* Lyons, T.P. and K.A. Jacques. Eds. **Biotechnology in the Feed Industry**. Proc. Alltech's 18th Ann. Symp. Nottingham University Press. Loughborough, U.K. pp.461-473.

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.

Tangendjaja, B. 1993. **Effect of Fermacto upon the utilization of broiler diets containing normal and high levels of rice bran**. Pet Ag Inc, Elgin Illinosis.

Tomasik, P.J. and P. Tomasik. 2003. Probiotics and prebiotics. **Cereal Chem.** 80: 113-117.

Toussant, M.J. and J.D. Latshaw. 1999. Ovomucin content and composition in chicken eggs with different interior quality. **J. Sci. Food Agric.** 79: 1666-1670.

Trevino, J., C. Centeno, A. Brences, P. Yuste and l. Rubio. 1990. Effect of dietary oligosaccharides on the digestion of pea starch by growing chicks. **Anim. Feed Sci. Tech.** 30: 313-319.

Uhari, M., T. Kontiokari, M. Koskela and M. Niemela. 1996. Xylitol chewing gum in prevention of acute ottis media : Double blind randomises study. **Br. Med. J**. 313: 1180-1184.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Uni, Z., S. Ganot and D. Sklan. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **J. Poult. Sci.** 77: 75-82.

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.

Vuyst, L.D. and E.J. Vandamme. 1994. Their practical importance in bacteriocin of lactic acid bacteria, pp. 1-89. *In* L.D. Vuyst and E.J. Vandamme, eds. **Lactic acid bacteria and bacteriocins.** Blackie Academic & Professional, Glasgow.

Waldroup, P.W., D.E. Greene, L.W. Luther and B.D. Jones. 1972. Response of turkey breeder hens to Vigofac and Fermacto supplementation. **Poult. Sci.** 51: 510-513.

Williams, C.M. and K.G. Jackson. 2002. Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. **Br. J. Nutr.** 87: 5261-5264.

Yildiz, G., P. Sacakli and T. Gungor. 2006. The effect of dietary Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus L.)* on performance, egg quality characteristics and egg cholesterol content in laying hens. **Czech J. Anim. Sci.** 51(8): 349-354.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน

ตารางผนวกที่ 1 อุณหภูมิต่ำสุด และสูงสุดในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในการทดลองครั้งที่ 1

สัปดาห์ที่	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
1	23.29 ± 1.25	27.86 ± 1.21
2	23.29 ± 1.25	28.43 ± 0.79
3	24.86 ± 2.54	29.43 ± 0.79
4	24.29 ±1.25	29.29 ± 0.76
5	24.86 ± 2.54	29.43 ± 0.79
6	23.29 ± 1.25	28.43 ± 0.79
7	25.00 ± 0.00	28.57 ± 0.53
8	25.71 ± 0.76	28.57 ± 1.72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 อุณหภูมิต่ำสุด และสูงสุดในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ในการทดลองครั้งที่ 2

สัปดาห์ที่	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
1	25.3 ± 0.52	28.3 ± 0.51
2	26.1 ± 1.07	30.8 ± 0.69
3	26.7 ± 0.49	30.1 ± 0.37
4	25.7 ± 0.76	29.1 ± 0.37
5	26.3 ± 0.49	29.4 ± 0.53
6	26.2 ± 0.98	29.0 ± 0.63
7	26.0 ± 0.00	30.9 ± 0.37
8	26.3 ± 0.49	30.4 ± 0.79
9	26.5 ± 0.55	29.7 ± 0.52
10	26.0 ± 0.00	30.3 ± 1.15
11	26.0 ± 0.00	28.6 ± 1.15
12	26.0 ± 1.00	31.3 ± 1.52
13	25.8 ± 0.41	30.5 ± 1.76
14	25.3 ± 0.82	30.0 ± 1.10
15	26.0 ± 0.00	30.4 ± 0.90
16	25.6 ± 0.98	29.6 ± 1.13
17	25.9 ± 0.38	29.0 ± 0.57
18	25.7 ± 0.49	28.6 ± 0.53
19	24.2 ± 2.05	28.2 ± 1.30
20	24.4 ± 1.51	28.0 ± 1.00

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การคำนวณ

1. ปริมาณการกินอาหารต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

$$\text{ปริมาณการกินอาหารอาหารต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม} = \frac{\text{ปริมาณการกินอาหาร (กก.)}}{\text{มวลไข่}}$$

2. เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่} = \left\{ \frac{\text{จำนวนไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนวัน x จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}} \right\} \text{x } 100$$

3. น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง

$$\text{หนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง} = \frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมดของซ้ำในแต่ละช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมดของซ้ำที่นำมาชั่ง}}$$

4. มวลไข่

$$\text{มวลไข่} = \text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่} \times \text{น้ำหนักฟองไข่}$$

5. ค่า Haugh unit

$$\text{ค่า Haugh unit} = 100 \times \log (\text{ความสูงของไข่ขาว} + 7.57 - 1.7 \times \text{น้ำหนักของฟองไข่}^{0.37})$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์การวิเคราะห์

อุปกรณ์ตรวจวัดคุณภาพไข่

1. ไมโครมิเตอร์วัดความหนาของเปลือกไข่ (shell thickness micrometer) ของบริษัท TSS Technical Service and Supplies Ltd. (England)

2. พัดเทียบสีไข่ไก่ (Yolk colour Fan) ซึ่งมีสีเข้มขึ้นตามลำดับจากเบอร์ 1 ถึง 15 ของบริษัท Roche

เครื่องวัดความสูงไข่ขาว (Electronic height gauge for measuring albumen height) ของบริษัท TSS Technical Service and Supplies Ltd. (England)

อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการเก็บตัวอย่างเลือด

1. กระบอกฉีดยาขนาด 10 ซีซี

2. สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin)

3. microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มล.

4. เข็มฉีดยาเบอร์ 23

5. หลอดทดลอง (test tube)

6. แยกสารด้วยแรงเหวี่ยง (Heitteh Zentrifugen Model EBA 8S)

7. เครื่องชั่งดิจิตอล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์ลำไส้

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์ลำไส้ปฏิบัติตามวิธีของศุภลักษณ์ (2545) ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่าง (Specimen collectiom)

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ประกอบด้วย

1.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างที่บรรจุ Fixative

1.1.2 บีกเกอร์ใส่ Normal saline

1.1.3 ถาดเทียน

1.1.4 มีดผ่าตัด

1.1.5 คีมคีบ (forcep)

1.1.6 กระดาษ และดินสอ

1.2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

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

NaCl	8	กรัม
NaH_2PO_4	1.38	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 7.4 โดยใช้ NaOH		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2.2 ใช้คีมคีบ คีบเนื้อเยื่อใส่ขวดที่บรรจุ Fixation

1.2.3 ใช้ดินสอเขียนระบุว่าเป็นเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนใด 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 ($NaH_2PO_4.2H_2O$)	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 ใส่ภาชนะไปรองไว้ใต้ก๊อกน้ำ เปิดน้ำไหลผ่านตลอดเวลาประมาณ 30 นาที-1 ชั่วโมง ถ้าชิ้นเนื้อคงสภาพไว้เกิด 24 ชิ้น ทุกๆ 12 ชั่วโมงให้ล้างน้ำนานประมาณ 10 นาที

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue processing)

นำตลับชิ้นเนื้อ (tissue cassette) ที่ผ่านการล้างแล้วใส่ในตะกร้า แล้วนำตะกร้าไปแขวนกับตะขอของเครื่อง 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
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 ชิ้นเนื้อมีดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.1 นำตลับใส่ชิ้นเนื้อ (Tissue cassette) ออกจาก Tissue storage tank เปิดออกดูขนาดและจำนวนของชิ้นเนื้อเพื่อเลือก Mold

5.2 เลือก Mold ที่อุ่นไว้ใน Base mold storage oven ตามขนาดของชิ้นเนื้อ

5.3 หยอด Liquid paraffin ลงใน Mold พอประมาณให้ท่วมชิ้นเนื้อ

5.4 ใช้คีมคีบที่อุ่นไว้ คีบชิ้นเนื้อ โดยพิจารณาดูว่าจะวางอย่างไร แล้วรีบวางชิ้นเนื้อฝังลงไปใน 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 ชิ้นเนื้อออกจาก 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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.3 ใส่ Knife holder เลื่อนเข้าใกล้ Block holder เว้นระยะห่างประมาณ ½ 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 ใช้คีมคีบจับแถบของ Paraffin section ไปลอยบน Tissue floating bath อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส ที่เติม Adhesive แล้ว (อาจใช้ 50% Alcohol ช่วยให้ section แผ่ยืดออก)

4.3.6 ใช้คีมคีบแยกเอา 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 ทิ้งให้เย็นเพื่อรอย้อมสีต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การย้อมสี (Staining)

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

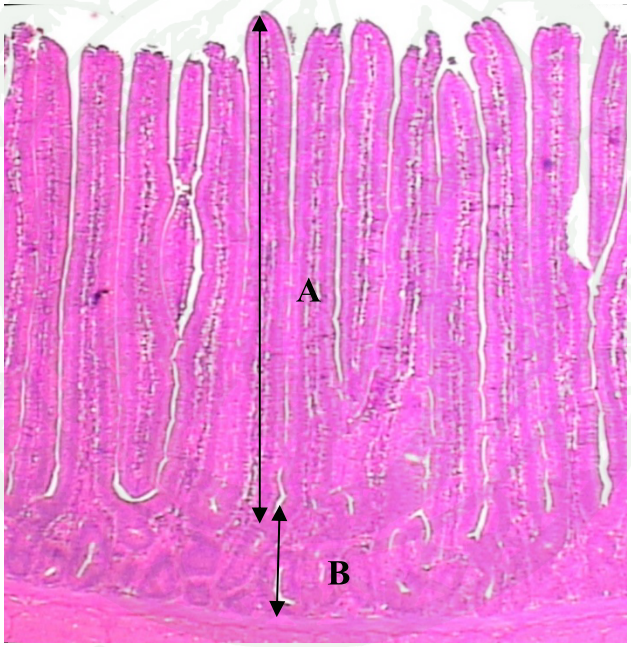
ตารางผนวกที่ 4 ขั้นตอนการย้อมสี Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining

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	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กจากการสุ่มวัด 10 บริเวณในแต่ละตำแหน่งของสไลด์ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1996) โดยวัดความสูงวิลลัส (Villous height) จากบริเวณที่สูงสุดของวิลลัสถึงบริเวณฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปท์ (Crypt depth junction) และความลึกของคริปท์ (Crypt depth) วัดจากฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปท์ถึงบริเวณต่ำสุดของคริปท์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด จากนั้นคำนวณหาสัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ รายละเอียดการวัด แสดงดังภาพผนวกที่ 2



ภาพผนวกที่ 1 แสดงความสูง villi (Villous height, A) และความลึกของ crypt (Crypt depth, B) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กของไก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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 Salnonella (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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short Chain Fatty Acids, SCFAs)

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายจากตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง (ceacal digesta) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ไก่กระทงในแต่ละซ้ำถูกนำมาฆ่าด้วยวิธี asphyxiation โดยใช้วิธี CO_2 และเปิดซากเพื่อนำตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง นำมาลดอุณหภูมิลงทันทีโดยแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย เพื่อหยุดกระบวนการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

1. นำตัวอย่าง ceacal digesta ที่แช่แข็งมาทำให้ละลายที่ 4 องศาเซลเซียส

2. ชั่งตัวอย่าง ceacal digesta 1 กรัม มาใส่ใน Microtube เติมน้ำกลั่น 1 เท่าตามปริมาตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง 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 ทันทีจนกว่าจำนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายต่อไป

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ GC Grade ของบริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน ได้แก่ กรดโปรปีโอนิก (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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1:20 นอกจากนี้ยังใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิที่บริเวณฉีดสารเข้าสู่ Column และที่ Detector ให้มีค่าเท่ากับ 225 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ผลจะเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโดยใช้ความแตกต่างของระยะเวลาที่กรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดแยกออกมา (Retention time) ซึ่งบอกเป็นพื้นที่ (Area) ตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียม นำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดที่พบในตัวอย่างในหน่วยความเข้มข้นเป็นมิลลิโมล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวพัชรี ชนะชัย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 25 มกราคม พ.ศ. 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดมหาสารคาม
สถานที่ติดต่อ	88/217 หมู่ 8 ถ. เทพารักษ์ ต. เทพารักษ์
	อ. เมือง จ. สมุทรปราการ 10270
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตร)
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์