



วิทยานิพนธ์

ผลของการเสริมพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยา
ของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระທ

**EFFECT OF SODIUM GLUCONATE SUPPLEMENTATION AS PREBIOTIC
ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE PHYSIOLOGY AND
IMMUNITY IN BROILERS**

นางสาวโสมรพีย์ ภูมิภักดีพรรณ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๕๑



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัปดาห์

สัปดาห์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยา
ของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทุง

Effect of Sodium Gluconate Supplementation as Prebiotic on Growth Performance,
Digestive Physiology and Immunity in Broilers

นามผู้วิจัย นางสาวโสมรพีย์ ภูมิภักดีพรรณ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ ปัญชาศักดิ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อภัสสร ชูเทศะ, Dr.rer.nat.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ ปัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจจงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ผลของการเสริมพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยา
ของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระທ

Effect of Sodium Gluconate Supplementation as Prebiotic on Growth Performance, Digestive
Physiology and Immunity in Broilers

โดย

นางสาวโสมรพีย์ ภูมิภักดีพรรณ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อวามสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2551

โสมรพีช ภูมิภักดีพรรณ 2551: ผลของการเสริมฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 91 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทง โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารในไก่อายุ 21 วัน แบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 26 ซ้ำๆ ละ 16 ตัว คือ กลุ่มที่ 1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต และ กลุ่มที่ 2. เสริมโซเดียมกลูโคเนตลงในอาหาร จากการทดลองพบว่า การเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ทำให้น้ำหนักของลำไส้เล็กส่วนปลายเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) น้ำหนักม้ามและต่อมเบอร์ด์ซาเพิ่มขึ้น ($P<0.01$) รวมทั้งการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้น้ำหนักของไขมันช่องท้องลดลง ($P<0.05$) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของความยาวลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ความยาวของ villi ลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางเพิ่มขึ้น ($P<0.01$; $P<0.05$ ตามลำดับ)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตแต่ละระยะ ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต คุณภาพซาก สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทงอายุ 42 วัน โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 13 ซ้ำๆ ละ 16 ตัว คือ กลุ่มที่ 1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต กลุ่มที่ 2. เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ คือ 0-21 วัน และ 22-42 วัน (0.2%/0.1%) กลุ่มที่ 3. เสริมระยะแรก (0.2%/0%) และ กลุ่มที่ 4. เสริมระยะหลัง (0%/0.1%) จากการทดลองพบว่า การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทุกระยะทำให้การกินได้ลดลง ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนคุณภาพซากการเสริมทั้ง 2 ระยะ ทำให้เปอร์เซ็นต์ซาก สันนอก ออก และเปอร์เซ็นต์เนื้อทั้งหมดเพิ่มขึ้น ($P<0.01$) รวมทั้งทำให้ความยาวของลำไส้เล็กส่วนต้นและไส้ตรงเพิ่มขึ้น อัตราส่วน villi ต่อ crypt of liberkühn ของความยาวและความกว้างของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางสูงขึ้น ($P<0.01$) ความยาว villi ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางเพิ่มขึ้น ($P<0.05$; $P<0.01$ ตามลำดับ) และความยาว crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางสูงขึ้น ($P<0.05$) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะทำให้ปริมาณกรดอะซิติค บิวทิริก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดในไส้ตรงเพิ่มขึ้น ($P<0.01$) น้ำหนักม้าม ระดับ ND Titer และแกมมา-กลอบูลินเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ขณะที่การเสริมทั้ง 2 ระยะทำให้น้ำหนักไขมันช่องท้องลดลง ($P<0.05$) ปริมาณ Heterophile : Lymphocyte และ บีตา-กลอบูลินลดลง ($P<0.01$)

Somrapee Phumiphakdeephan 2008: Effect of Sodium Gluconate Supplementation as Prebiotic on Growth Performance, Digestive Physiology and Immunity in Broilers. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 91 pages.

This study was conducted to determine the effect of sodium gluconate (SG) supplementation as prebiotic on growth performance, digestive physiology and immunity in broilers. The study was divided into two trials using a completely randomized design. First experiment was carried out to investigate the effects of SG on growth performance and physiological function of digestive system during starter period. Eight hundred and thirty two chicks were separated into 2 groups (raised in floor pens) consisted with 26 replications (16 chicks per replicate) and experimental diets were given as following; 1. diet without SG supplementation (control group) and 2. diet supplemented with 0.2% SG. There were not effects of adding SG on growth performance. Ileum, spleen and bursa gland weight were significantly increased by SG supplementation, while abdominal fat was decreased ($P<0.05$). In addition, the ratio of villi/crypt of liberkühn length of duodenum ($P<0.01$) and jejunum ($P<0.05$) parts were significantly increased by SG supplementation.

In the second experiment, the effects of SG supplementation as prebiotic on growth performance, carcass, digestive physiology and immunity in broiler during grower period. Chicks were separated into 4 groups consisted with 16 replications and experimental diets were given as follow; 1. diet without SG supplementation (control group) 2. diet supplemented with SG in starter (0.2%) and grower periods (0.1%) 3. diet supplemented with SG (0.2%) in starter periods and 4. diet supplemented with SG (0.1%) in grower period. The results indicated that supplemented SG in both starter and grower period decreased feed consumption ($P<0.01$), but did not effect to growth performance. The percentage of carcass, outer and inner breast meat, and eatable meat were significantly increased, while abdominal fat weight was decreased when supplemented SG to diet in both starter and grower period ($P<0.01$). In this group, furthermore the length of duodenum and colon, the ratio of villi/crypt of liberkühn length of duodenum ($P<0.05$) and jejunum ($P<0.01$) parts were significantly increased ($P<0.01$) and the villi wide of duodenum and jejunum parts were also improved. Ceaca short chain fatty acid (acetic acid, butyric acid and total acids) were elevated when the chickens received SG supplementing diet in both of starter and grower periods ($P < 0.01$). Spleen weight, ND-Titer and gamma globulin were ameliorated, while H:L and beta globulin was declined ($P<0.01$).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์นายสัตวแพทย์ ดร. กัญจนะ มากวิจิตร กรรมการสาขาวิชาเอก และรองศาสตราจารย์ ดร. อาภัสสร ชูเทศะ กรรมการสาขาวิชารอง เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและคำแนะนำในด้านการทดลองอย่างใกล้ชิด ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ และ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ประสานพานิช ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

พร้อมกันนี้ขอขอบพระคุณ บริษัท SUMITOMO ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ฟรีไบโอติก พร้อมทั้งเงินทุนสนับสนุนการทำวิจัย อาจารย์นายสัตวแพทย์ เกรียงไกร ประการแก้ว และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ผู้ช่วยศาสตราจารย์สัตวแพทย์หญิง ดร. รุ่งทิวา สิริมุขลินท์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม ที่ให้คำปรึกษานำเสนอและเอื้อเฟื้อสถานที่การปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาและพยาธิวิทยา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสมศักดิ์ คุณแม่หัสยา ที่ให้ความรัก กำลังใจ และให้โอกาสในการศึกษา พร้อมทั้งเป็นต้นแบบในการดำเนินชีวิตเสมอมา ขอกราบขอบพระคุณครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้ ตลอดจนจริยธรรมในการดำเนินชีวิต และขอขอบคุณ คุณสุรพงษ์ ทองเรือง ผู้ที่คอยให้กำลังใจตลอดการศึกษาปริญญาโท รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ น้อง และผู้ที่ไม่ได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่ได้สนับสนุนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์

โสมรพีย์ ภูมิภักดีพรรณ

มีนาคม 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
ผลและวิจารณ์	38
สรุปและข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	78

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 การเลือกใช้เกลือโคโอลิโกแซคคาไรด์ โดยจุลินทรีย์ต่างๆ ในหลอดทดลอง	10
2 แบคทีเรียสามัญที่พบในระบบทางเดินอาหารของไก่	16
3 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารและค่าโภชนะที่ได้จากการคำนวณของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองระยะเล็ก	26
4 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนในอาหารพื้นฐานไก่กระทรงระยะเล็ก	27
5 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารและค่าโภชนะที่ได้จากการคำนวณของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองระยะเล็ก และระยะรุ่น	32
6 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนในอาหารพื้นฐานไก่กระทรงระยะเล็ก	33
7 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักตัวและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่กระทรง	38
8 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อ pH ในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทรง	39
9 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อความยาวลำไส้ของไก่กระทรง	40
10 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทรง	41
11 อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง	42
12 ความยาวของ villi และ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง	43
13 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทรงอายุ 42 วัน	46
14 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อลักษณะคุณภาพซากของไก่กระทรง 42 วัน	47
15 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อความยาวและน้ำหนักลำไส้ของไก่กระทรงอายุ 42 วัน	49
16 อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง	51
17 ความยาวของ villi และ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง	52
18 ปริมาณกรดไขมันสายสั้น (กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมด) ในไส้ติ่งไก่กระทรง 42 วัน	53
19 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม <i>Lactobacillus</i> spp. (CFU/g) ของไก่กระทรง 42 วัน	55
20 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อ pH ในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทรง 42 วัน	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
21	แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทง 42 วัน	57
22	แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักม้ามและเบอร์ซาของไก่กระทง 42 วัน	58
23	แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อระดับฮอร์โมนไทรไอโอโดไทโรนีน (T3) ของไก่กระทง 42 วัน	59
24	แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่ออัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (H:L) และระดับแอนติบอดีนิวคาสเซิล (ND Titer) ของไก่กระทง 42 วัน	60
25	แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดในซีรัม อัลบูมิน อัลฟา-กลอบูลิน บีตา-กลอบูลิน แกมมา-กลอบูลิน กลอบูลิน และสัดส่วนของอัลบูมินต่อกลอบูลินของไก่กระทง 42 วัน	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ผลของการย่อยสลายสารอาหารและสารเมแทบอลิท์โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่	11
2 โครงสร้างของโซเดียมกลูโคเนต	14
3 villi และ crypt ของเยื่อผิวลำไส้เล็ก	18

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ผลของการเสริมฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยา
ของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระตัง

**Effect of Sodium Gluconate Supplementation as Prebiotic on Growth
Performance, Digestive Physiology and Immunity in Broilers**

คำนำ

การผลิตสัตว์ในปัจจุบันต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพการผลิต คือ การเจริญเติบโต ให้ผลผลิตสูง ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีและต้นทุนในการผลิตต่ำ นอกจากนั้นยังต้องคำนึงถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้วย จึงมีการนำยาปฏิชีวนะ (antibiotic) มาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต ซึ่งยาปฏิชีวนะมีความสำคัญมากในการจัดการอุตสาหกรรมสัตว์ปีกจากฟาร์มมาสู่การผลิตในโรงงาน โดยมีจุดประสงค์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต (growth promoters) ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตถึง 13.7% (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา, 2548) และเพื่อป้องกันโรคจากเชื้อแบคทีเรีย ทั้งในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินหายใจ (Kjeldsen, 1997) อย่างไรก็ตามมีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ เพราะอาจทำให้จุลินทรีย์ดื้อยาได้ และยาปฏิชีวนะมีผลตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค จึงทำให้มีการคิดค้นสารทดแทนและให้ผลดี เช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะ (สาร, 2547) ดังนั้นในวงการปศุสัตว์ให้ความสนใจกับโปรไบโอติก (probiotics) และฟรีไบโอติก (prebiotics) แทนยาปฏิชีวนะ ซึ่งโปรไบโอติก คือ เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เมื่อสัตว์กินเข้าไปแล้วจะมีผลในการลดจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ พร้อมๆ กับเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้สัตว์เจริญเติบโตและให้ผลผลิตดีขึ้น (Havenaar *et al*, 1992) แต่การทำงานของจุลินทรีย์ขึ้นกับความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์โดยต้องมีความเข้มข้น 10^6 - 10^7 ต่อกรัมของอาหารที่อยู่ในลำไส้ เพื่อทำให้เกิดสถานะสมดุลระหว่างโปรไบโอติกและแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหาร และในระดับความเข้มข้นนี้ถึงทำให้เกิดการทำงานของโปรไบโอติก นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ของปริมาณสารต่างๆ ในร่างกาย เช่น กรดอะมิโน และวิตามิน เป็นต้น (บุญล้อม และ สุชน, 2546)

โปรไบโอติกมีผลทำให้ระดับ pH ต่ำลง ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค แต่เมื่อ pH ต่ำลงมาก ๆ จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกเองก็ไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ ดังนั้นการใช้โปรไบโอติกต้องให้อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา เพื่อให้ระดับของโปรไบโอติกคงที่ และมีปริมาณสูง

ในระบบทางเดินอาหาร ส่วนข้อจำกัดของโปรไบโอติก คือ เป็นจุลินทรีย์มีชีวิตไม่สามารถทนกรดในกระเพาะอาหารได้ ส่งผลให้เหลือจุลินทรีย์มีชีวิตผ่านไปถึงลำไส้ได้น้อย (นรินทร์, 2544) ด้วยเหตุนี้เองทำให้มีการนำโปรไบโอติกมาใช้กันมากขึ้น เพราะโปรไบโอติก คือ ส่วนประกอบของอาหารที่ย่อยไม่ได้โดยเอนไซม์ของสัตว์ แต่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์โดยการเลือกกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่อยู่ในลำไส้ (Gibson and Roberfroid, 1995) โดยโปรไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ ไม่มีผลข้างเคียงเรื่องสารพิษตกค้างหรือก่อโรค สามารถทนทานต่ออุณหภูมิสูงและทนทานต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังมีผลกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (สาโรช, 2547)

โซเดียมกลูโคเนตเป็นโปรไบโอติกที่อยู่ในกลุ่มของ Sugar acid ผลิตจากการหมักของกลูโคสที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งเกิดจากพวก *Gluconobacter* spp. มีการละลายน้ำได้ดี มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวเป็นลักษณะของโปรไบโอติก (Depenmeier et al, 2002) การศึกษาของ Biagi et al (2006) ใช้โซเดียมกลูโคเนตผสมลงในสูตรอาหารลูกสุกรเพื่อที่จะศึกษาสมรรถภาพการผลิต ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ และลักษณะทางสรีรวิทยาของลำไส้ โดยพบว่ายังไม่มีการศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตในไก่กระตัง

วัตถุประสงค์

1. การศึกษาผลของพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการการเจริญเติบโต
2. การศึกษาผลของพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนตต่อสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหาร
3. การศึกษาผลของพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนตต่อระบบภูมิคุ้มกัน

การตรวจเอกสาร

พรีไบโอติก

พรีไบโอติก เป็นสารอาหารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่เสริมให้กับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารเพื่อช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์อยู่ในลำไส้และช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในร่างกาย ทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น (สาโรช, 2547) โดยมีคุณสมบัติ คือ ไม่ถูกย่อยหรือถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน แต่ถูกหมักย่อยได้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และสามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gibson and Roberfroid, 1995; Ross, 1999) นอกจากนั้น พรีไบโอติกบางชนิดมีหน้าที่จับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) เช่น *E.coli* และ *Salmonella* แล้วกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับอุจจาระ (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา, 2548)

ประเภทของพรีไบโอติก

เฉลิมขวัญ และมัลลิกา (2548) รายงานว่าสารที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติกได้ จำเป็นต้องมีลักษณะที่สำคัญอย่างน้อย 3 ประการ คือ สารนั้นจะต้องไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก มีความจำเพาะกับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ และการหมักของสารนั้นมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อ host ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของพรีไบโอติกได้ดังนี้

1. กรดน้ำตาล (sugar acid)

จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (degree of polymerization) เพียง 1-2 ตัว ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น maltitol, sorbitol, isomalt, xylitol และ lactitol เป็นต้น ในบางครั้งเรียกน้ำตาลแอลกอฮอล์ ว่า POLYOLS สามารถเป็นสารให้ความหวานได้ โดยมีความหวานประมาณ 3 ใน 4 หรือ ครึ่งหนึ่งของน้ำตาล Salminen *et al.* (1993) รายงานว่า lactitol ช่วยเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ของคน ช่วยป้องกันการติดเชื้อในลำไส้และป้องกันการก่อมะเร็ง อีกทั้งยังสามารถช่วยเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแกรมบวกและลดระดับความเป็นกรด-ด่างในมูลได้

2. โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides)

สำหรับพรีไบโอติกในกลุ่มนี้ เกิดจากโมโนแซคคาไรด์จัดเป็น short-chain polysaccharide ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 2 ถึง 20 หน่วย มาต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) โอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารอาหารของจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ซึ่งในบางครั้ง อาจเรียกว่า โคลอนิกฟู้ด (colonic food) ได้แก่ ราฟิโนส (raffinose), สตาร์ชีโอต์ (stachyose), ไซโล- โอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharides), พาราติโนส (palatinose) และฟรุคโต- โอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides; FOS) ซึ่งจัดเป็น non-digestible oligosaccharides ที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติกได้ด้วย (กรรณิการ์, 2545) โอลิโกแซคคาไรด์สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.1 แลคทูโลส (lactulose)

แลคทูโลส เป็นน้ำตาลไดแซคคาไรด์ ที่แยกได้จากนม ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์แต่สามารถถูกย่อยได้ด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลำไส้ ได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายโซ่สั้นทำให้ระดับความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลงต่ำลงจนไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพวก *Bacteriodes*, *Clostridium* และ *Eubacterium* นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มจำนวน *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* และ *Streptococcus* (Ross, 1999)

Newman (1995) รายงานว่าโอลิโกแซคคาไรด์นอกจากจะเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์แล้ว พบว่ายังสามารถจับกับรีเซพเตอร์ บนผิวของแบคทีเรียที่ก่อโรค เช่น *E.coli* และ *Salmonella* เพื่อป้องกันหรือลดการเกาะบนผนังลำไส้ของแบคทีเรียก่อโรค และพาเอาจุลินทรีย์ออกมาทางมูลของสัตว์ ซึ่งก็สอดคล้องกับ Terada *et al.* (1992) ที่รายงานว่าการเสริมแลคทูโลสในอาหารคน 3 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีผลให้จำนวนของ *Bifidobacteria* ในมูลเพิ่มขึ้น และมีระดับความเป็นกรด-ด่างในมูลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

2.2 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo – oligosaccharide; FOS)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลเชิงซ้อนของ เบต้าแทน (β - D - fructans) สายโซ่สั้นและปานกลาง ประกอบด้วย ฟรุคโตซิล (fructosyl มาต่อกันด้วยพันธะ เบต้า - 2 - 1 ไกลโคซิดิก (β - 2 – 1 glycosidic linkage) (Campbell *et al.*, 1997)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สังเคราะห์ได้จากน้ำตาลซูโครส (sucrose) โดยใช้

เอนไซม์ ทรานสฟรุคโตซิเลส (transfructosylase) ซึ่งมีโครงสร้างของกลูโคส (glucose) เชื่อมกับ ฟรุคโตส (fructose) 2-4 หน่วย หรือใช้การสกัดอินนูลิน (inulin) จากหัวชิคอรี่ (chicory roots) จากนั้นนำอินนูลินมาผ่านขบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) จะได้ผลผลิต 2 ชนิด คือ ชนิดที่มี กลูโคสและไม่มีกลูโคส (Monsan and Paul, 1995)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของคน และสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ แต่จะถูกหมักย่อยโดยจุลินทรีย์บริเวณลำไส้ใหญ่ ช่วย กระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้สามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อื่นๆ ที่ก่อให้เกิดโรคโดยการผลิตกรดไขมันสายโซ่สั้น ส่งผลให้ความเป็นกรด - ด่างในลำไส้ลดลง ทำให้เกิดความไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ก่อโรค (Ross, 1999) นอกจากนั้น Campbell *et al.* (1997) รายงานว่าการเสริม ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 6% ในอาหารหนู เป็นเวลา 14 วัน พบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacteria* และ จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีจำนวนสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Gibson and Roberfroid (1995) ทดลองเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ 15 กรัมต่อวัน ในอาหารของคนจำนวน 15 วัน พบว่าสามารถเพิ่มจำนวน *Bifidobacteria* ในมูลสูงขึ้น

2.3 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto – oligosaccharide; GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ หรือ ทรานสกาแลคโตซิเลส โอลิโกแซคคาไรด์ (transgalactosylase – oligosaccharide; TOS) สังเคราะห์จากน้ำตาลแลคโตส (lactose) ในนมโดย ขบวนการทรานสกาแลคโตซิลเลชั่น (transgalactosylation) ด้วยเอนไซม์เบต้า – ทรานสกาแลคโตซิ เดส (β - transgalactosydase) (Ross, 1999) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่สามารถถูกย่อยและดูด ซึมได้ในลำไส้เล็กของคนและสัตว์ แต่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bifidobacteria* ใน หลอดทดลองได้ (Bouhnik *et al.*, 1997)

2.4 โอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง (soybean - oligosaccharide)

โอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง ประกอบด้วย ไตรแซคคาไรด์ราฟิโนส (trisaccharide raffinose) และเตตราแซคคาไรด์ สตาร์ชีโอส (tetrasaccharide stachyose) สามารถ สกัดได้จากถั่วเหลืองโดยตรง (Ross, 1999)

2.5 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ชนิดอื่น (non – digestible oligosaccharide)

นอกจากโอลิโกแซคคาไรด์ ดังที่กล่าวข้างต้นแล้วยังมีโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดที่ไม่สามารถย่อยได้ชนิดอื่น (nondigestible oligosaccharide) เช่น 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)

3. โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide)

3.1 อินนูลิน (inulin)

อินนูลินสกัดจากหัวช็อคอริ อินนูลินไม่สามารถย่อยสลายและดูดซึมในลำไส้เล็ก และมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกได้เช่นเดียวกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ การเสริมอินนูลินในอาหารคนสามารถออกฤทธิ์เป็นพรีไบโอติกได้ (Ross, 1999) สอดคล้องกับ Gibson and Roberfroid (1995) รายงานการวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเคมี และการย่อยอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากหัวช็อคอริ โดยจุลินทรีย์จากลำไส้ในหลอดทดลอง ด้วยวิธี Gas chromatography พบว่าอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ถูกย่อยสลาย และนำไปใช้จนหมด โดยเฉพาะจุลินทรีย์ *Bifidobacteria* สามารถย่อยสลาย ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ได้ดีกว่าอินนูลิน

3.2 รีซิสแตนท์ สตาร์ท (resistant starch)

แป้งบางส่วนที่ไม่สามารถถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) และ แอลฟา-อะไมโลกลูโคซิเดส (α -amylglucosidase) ในลำไส้เล็ก อาจเนื่องจากมีโครงสร้างที่ย่อยยาก เช่น เมล็ดธัญพืช ถั่วที่ยังไม่ผ่านการบด และแป้งที่มีโครงสร้างเป็นผลึกมีความหนาแน่นสูง เช่น แป้งในมันฝรั่ง แป้งข้าวโพด ข้าวที่ไม่ผ่านการทำให้สุก และแป้งที่ผ่านขบวนการความร้อนหรือเย็นมากเกินไป จะทำให้ย่อยยาก หรืออีกสาเหตุหนึ่งคือการที่มีสารประกอบอื่นในอาหาร เช่น ไฟเตท และลิกนิน ไปจับเป็นสารประกอบเชิงซ้อนทำให้เอนไซม์ไม่สามารถย่อยได้ รีซิสแตนท์ สตาร์ทจะผ่านลำไส้เล็กลงไปสู่ลำไส้ใหญ่โดยไม่ถูกย่อย อย่างไรก็ตาม รีซิสแตนท์ สตาร์ท ยังไม่ถูกจัดเป็นพรีไบโอติก ถึงแม้ว่ามีผลช่วยเพิ่มการขยายจำนวนของ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ในหนู เนื่องจากยังไม่ทราบผลต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่แน่นอนในคนและสัตว์อื่น (Ross, 1999)

4. กลุ่มอื่นๆ

4.1 Mucin glycoproteins

ถูกสร้างโดย goblet cells ที่อยู่ในเยื่อเมือกในลำไส้และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้ (สารโรซ, 2547)

4.2 Related mucopolysaccharides

เช่น chondroitin sulphate, heparin, pancreatic และ bacterial secretions ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้ (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา 2548)

4.3 Protein and peptides

สารเหล่านี้สร้างขึ้นในอาหารสร้างโดยการหลั่งของตับอ่อนหรือสร้างโดยแบคทีเรีย แต่จะมีปริมาณน้อยกว่าพวกคาร์โบไฮเดรต (Ross, 1999)

กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

เนื่องจากพรีไบโอติกมีแหล่งที่มาหลากหลายและมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันจึงมีกลไกการทำงานหลายวิธี ดังนี้

1. เลือกกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยกลไกช่วยในการเลือกทำงาน 2 กลไก คือ

1.1 การแก่งแย่งเพื่อขจัดออก (competitive exclusion, CE) ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์จำเพาะ อาทิ เอนไซม์ β -fructosidase และ β -galactosidase เป็นต้น (สารโรซ, 2547)

1.2 พรีไบโอติกจับเกาะกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถยึดเกาะกับเยื่อเมือกในลำไส้ได้ จึงถูกขจัดออกไป (Aniansson *et al.*, 1990)

2. กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยพรีไบโอติกทำปฏิกิริยากับ protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อเมือกในลำไส้ ยังผลให้มีการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น (Chesson, 1993; Savage *et al.*, 1996)

3. เพิ่มจำนวนของเซลล์ goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้เล็ก ช่วยปกป้องลำไส้จากการติดเชื้อ (Savage *et al.*, 1997)

4. อาจมีผลในการยับยั้งมะเร็งโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์และการต้านอนุมูลอิสระ (Chorvaticova *et al.*, 1999; Krizkova *et al.*, 2001)

นอกจากนี้พรีไบโอติกยังอาจช่วยลดการโยกย้าย (translocation) ของเชื้อจุลินทรีย์มิให้เข้าไปในระบบของร่างกาย อันเป็นการช่วยรักษาสารภูมิกัมกันไว้ มิให้ถูกใช้โดยไม่จำเป็น (Monsan and Paul, 1995)

การหมักย่อยพรีไบโอติกโดยจุลินทรีย์

เนื่องจากคุณสมบัติของพรีไบโอติกที่ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้ส่วนต้นของสัตว์ กระเพาะเคี้ยว ดังได้กล่าวไปแล้ว สาร (2547) รายงานว่าปกติแป้งจะถูกย่อยโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) หรือแอลฟา-1,4 กลูแคน-4-กลูโคโนไฮโดรเลส (α -1,4 glucan-4-gluconohydrolase) เป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำลาย และตับอ่อน สามารถย่อยพันธะแอลฟา (1 $\rightarrow$ 4) ไกลโคซิดิกของแป้ง แต่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเคี้ยว ไม่สามารถย่อยพันธะ เบต้า-ไกลโคซิดิก ทำให้พรีไบโอติกไม่สามารถถูกย่อยได้ แต่ถูกใช้เป็นอาหาร และหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ (colonic fermentation) ในลำไส้

พรีไบโอติกมีคุณสมบัติเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะ ถูกเลือกใช้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ แต่ไม่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ จากตารางที่ 1 เห็นได้ว่ากลูโคโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนจำเพาะถูกคัดเลือกใช้เป็นอาหาร โดย *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* และ *Eubacterium* มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวน (Monsan and Paul, 1995) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เป็นแซคคาโรไลติก (saccharolytic) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โพลีไฮโดรเลส (polyhydrolase) และไกลโคซิเดส (glycosidase) ได้หลายชนิด สามารถหมักย่อยสายโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต หรือพรีไบโอติกได้ดี ในขณะที่จุลินทรีย์ในกลุ่มเป็นโทษ เช่น *Clostridium*, *Enterobacterium* และ *Coliforms* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มโปรติโอไลติก (proteolytic) มีความสามารถในการย่อยพรีไบโอติกได้ต่ำหรือไม่สามารถย่อยใช้ประโยชน์ได้ (Gibson and Roberfroid., 1995; Hudson and Marsh, 1995)

ตารางที่ 1 การเลือกใช้กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ โดยจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในหลอดทดลอง

Carbon source	Glucose (control)	Glucooligosaccharide
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	+++	++
<i>Bifidobacterium animalis</i>	+	+++
<i>Bifidobacterium breve</i>	+++	+++
<i>Bifidobacterium longum</i>	+++	+++
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	++	++
<i>Lactobacillus casei</i>	+++	++
<i>Lactobacillus fermentum</i>	++	±
<i>Lactobacillus gasseri</i>	++	±
<i>Bacteroides bivius</i>	++	+
<i>Bacteroides intermedius</i>	++	++
<i>Bacteroides ovatus</i>	+	+
<i>Bacteroides thetaiomicon</i>	+	+
<i>Bacteroides uniformis</i>	+	+
<i>Clostridium butyricum</i>	++	+
<i>Clostridium cadaveris</i>	+	-
<i>Clostridium difficile</i>	+	-
<i>Clostridium innocuum</i>	++	-
<i>Clostridium paraputrificum</i>	+	-
<i>Clostridium perfringens</i>	+++	-
<i>Eubacterium areofaciens</i>	++	-
<i>Escherichia coli</i>	+	-

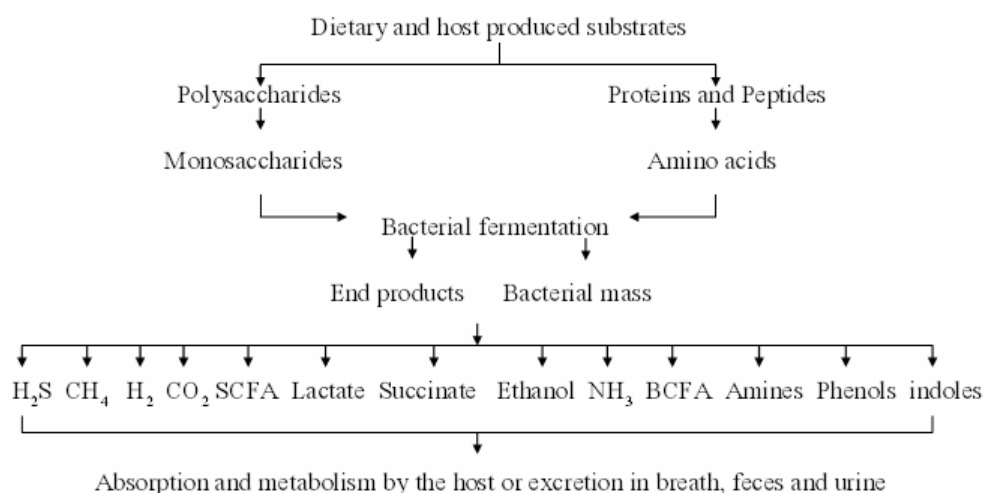
หมายเหตุ + หมายถึง จุลินทรีย์สามารถหมักย่อย glucose และ GOS ได้

- จุลินทรีย์ไม่สามารถหมักย่อย glucose และ GOS ได้

± หมายถึง จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยได้ในบางครั้ง

ที่มา: Monsan and Paul (1995)

การหมักย่อยของพรีไบโอติกให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดไขมันสายสั้น(short chain fatty acid, SCFA) เช่น อะซิเตท (acetate) โพรพิโอเนท (propionate) บิวทีเรท (butyrate) กรดไขมันสายแขนง (branched-chained fatty acid, BCFA) กรดอินทรีย์ (organic acid) เช่น กรดแลกติก (lactic acid) กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดซักซินิก (succinic acid) เอมีน (amine) และก๊าซชนิดต่าง ๆ เช่น ไฮโดรเจน (H_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) มีเทน (CH_4) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เป็นต้น (ภาพที่ 1) (Gibson and Roberfroid, 1995; Hudson and Marsh, 1995) โดยผลผลิตเหล่านี้จะเป็นแหล่งพลังงานให้กับแบคทีเรีย ซึ่งจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถนำสารที่เหลือจากการย่อยของเชื้ออื่นไปเป็นอาหารของตัวเองได้ด้วย ผลผลิตเหล่านี้ส่งผลหลากหลายต่อสุขภาพ (Gibson and Roberfroid, 1995)



ภาพที่ 1 ผลของการย่อยสลายสารอาหารและสารเมแทบอลิท์โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่
ที่มา: สุวรรณ (2548)

โดย SCFA มีผลในส่วนของ epithelium ของลำไส้ และสามารถดูดซึมได้อย่างรวดเร็วที่ลำไส้ส่วนท้าย นอกจากนั้นยังช่วยกระตุ้นการดูดซึมของเกลือและน้ำ (Sakata, 1987; Frankel *et al.*, 1994) และ SCFA ยังถูกดูดซึมกลับเข้าไปในกระแสเลือดและกลับไปตับ โดยสัตว์ที่มีอายุมากสามารถใช้ประโยชน์จาก SCFA ได้มากขึ้น (บุญล้อม, 2541) ซึ่ง SCFA ประกอบด้วย

1. อะซิเตท เป็น SCFA ที่สำคัญในลำไส้ถูกดูดซึมที่ epithelium และเส้นเลือด เพื่อเข้าสู่ตับได้จากการหมักของพวกคาร์โบไฮเดรตโดยให้พลังงานประมาณ 1.5-2 kcal/g สามารถให้พลังงานสุทธิเท่ากับ 10 ATP/mol ของอะซิเตท (Livesey, 1990)
2. โพรพิโอเนท สามารถยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในเลือด จึงทำให้ปริมาณ

คอเลสเทอรอลในเลือดลดลง สามารถให้พลังงานสุทธิเท่ากับ 18 ATP/mol ของโพรพิโอเนท (Stephen, 1994)

3. บิวทีเรท มีความสำคัญเกี่ยวกับแหล่งพลังงานใน colonic epithelium กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ลำไส้ สามารถให้พลังงานสุทธิเท่ากับ 27 ATP/mol ของบิวทีเรท (Cumming, 1995)

นอกจากนี้จุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นประโยชน์ยังสามารถสะสมผลผลิตสุดท้ายจากการหมัก เช่น แอมโมเนีย (ammonia) ส่วนประกอบที่เป็นฟีนอลิก (phenolic) และเอมีน (amines) เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์เอง (Gibson and Roberfroid, 1995)

ประโยชน์ของการใช้พรีไบโอติกในอาหารสัตว์

พรีไบโอติกมีศักยภาพสูงมากในการเป็นสารทดแทนยาปฏิชีวนะ (antibiotic growth promoters, AGPs) ในอาหารสัตว์ เพราะพรีไบโอติกมีข้อได้เปรียบเหนือ AGPs หลายประการ เช่น

1. เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่มีอยู่ในธรรมชาติ จึงไม่มีผลข้างเคียงเรื่องสารพิษตกค้างหรือก่อโรค (สาโรช, 2547)

2. ทนทานต่ออุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตอาหาร และทนทานต่อความเป็นกรดในกระเพาะจึงใช้ได้ง่ายไม่ต้องกังวลเรื่องการถูกทำลาย หรือจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดก่อนที่จะออกฤทธิ์ในสัตว์ (สาโรช, 2547)

3. ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เนื่องจากการเสริมพรีไบโอติกเป็นการเพิ่มสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในร่างกาย ซึ่งจะเพิ่มกิจกรรมและจำนวนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในลำไส้ขึ้น เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ โดยการแข่งขันหรือกีดกันการเกาะจับพื้นที่ผิวในลำไส้และช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในให้เหมาะสม เพื่อลดการติดเชื้อ (Ross, 1999) และในการหมักย่อยพรีไบโอติกของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ผลผลิตสุดท้ายได้เป็นกรดไขมันสายสั้น เช่น อะซิเตท แลคเตท โพรพิโอเนท และบิวทีเรท ซึ่งเป็นผลผลิตที่มีประโยชน์ เช่น บิวทีเรทช่วยกระตุ้นให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโต หยุดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ในการต้านทานการเกิดมะเร็ง

ได้ (Gibson and Wang, 1994) นอกจากนั้นยังส่งผลให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลงจนไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ตลอดจนช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษลง (Gibson, 1998)

4. สังเคราะห์ได้ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ (สารโรซ, 2547)

5. สารพรีไบโอติกบางตัว เช่น FOS ช่วยให้มีการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียม และแมกนีเซียมในลำไส้ใหญ่ ทำให้มีการดูดซับแร่ธาตุได้ดีขึ้นและยังทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นให้กับ epithelial cell ในลำไส้ด้วย (Lutz and Scharrer, 1991) อีกทั้งความเข้มข้นของแคลเซียมในลำไส้ที่สูงขึ้น จะช่วยให้เกิด insoluble bile หรือเกลือของกรดไขมัน ซึ่งช่วยลดอันตรายจากผลของ bile หรือกรดไขมันที่มีต่อเซลล์ในลำไส้ใหญ่ (colonocytes) ได้ และความเข้มข้นของ cation ที่ลำไส้ใหญ่นี้อาจช่วยควบคุมอัตราการแบ่งตัวและการตายเซลล์ (cell turnover) ได้ด้วย (Pierre *et al.*, 1997)

6. การใช้สารพรีไบโอติก ลดการย่อยโปรตีนในลำไส้ใหญ่ โดยไปฟิโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลัส มีเอนไซม์สลายโปรตีนกลุ่ม azoreductase, nitroreductase, nitrate reductase และ β -glucuronidase ต่ำ จึงสลายโปรตีนให้เกิดสารพิษกลุ่มแอมโมเนีย อินโดล (indoles) และฟีนอล (phenols) ลดลง ทำให้โอกาสที่สารพิษเหล่านี้จะก่อให้เกิดการหลุดลอกของเยื่อบุลำไส้ใหญ่ อันเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ลดลง (Swanson and Fahey, 2002) นอกจากนั้น การเสริมพรีไบโอติกในสุตรอาหารสามารถช่วยลดกลิ่นเหม็นและแอมโมเนียในมูลได้ (ศุภวันจักรี และ สมชัย, 2545)

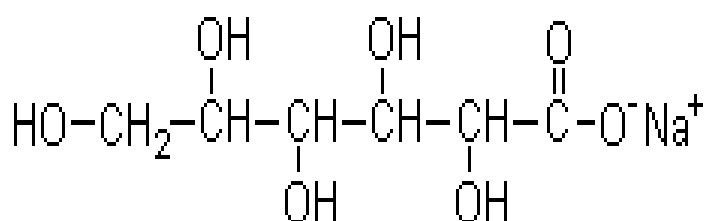
7. พรีไบโอติกมีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันในตับจึงมีผลให้ไขมันและคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Williams and Jackson, 2002; Canzi *et al.*, 1995)

8. การเพิ่มความยาวของลำไส้ Trevino *et al.*, (1990) รายงานการเสริมพรีไบโอติกมีผลเพิ่มความสูงของ villi ต่อความลึกของ crypt เพิ่มปริมาณของเซลล์ goblet ช่วยขับหลังสารเมือกออกมา ปกป้องลำไส้จากเชื้อโรค เพิ่มความสม่ำเสมอและความสามารถในการทำหน้าที่ (integrity) ของ villi และช่วยปรับปรุงสุขภาพของทางเดินอาหาร โดยเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อทางเดินอาหาร และเพิ่มพลังงานสุทธิในสัตว์ (Hooge, 2003)

9. การผลิตวิตามิน Gibson and Roberfroid (1995) รายงานว่า แบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacteria* และกลุ่มแลคโตบาซิลลัสสามารถผลิตวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 และไบโอติน

โซเดียมกลูโคเนต (Sodium Gluconate)

โซเดียมกลูโคเนตมีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น D-gluconic acid, sodium salt, monosodium salt เป็นต้น โซเดียมกลูโคเนตเป็นผลิตภัณฑ์จากการหมักของกลูโคสที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งเกิดจากพวก *Gluconobacter* spp. มีการละลายน้ำได้ดี มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก และเป็นสารตั้งต้นในการหมัก butyric acid มีโครงสร้างดังภาพที่ 2 (Depenmeier *et al.*, 2002) *Gluconobacter* spp. มักพบได้จากการหมักดอกไม้และผลไม้ (Gupta *et al.*, 2001) และยังสามารถพบในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ เช่น เบียร์ และ ไวน์ เป็นต้น (Battey and Schaffner, 2001) ซึ่งโซเดียมกลูโคเนตเมื่อเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะสามารถเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้น เช่น อะซิเตท (acetate) โพรพิโอเนต (propionate) บิวทีเรต (butyrate) เป็นต้น และส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น (Biagi *et al.*, 2006)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของโซเดียมกลูโคเนต

ที่มา: Depenmeier *et al.* (2002)

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารของสัตว์แรกเกิดจะไม่มีจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบ แต่จุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมจะเข้าไปในระบบทางเดินอาหารภายในระยะเวลาไม่กี่นาทีหลังคลอด และแม่จะเป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ที่สำคัญแก่ลูกสัตว์ แบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารมีการเปลี่ยนแปลงตามการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่กิน ระบบทางเดินอาหารเป็นส่วนที่มีจุลินทรีย์จำนวนมากและแตกต่าง

กันถึง 400-500 ชนิด (บุษบา, 2543) ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียไม่มากนัก อาจมีประมาณ 10^3 ตัวต่อมิลลิลิตร เพราะแบคทีเรียเหล่านี้จะถูกฆ่าโดยกรดและเอนไซม์จากกระเพาะอาหารและลำไส้ แต่ในลำไส้เล็กส่วนกลางส่วนใหญ่พบแบคทีเรีย *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Haemophilus*, *Veillonella*, *Actinomycetes* และยีสต์ โดยเฉพาะ *Candida albicans* เพียงปริมาณเล็กน้อยแต่พบมากในลำไส้เล็กส่วนปลาย (Alles *et al.*, 1996) ในลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอนมีจุลินทรีย์มากที่สุดประมาณ 10^{11} เซลล์/กรัมของมูล และในลำไส้ใหญ่มีจุลินทรีย์อยู่ประมาณ 50 ชนิด โดยมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร (บุษบา, 2543) ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียพวก obligate anaerobes ซึ่งมีมากกว่า facultative organism ในอัตราส่วน 1000:1 จุลินทรีย์ที่พบเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ *Bacteriodes*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *lactobacillus*, Coliforms, anrobie, anaerobic streptococci, *Clostridium* และ ยีสต์ โดยเฉพาะ *Bacteriodes* และ *Bifidobacteria* ซึ่งเป็น obligate anaerobes พบว่ามีมากกว่าร้อยละ 90 นอกจากนี้ยังพบว่า microflora ในลำไส้ใหญ่พวก Enterococci, Enterobacterium และ *Bacteriodes* ยังสามารถทนต่อเกลือและเอนไซม์จากตับอ่อนได้ด้วย (Bouhnik *et al.*, 1997) ในทางเดินอาหารของไก่พบแบคทีเรียหลายชนิดดังตารางที่ 2

จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหาร

จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่กลุ่มที่ไม่ก่อโรคหรือจุลินทรีย์เพื่อสุขภาพ ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่ม Lactic acid bacteria และนิยมนำมาใช้ในรูปแบบโปรไบโอติกผสมในอาหารคนและสัตว์ (Gibson and Roberfroid, 1995) จัดเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายประโยชน์ของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์คือ (John *et al.*, 1989; Gibson and Roberfroid, 1995)

1. สร้างกรดไขมันสายสั้น ได้แก่ กรดอะซิติก กรดบิวทีริก กรดโพรพิโอนิก และกรดแลคติก ทำให้ค่าพีเอชในทางเดินอาหารลดลง จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ และยังสามารถผลิตสารที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แกรมบวกและแกรมลบได้โดยตรง

2. ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น *lactobacillus plantarum* ผลิต lactolin *lactobacillus acidophilus* ผลิต acidophilus, lactocidin, acidolin เป็นต้น และออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella*, *Streptococci*, *Kerbsiella*, *Pseudomonas*, *E.coli* และ *Clostridium perfringens*

3. ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้โดยการแข่งขันแย่งอาหารและพื้นที่ในการเกาะจับเชื้อบนผนังลำไส้ ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง

4. สร้างวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบี และสร้างน้ำย่อย เช่น เคซีนฟอสฟาเตส (casein phosphatase) และไลโซไซม์ (lysozyme)

ตารางที่ 2 แบคทีเรียสามัญที่พบในระบบทางเดินอาหารของไก่

Savage (1977)	Wu (1987)
Bacteroides	<i>Bacteroides spp.</i>
Bifidobacterium	<i>Bacteroides fragilis</i>
Clostridium	<i>Bifidobacterium bifidus</i>
Escheridium	<i>Clostridium perfringens</i>
Eubacterium	<i>Clostridium beijerinckii</i>
Fusobacterium	<i>Clostridium spp.</i>
Gemminger	<i>Eubacterium spp.</i>
Lactobacillus	<i>Fusobacterium spp.</i>
Peptostreptococcus	<i>Gemminger formicills</i>
Propionibacterium	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Staphylococcus	<i>Lactobacillus fermentum</i>
Streptococcus	<i>Lactobacillus salivarius</i>
	<i>Micrococcus spp.</i>
	<i>Streptococcus faecium</i>
	<i>Streptococcus faecalis</i>
	<i>Ruminococcus obeum</i>

ที่มา: Savage (2001)

5. ช่วยปรับประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ให้คงสภาพอยู่หลังจากได้รับยาปฏิชีวนะ

6. Bifidobacterium ทำให้สารพิษ เช่น แอมโมเนีย เปลี่ยนเป็นรูปเกลือแอมโมเนียม ไม่ถูกดูดซึมเข้าร่างกาย ทำให้ระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำ และ Bifidobacteria จะไม่สร้างสารพิษ เช่น ออลิฟาติกเอมีน (aliphatic amine) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide) หรือไนไตรท์ (nitrite)

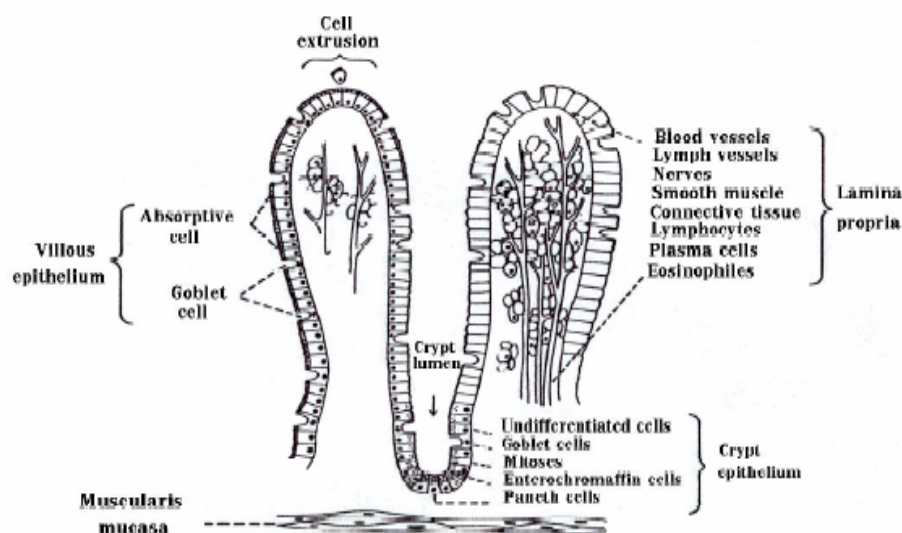
7. Bifidobacterium สร้างสารที่เป็น immunomodulator กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย เพิ่มความต้านทานต่อเซลล์มะเร็ง

ดังนั้น Bifidobacterium และ Lactobacillus จึงเป็นจุลินทรีย์สุขภาพที่พบมากในลำไส้ใหญ่ มีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคและเสริมสุขภาพแก่ร่างกาย โดยการสร้างกรดไขมันสายสั้น กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Gibson and Roberfroid, 1995) ปัจจัยส่งเสริมการเจริญของ Bifidobacteria หรือ bifidus factor คือสารจำพวกไกลโคโพรตีน ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส กาแลกโตส ฟรุคโตส และ N-acetyl glucosamine จากการศึกษาของ Gibson *et al.* (1999) ใช้โอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose, OF) และอินนูลิน (Inulin) เสริมในอาหาร พบว่าช่วยกระตุ้นการเจริญของ Bifidobacterium ขณะที่เชื้ออันตรายและก่อโรค เช่น *E.coli* และ *Clostridium* มีปริมาณลดลง เป็นผลจากการหลั่ง inhibitory substance ซึ่งสารตัวนี้จะไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของพีเอช และจะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

การพัฒนาโครงสร้างลำไส้เล็กของไก่กระทง

โครงสร้างของส่วนเยื่อผิว (mucosa) ในลำไส้เล็กของไก่กระทง จะมีการพัฒนาทันทีเมื่อไก่ได้รับอาหารหลังฟักออกจากไข่ เพื่อทำการย่อยและดูดซึมโภชนาต่าง ๆ ในอาหาร ไก่จะมีการเจริญเติบโตของ villi เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในทุกส่วนของลำไส้เล็กหลังฟักออก 2 วัน ซึ่งเป็น ผลจากการผลิตเซลล์จากส่วน crypt สอดคล้องกับความลึกของ crypt ที่เพิ่มขึ้นเป็น 2-3 เท่าตามอายุ โดยเกิดสูงสุดในส่วนลำไส้เล็กส่วนต้นและต่ำสุดในส่วนลำไส้เล็กส่วนปลาย ส่วนของ crypt จะประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดเซลล์ชนิด undifferentiated จะแบ่งตัวแล้วเคลื่อนไปสู่ส่วนปลายของ villus พร้อมกับการเจริญไปเป็นเซลล์ดูดซึม (Absorptive cell) และเซลล์หลั่งน้ำเมือก (Goblet cell) (ภาพที่ 3) เพื่อแทนที่เซลล์เก่าที่ลอกหลุดหรือถูกทำลายไปในส่วน lumen (Geyra *et al.*, 2001) เซลล์เหล่านี้จะถูกสร้างใหม่ทุก ๆ 2-3 วันในส่วนของเซลล์ crypt ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในความหนาแน่นของเซลล์ดูดซึม (enterocyte density) ตามอายุ โดยมีช่วงระหว่าง 200,000-280,000 เซลล์ ต่อตารางเซนติเมตรในทุกส่วนของลำไส้เล็ก (Uni *et al.*, 1995; Uni *et al.*, 1998) อัตราการย้ายของเซลล์จาก crypt หลังฟักออก 48 ชั่วโมง ในลำไส้เล็กส่วนต้นสูงที่สุดและลำไส้เล็ก

ส่วนปลายต่ำที่สุด แต่หลังจาก 48 ชั่วโมงแล้ว อัตราการย้ายที่ลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลางเท่ากัน แต่ที่ลำไส้เล็กส่วนปลายต่ำสุด ดังนั้นอัตราการพัฒนาของลำไส้ใหญ่ก็กระตือรือร้นสม่ำเสมอตลอดทั้งลำไส้ ในลำไส้เล็กส่วนต้นพัฒนาอย่างสมบูรณ์เมื่ออายุ 7 วัน ขณะที่ลำไส้เล็กส่วนกลางและลำไส้เล็กส่วนปลายต้องพัฒนาต่อไปจนกระทั่งไถ่อายุ 14 วัน



ภาพที่ 3 villi และ crypt ของเยื่อผิวลำไส้เล็ก

ที่มา: Strombeck and Guilford Wolfe (1991)

ระบบภูมิคุ้มกัน (Immunity)

ตามธรรมชาติร่างกายจะมีระบบภูมิคุ้มกันไว้เพื่อป้องกันอันตรายที่เกิดจากสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพซึ่งร่างกายได้รับเข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลไกการป้องกันและกำจัดจุลชีพหรือสารพิษอันทำให้เกิดโรค (ทัศนีย์, 2540) ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Nonspecific immunity)

ระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal tract)

ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่พบในระบบทางเดินอาหารมีหน้าที่สำคัญในการทำลายจุลชีพในระบบทางเดินอาหารก่อนเข้าสู่ร่างกาย การป้องกันนี้พบได้หลายรูปแบบ ดังเช่น สภาพความเป็น

กรดในกระเพาะมีค่าประมาณ 3-4 จะช่วยลดปริมาณของแบคทีเรียและไวรัสลงได้ และยังสามารถลด antigenicity ของแอนติเจนจากอาหารได้อีกด้วย น้ำมีความสำคัญในการทำลาย lipid-containing capsid virus และ enterobacteria หลายชนิด ส่วน epithelial surface ของกระเพาะและลำไส้สามารถป้องกันหรือลดการแทรกซึมของจุลชีพได้ โดยพบว่าเซลล์ในส่วนนี้ซึ่งปกติแล้วจะหลุดลอกและสร้างขึ้นใหม่อยู่เสมอ และในการเกิดการติดเชื้อของไวรัสหรือแบคทีเรียในลำไส้ย่อมทำให้เกิดการติดเชื้อของจุลชีพกับผิวเซลล์ ดังนั้นการลอกหลุดนี้จึงเป็นส่วนที่ช่วยลดการแทรกซึมของจุลชีพได้เป็นอย่างมาก น้ำเมือก (mucus) ที่พบในลำไส้ นอกจากจะช่วยหล่อลื่นและป้องกันผิวของลำไส้จากสภาพการเป็นกรดแล้ว ยังช่วยป้องกันการติดเชื้อในลำไส้ได้อีกด้วย โดยน้ำเมือกยังเป็นตัวกลาง (media) สำหรับสารต้านจุลชีพหลายชนิด เช่น IgA, lysozyme และ lactoferin เป็นต้น (โสมทต, 2538) กลุ่มแบคทีเรียที่พบในลำไส้ปกติ (intestinal microflora) จะมีวิธีการช่วยในการป้องกันการติดเชื้อโรคในลำไส้ได้หลายแบบ เช่น ลด receptor site บนผิวเซลล์โดยแย่งจับจุลชีพอื่น สร้างสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะกับการเจริญของจุลชีพอื่น สร้างสารเป็นกรดส่งผลทำให้ไปหยุดการเจริญของเชื้อ *E.coli* หรือสร้าง colicins ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวทำลายแบคทีเรียชนิดอื่น เป็นต้น (ทัศนีย์, 2540)

ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของทางเดินอาหารมีชื่อเรียกว่า gut associated lymphoid tissue (GALT) ประกอบด้วย Peyer's patches และ Lymphoid follicle ในส่วนของลำไส้เล็ก ไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่ ในสัตว์บางชนิดอาจพบ Peyer's patches ที่ไส้ติ่ง และยังมีกลุ่มเซลล์เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเป็นจำนวนมาก เช่น T-cell, Helper T cell, B cell และ macrophage ใน Peyer's patches ยังพบ M cell ซึ่งเป็น epithelial cell ที่มีลักษณะพิเศษโดยเฉพาะเซลล์นี้สามารถรับแอนติเจนจากลำไส้ได้และส่งต่อไปยัง lymphocyte เพื่อสร้าง IgA ภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ก็สามารถพบได้ในส่วนของลำไส้เช่นกัน โดยพบ lymphocyte จำนวนมากที่ base และ lateral surface ของ epithelial cell lymphocyte กลุ่มนี้มีหน้าที่แตกต่างกัน และ 80-90% ของเซลล์ลดการสร้างแอนติบอดี (suppressor T cell) นอกจากนี้ยังพบว่าลิมโฟไซต์ ทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้างแอนติบอดีชนิด IgA หลัง cytokines หรือเป็น Natural Killer cell (NK) อีกด้วย (กนกธร, 2545)

2. ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific immunity)

ภูมิคุ้มกันจากแอนติบอดี (Antibody-mediated immunity) แอนติบอดีที่มีความสำคัญในการป้องกันของระบบภูมิคุ้มกันมีหลายชนิด ดังนี้ (สุทธิพันธ์, 2537)

2.1 อิมมูโนโกลบูลินเอ (Immunoglobulin A, IgA)

เป็นแอนติบอดีที่สำคัญที่สุดของภูมิคุ้มกันระบบนี้ บทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อของ IgA คือ การยึดจับกับจุลชีพ และป้องกันมิให้จุลชีพเกาะติดกับ epithelial cell ของลำไส้ได้ IgA สร้างจาก plasma cell ซึ่งพบที่ submucosa ของลำไส้ IgA บางโมเลกุลจะรวมเข้ากับตัวรับ (receptor) ซึ่งจำเพาะกับ IgA เรียกว่า polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) ที่พบบน basal surface ของ epithelial cell IgA นั้นจะถูกส่งออกนอกเซลล์ในรูปของ secretory IgA ในสัตว์ปีกนั้น พบว่าประมาณ 30-75% ของ IgA ที่สร้างจากผนังลำไส้จะถูกดูดซึมเข้าตับ ซึ่งเซลล์ตับ (hepatocyte) จะสร้าง pIgR บนผิวเซลล์ เพื่อรับกับ IgA แล้วนำเข้าเซลล์และส่งออกนอกเซลล์อีกครั้งในรูปของ secretory IgA เข้าไปในน้ำดี (bile) ดังนั้น IgA จึงพบในน้ำดีได้มาก (กนกธร, 2545)

2.2 อิมมูโนโกลบูลินจี (Immunoglobulin G, IgG)

IgG ที่มีลักษณะคล้าย secretory IgG ชนิดนี้สามารถหยุดยั้งการเกาะติดของแบคทีเรียในลำไส้ได้ รวมทั้งสามารถทำลายไวรัสได้ และเป็นแอนติบอดีชนิดเดียวที่ผ่านจากรกแม่ (transplacenta) ไปสู่ลูก IgG มีบทบาทไม่มากนักในการทำลายสิ่งแปลกปลอมในระบบทางเดินอาหาร (สุทธิพันธ์, 2537)

2.3 อิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (Immunoglobulin M, IgM)

มีขนาดใหญ่ที่สุดและเป็นแอนติบอดีตัวแรกที่ร่างกายสร้างขึ้นในการตอบสนองต่อแอนติเจนที่ได้รับครั้งแรก IgM พบมากในลำไส้ของลูกสัตว์อ่อน แต่มีประสิทธิภาพค่อนข้างจำกัด (สุทธิพันธ์, 2537)

2.4 อิมมูโนโกลบูลินอี (Immunoglobulin E, IgE)

IgE เป็นภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะภูมิแพ้ (hypersensitivity) และเป็นภูมิคุ้มกันที่สำคัญในโรคติดเชื้อปรสิต พบมากในสัตว์ที่มีการติดเชื้อพยาธิตัวกลม ช่วยในการขับพยาธิออกโดยกระตุ้น mast cell ให้หลั่งสารที่กระตุ้นให้ลำไส้มีการบีบตัว รวมทั้งเพิ่มปริมาณของน้ำในลำไส้ (โสมทต, 2538)

จากการศึกษาในไก่พบว่ามีการสร้างอิมมูโนกลอบูลินได้ 3 ชนิด คือ IgG, IgA และ IgM (เกรียงศักดิ์, 2536)

ความเข้มข้นของโปรตีนในซีรัม

การศึกษาแบบของโปรตีนในซีรัม (Serum protein pattern) โดยเทคนิคเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้หลักการที่โปรตีนโมเลกุลแต่ละโมเลกุลมีประจุไฟฟ้าจะสามารถแยกชนิดของโปรตีนได้ ผลที่ได้จะแยกส่วนของซีรัมโปรตีนออกเป็นส่วนใหญ่ๆ 4 ส่วน คือ Albumin, α -globulin, β -globulin และ γ -globulin (โสมทัต, 2538)

ซึ่งจากเทคนิคนี้สะดวกและรวดเร็วในการวินิจฉัยหรือติดตามอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกาย จัดเป็น screening test ในการเริ่มต้นตรวจสอบความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน (immunodeficiency) การตรวจจะสามารถแสดงสภาวะด้านโภชนาการ หรือสภาวะการสูญเสียโปรตีนในเบื้องต้นได้ดี โดยอัลบูมินมีหน้าที่รักษาแรงดันออนโคติก (oncotic) และเป็นตัวขนส่งสารที่มีโมเลกุลเล็ก สามารถใช้เป็นเครื่องชี้วัดการทำงานของตับ ระดับกลอบูลินในซีรัมมักถูกใช้ตรวจสอบอาการอักเสบที่ตับ (chronic hepatitis) การเกิดเนื้องอก (neoplasia) และโรคไต (nephrotic syndrome) (Kaneko *et al*, 1997) โดยตรวจพบว่าอัลฟา-กลอบูลิน และบีตา-กลอบูลินจะเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงระดับแกมมากลอบูลินซึ่งประกอบด้วย IgG IgM IgA และ IgE ยังเกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Thomas, 1998)

อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกัน

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

1. อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันอันดับที่หนึ่ง (Primary Lymphoid Organ)

Primary lymphoid organ หรือ central lymphoid tissue เป็นอวัยวะที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ hemocytoblast มาจากไขกระดูก อวัยวะที่จัดเป็น primary lymphoid organ ได้แก่ ต่อมธัยมัส (thymus gland) ทำให้ stem cell ที่เข้ามาอยู่แบ่งตัว ต่อมธัยมัสมีหลายต่อมเรียงรายอยู่ในชั้นใต้ผิวหนังบริเวณลำคอ และเปลี่ยนเป็นไธโมไซต์ (thymocyte) ซึ่งจะเป็นที-ลิมโฟไซต์ต่อไป

และ Bursa of Fabricius ซึ่งอยู่ที่ cloaca ของสัตว์ปีกเป็นอวัยวะที่มีตำแหน่งเกาะติดบนผนังด้านนอกของทวารรวมและทำให้ stem cell เปลี่ยนเป็นบี-ลิมโฟไซต์ (วินูลย์ศรี, 2537)

1.1 Bursa of Fabricius

เป็นอวัยวะที่พบเฉพาะสัตว์ปีก มีลักษณะเป็นถุงต่อกับช่องขับถ่ายรวมตรงปลายสุดของทางเดินอาหารส่วนท้ายมีลักษณะคล้ายกับต่อมไธมัส ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเยื่อผิว (epithelium) ล้อมรอบด้วย ลิมโฟไซต์จำนวนมาก อวัยวะนี้เริ่มเกิดในตัวของลูกไก่อายุประมาณ 10 วันหลังจากฟักและจะมีขนาดโตเต็มที่ เมื่อลูกไก่อายุ 3 สัปดาห์หลังจากไข่และเมื่ออายุได้ 2 เดือนอวัยวะนี้จะเริ่มฝ่อลง จากการศึกษาโดยการตัด Bursa of Fabricius หลังจากไก่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆ เป็นผลให้ไก่ไม่สามารถสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนของแบคทีเรียได้ จากการค้นพบอวัยวะนี้จึงทราบว่าระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยอวัยวะ 2 โครงสร้างแยกจากกัน คือ Bursa of Fabricius เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันแบบหลังแอนติบอดีและต่อมไธมัสซึ่งเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (ไพศาล, 2548)

1.2 ต่อมไธมัส (Thymus)

ต่อมไธมัสอยู่ในบริเวณช่องอก เนื้อหัวใจ ประกอบด้วยพู 2 พูใหญ่ ห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ ซึ่งบางส่วนแผ่เข้าไปภายในและกั้นต่อมแบ่งออกเป็นพูเล็กๆ ต่อมไธมัสเจริญมาจากเนื้อเยื่อเอนโดเดิร์ม (endoderm) ของช่องคอ ต่อมไธมัสประกอบด้วยลิมโฟไซต์เรียกว่า ไธโมไซต์ (thymocyte) และเซลล์บุผิวเรียงตัวแบ่งเป็นชั้นด้านนอกหรือคอร์เทกซ์ (cortex) ส่วนชั้นในหรือเมดัลลา (medulla) เซลล์บุผิวจัดเรียงตัวต่อเนื่องเป็นตาข่ายทั่วไปในแต่ละพูของต่อมไธมัส ไธโมไซต์ในส่วนของคอร์เทกซ์จะจัดเรียงตัวหนาแน่น ส่วนในเมดัลลา ไธโมไซต์จะเรียงตัวบางกระจายอยู่ทั่วไปและมักพบโครงสร้างที่เรียกว่า Hassall's corpuscle มีลักษณะเป็นวงหลายชั้นของเซลล์บุผิว เซลล์ลิมโฟไซต์ที่พัฒนามากขึ้นจะเคลื่อนที่ไปอยู่บริเวณเมดัลลา และส่วนน้อยของเซลล์เหล่านี้เมื่อเจริญเต็มที่จะเดินทางออกจากต่อมไธมัสไปสะสมอยู่ตามอวัยวะต่างๆ และสามารถทำหน้าที่ตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกันได้ (Oppenheim and Shevach, 1990)

2. อวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันอันดับที่สอง (Secondary Lymphoid Organ)

Secondary lymphoid organ หรือ peripheral lymphoid tissue เป็นที่อยู่ของที-ลิมโฟไซต์ และ บี-ลิมโฟไซต์ที่ออกมาจาก central tissue แล้ว การแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงของลิมโฟไซต์ที่เกิดขึ้นนี้ เกิดจากการกระตุ้นด้วยแอนติเจนต่างจากการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ ใน primary lymphoid organ ที่เกิดขึ้นโดยไม่ต้องมีแอนติเจนกระตุ้นและแอนติเจนเข้าสู่ร่างกายจะไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ในอวัยวะเหล่านั้น ซึ่งอวัยวะที่จัดเป็น secondary lymphoid organ ได้แก่ ตับ ม้าม ต่อมทอนซิลของไส้ติ่ง และ lymph nodule ที่อยู่ใต้ epithelium ของ gastro-intestinal tract, respiratory tract และ genitor-urinary tract (วิบูลย์ศรี, 2537) ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีการแยกบริเวณที่อยู่ของ ที-เซลล์ และบี-เซลล์ อย่างชัดเจน ส่วนของเนื้อเยื่อของระบบภูมิคุ้มกันมีการจัดเรียงตัวไม่ชัดเจน ได้แก่ mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) ซึ่งพบทั่วไปในร่างกาย ได้แก่ Peyer's patches cecum tonsil และ lymphoid follicle ของทางเดินอาหาร

2.1 ม้าม (Spleen)

เป็นอวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ทำหน้าที่หลัก 2 ประการ คือ ทำลายเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุและเสียหายในบริเวณ red pulp และตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในบริเวณ white pulp ม้ามทำหน้าที่กรองดักจับสิ่งแปลกปลอมจากเลือด โดยเลือดเข้าสู่ม้ามทางหลอดเลือดแดงสู่หลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arteriole) และปล่อยเลือดเข้าสู่ไซนัสซอยด์ (sinusoid) ซึ่งอยู่ในบริเวณ red pulp รอบๆ หลอดเลือดแดงขนาดเล็กจะมีกลุ่มบี-ลิมโฟไซต์หุ้มล้อมรอบอยู่ เรียกว่า peri-arteriolar lymphoid sheath และบริเวณปลายหลอดเลือดแดงขนาดเล็กเป็นกลุ่มลิมโฟซัยด์ฟอลลิเคิล ซึ่งเป็นที่อยู่ของบี-ลิมโฟไซต์ (ไพศาล, 2548)

2.2 เนื้อเยื่อในระบบภูมิคุ้มกันบริเวณทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ

เนื้อเยื่อในระบบภูมิคุ้มกันที่อยู่ในชั้น submucosa หรือที่เรียกโดยรวมว่า mucosal associate lymphoid tissue (MALT) ตามบริเวณต่าง ๆ ของทางเดินอาหาร (gut associated lymphoid tissue, GALT) และทางเดินหายใจ (bronchus associated lymphoid tissue, BALT) บางบริเวณจะมีขนาดใหญ่มาก เช่น ต่อมทอนซิล ไส้ติ่ง ประกอบด้วยฟอลลิเคิลของบี-ลิมโฟไซต์ บริเวณที-ลิมโฟไซต์ และท่อน้ำเหลืองจำนวนมากอยู่รวมกัน GALT และ BALT เป็นแหล่งผลิตที-ลิมโฟไซต์ที่สำคัญ หลังจากทีต่อมไทมัสฝ่อลงเมื่ออายุมากขึ้น แอนติเจนที่ผ่านเข้ามาทางปอดหรือทางเดิน

อาหารจะกระตุ้นลิมโฟไซต์ใน GALT หรือ BALT ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นและบางส่วนเดินทางเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตสู่อวัยวะอื่นๆ และนอกจากนั้นยังเป็นทางผ่านของแอนติเจนที่เข้ามาตามทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ ลิมโฟไซต์ในบริเวณนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อจุลินทรีย์ที่ผ่านเข้ามาในเส้นทางนี้ และยังทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อโดยการหลั่งแอนติบอดีและเซลล์ต่างๆ เข้าสู่ทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ (สันนิภา, 2545)

ในสัตว์ปีกขณะเมื่อเป็นตัวอ่อนในไข่กระดูกมีดเลือด (blood island) บนถุงหุ้มไข่แดง (yolk sac) เป็นที่กำเนิดของ hemopoietic stem cell จากกระดูกเลือดนั้น stem cell จะเดินทางผ่านตับและม้ามไปที่ไขกระดูก (bone marrow) ซึ่งเป็นสถานที่แบ่งตัวและเป็นถิ่นกำเนิดของเม็ดเลือดแดง granulocyte, monocyte, lymphocyte และ megakaryocyte lymphocyte จำนวนหนึ่งจะเดินทางผ่านต่อมไทมัส และกลายเป็นที-ลิมโฟไซต์ (T cell) ทำหน้าที่เกี่ยวกับ CMI อีกจำนวนหนึ่งจะเดินทางผ่าน Bursa of Fabricius ซึ่งเป็นอวัยวะเล็กๆ อยู่ติดกับลำไส้ใหญ่ใกล้กับ cloaca กลายเป็นบี-ลิมโฟไซต์ (B cell) ทำหน้าที่ด้าน humoral immunity (HI) (สุวรรณ, 2548)

อุปกรณ์และวิธีการ

แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และ สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารในไก่กระตัง ระยะเล็ก (0-21 วัน)

1. สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้ไก่กระตังเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้า (Ross 208) อายุ 1 วัน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 37.90 ± 0.04 กรัม จำนวน 832 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 26 ซ้ำ ๆ ละ 16 ตัว เพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระตัง ภายในโรงเรือนระบบปิด ให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 21 วัน

2. โรงเรือน

โรงเรือนระบบปิด ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 6 ตัว ติดตั้งอยู่ด้านข้าง โรงเรือนเป็นการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ภายในมีคอกขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1.50 เมตร สูง 1 เมตร เลี้ยงไก่กระตัง 16 ตัว/คอก (800 ตารางเซนติเมตร/ตัว) ใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้น ใช้ถังแขวนให้อาหาร มีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple)

3. อาหารทดลอง

อาหารทดลองมีระดับโปรตีนหยาบ (Crude protein) 22 เปอร์เซ็นต์ ระดับพลังงาน 3,100 kcal ME/kg การประกอบสูตรอาหารโดยใช้วัตถุดิบหลัก คือ ข้าวโพดและกากถั่วเหลือง ซึ่งวิเคราะห์โปรตีนหยาบ (Crude protein) ตามวิธีของ AOAC (1990) และองค์ประกอบของกรดอะมิโน ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยเครื่อง Amino acid analyzer ก่อนนำมาผสมอาหารพื้นฐาน (Basal diet) ด้วยเครื่องผสมอาหารแนวนอน ให้มี Total sulfur amino acid (TSAA) ตรงตามความต้องการของไก่กระตัง (NRC, 1994) และเสริมโซเดียมกลูโคเนต ในสูตรอาหาร ดังนี้

สูตรที่ 1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)

สูตรที่ 2. เสริมโซเดียมกลูโคเนต 0.2% (SG 0.2%)

จากนั้นนำอาหารทดลองที่ผสมแล้วไปอัดเม็ดและบรรจุในถุงอาหารขนาด 20 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่างอาหารพื้นฐานเพื่อวิเคราะห์ระดับโปรตีนหยาบและองค์ประกอบของกรดอะมิโน

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารและค่าโภชนาที่ได้จากการคำนวณของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในไก่ทดลองระยะเล็ก

วัตถุดิบ	ปริมาณ (%)
ข้าวโพด	47.55
กากถั่วเหลือง	41.90
น้ำมันถั่วเหลือง	6.220
โมโนไคแคลเซียมฟอสเฟต	1.500
โคลีนคลอไรด์	0.28
หินฟูน	1.65
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.300
เกลือ	0.300
พรีมิกซ์ไก่กระตัง*	0.250
MTB 100**	0.050
ส่วนประกอบของโภชนาจากการคำนวณ	
พลังงาน (kcal ME/kg)	3100
โปรตีน (%)	22
แคลเซียม (%)	0.998
ฟอสฟอรัสรวม (%)	0.80
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.56

***ส่วนประกอบ 1 กิโลกรัม:** วิตามิน เอ 4.00 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน ดี 0.50 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน อี 4.48 กรัม, วิตามิน เค 3 0.68 กรัม, วิตามิน บี 1 0.52 กรัม, วิตามิน บี 2 0.50 กรัม, วิตามิน บี 6 0.68 กรัม, วิตามิน

บี 12 5.60 กรัม, กรดโฟลิก 0.17 กรัม, กรดนิโคตินิก 6.80 กรัม, กรดแพนโททินิก 3.36 กรัม, ไบโอดีน 0.014 กรัม, โคลี้น คลอไรด์ 200.00 กรัม, แมงกานีส 26.40 กรัม, เหล็ก 17.20 กรัม, สังกะสี 26.40 กรัม, ทองแดง 3.20 กรัม, ไอโอดีน 0.32 กรัม, ซีลีเนียม 0.03 กรัม, สารอนอมคุณภาพอาหารสัตว์รวม 4.80 กรัม และสื่อเติมจนครบ 1 กิโลกรัม

**** MTB100** คือ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการป้องกันเชื้อรา (mycotoxin binder)

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์ของกรดอะมิโนในอาหารพื้นฐานไก่กระต่ายระยะเล็ก

กรดอะมิโน	ปริมาณ (%)
ซีสเทอีน	0.395
เมทไธโอนีน	0.578
เมทไธโอนีน + ซีสเทอีน	0.972
แอสปารากีน	2.423
ทรีโอนีน	0.885
ซีรีน	1.152
กลูตามีน	4.389
ไกลซีน	0.981
อะลานีน	1.060
วาลีน	1.092
ไอโซลิวซีน	1.011
ลิวซีน	1.820
ไทโรซีน	0.870
เฟนิลอะลานีน	1.069
ฮิสติดีน	0.607
ไลซีน	1.308
อาร์จินีน	1.558
โพรลีน	1.229

4. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) โดยพิจารณาปัจจัยหลัก คือ การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับที่ต่างกัน 2 กลุ่ม

5. การจัดการเลี้ยงดู

เลี้ยงไก่กระทงในคอกที่มีพื้นเป็นคอนกรีตมีแถบเป็นวัสดุรองพื้น ความหนาแน่น 800 ตารางเซนติเมตรต่อตัว ในโรงเรือนระบบปิด ใช้ระบบควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) และระบบการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ภายในโรงเรือนมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่ประมาณ 27 – 30 องศาเซลเซียส และ 75 – 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไก่กระทงได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) มีการชั่งอาหารเข้า – ออกในทุกสัปดาห์ ได้รับน้ำผ่านระบบหยดระยะเวลาในการเลี้ยง 21 วัน

6. การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

การบันทึกผลการทดลองที่อายุ 21 วัน โดยมีการบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณอาหารที่ไก่กินในทุกสัปดาห์ จำนวนไก่ตาย และอุณหภูมิโรงเรือนทุกวัน เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 21 ใช้ไก่กลุ่มละ 16 ตัว แบ่งเป็น 2 ชุดๆ ละ 8 ตัว รวม 32 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงน้ำหนักเฉลี่ยของกลุ่ม ซึ่งน้ำหนักไก่มีชีวิตแล้วฆ่าไก่ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 1.5-2.0 นาที ส่วนไก่ที่เหลือทำการเลี้ยงต่อไป ใช้อาหารที่ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต เพื่อศึกษาผลระยะยาวในงานทดลองที่ 2 ต่อไป

ไก่ชุดที่ 1 ทำการชำแหละซากไก่เพื่อชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน วัดความยาวของระบบทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ วัดสภาวะความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ไส้ติ่ง และลำไส้เล็กส่วนท้าย และไก่ชุดที่ 2 ทำการเก็บลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางในสารละลายฟอร์มาลิน 10% เพื่อนำไปทำสไลด์เนื้อเยื่อต่อไป

7. การวิเคราะห์ทางเคมี

7.1 ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารทดลอง เพื่อวิเคราะห์โภชนะต่าง ๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัส โดยวิธี Proximate analysis ตามคำแนะนำของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน โดยใช้เครื่อง Amino acid analyzer จากนั้นนำอาหารมาวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง โดยละลายด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีประจุ (Deionizer) วัดด้วย pH meter (ราชาวดี, 2546)

7.2 วัดความยาวและชั่งน้ำหนักลำไส้ 5 ส่วน คือ duodenum, jejunum, ileum, cecum และ colon มีหน่วยเป็นเซนติเมตรและกรัม ตามลำดับ โดยลำไส้เล็กส่วนต้น คือ ความยาวลำไส้จากช่วงต่อจากก้น (gizzard) ไปยังบริเวณสิ้นสุด descending duodenal loop ลำไส้เล็กส่วนกลาง คือ ความยาวลำไส้จากช่วงสิ้นสุดลำไส้เล็กส่วนต้น ไปยังบริเวณจุดที่เรียกว่า Meckel's diverticulum ลำไส้เล็กส่วนปลายคือ ความยาวลำไส้จากช่วงระหว่าง Meckel's diverticulum กับ ileo-cecal junction และไส้ตรง คือ ความยาวลำไส้จากช่วง ileo-cecal junction ไปยังจุดสิ้นสุดลำไส้ส่วนปลาย (Iji *et al.*, 2001)

7.3 เก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง มาตัดให้มีขนาด 3 เซนติเมตร เพื่อเก็บเนื้อเยื่อเพื่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้ โดยนำไปวัดส่วนความยาวและความกว้างของ villi ต่อ crypt of liberkühn

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis Variance: ANOVA) ของข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Dunnett t-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ คือ

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

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

A_i = อิทธิพลของโซเดียมกลูโคเนต

โดย i = 1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)

2. เสริมโซเดียมกลูโคเนต 0.2% (SG 0.2%)

$$\varepsilon_{ij} = \text{ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง โดย } \varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$$

การทดลองที่ 2 ผลการเสริมโปรไบโอติกชนิดยีสต์ในแต่ละระยะต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทงอายุ 42 วัน

1. สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้ไก่กระทงเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้า (Ross 208) อายุ 1 วัน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 37.90 ± 0.04 กรัม ใช้ไก่จำนวน 832 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 13 ซ้ำ ๆ ละ 16 ตัว เพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทง ภายในโรงเรือนระบบปิด ให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 42 วัน

2. โรงเรือน

โรงเรือนระบบปิด ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 6 ตัว ติดตั้งอยู่ด้านข้าง โรงเรือนเป็นการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ภายในมีคอกขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1.50 เมตร สูง 1 เมตร เลี้ยงไก่กระทง 16 ตัว/คอก (800 ตารางเซนติเมตร/ตัว) ใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้น ใช้ถังแขวนให้อาหาร มีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple)

3. อาหารทดลอง

แบ่งการให้อาหารทดลองออกเป็น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะ 1-21 วัน (Starter) มีโปรตีน (Crude protein) 22 เปอร์เซ็นต์ ระดับพลังงาน 3,100 kcal ME/kg และ ระยะ 22-42 วัน (Grower) กำหนดให้มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 3,200 kcal ME/kg การประกอบสูตรอาหารโดยใช้วัตถุดิบหลัก คือ ข้าวโพดและกากถั่วเหลือง ซึ่งวิเคราะห์โปรตีนหยาบ (Crude protein) ตามวิธีของ AOAC (1990) และองค์ประกอบของกรดอะมิโน ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยเครื่อง Amino acid analyzer ก่อนนำมาผสมอาหารพื้นฐาน (Basal diet) ด้วยเครื่องผสมอาหารแนวนอน ให้มี

Total sulfur amino acid (TSAA) ตรงความต้องการของไก่กระทง (NRC, 1994) และเสริมโซเดียมกลูโคเนตระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหาร ที่แตกต่างกัน 4 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)

สูตรที่ 2. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0.2%/0.1%)

สูตรที่ 3. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0.2%/0%)

สูตรที่ 4. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0%/0.1%)

จากนั้นนำอาหารทดลองที่ผสมแล้วไปอัดเม็ดและบรรจุในถุงอาหารขนาด 20 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่างอาหารพื้นฐานเพื่อวิเคราะห์ระดับโปรตีนหยาบและองค์ประกอบของกรดอะมิโน

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารและค่าโภชนะที่ได้จากการคำนวณของอาหาร
พื้นฐานที่ใช้ในการทดลองระยะเล็ก และระยะรุ่น

วัตถุดิบ	ปริมาณ (%)	ปริมาณ (%)
ข้าวโพด	47.55	52.396
กากถั่วเหลือง	41.90	36.469
น้ำมันถั่วเหลือง	6.220	7.035
แอล-ทรีโอนีน	-	0.020
โมโนไคแคลเซียมฟอสเฟต	1.500	1.050
โคลีนคลอไรด์	0.28	0.460
หินปูน	1.65	1.640
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.300	0.300
เกลือ	0.300	0.330
พรีมิกซ์ไก่กระตัง*	0.250	0.250
MTB 100**	0.050	0.050
ส่วนประกอบของโภชนะ		
พลังงาน (kcal ME/kg)	3100	3200
โปรตีน (%)	22	20
แคลเซียม (%)	0.998	0.903
ฟอสฟอรัสรวม (%)	0.80	0.69
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.56	0.46

***ส่วนประกอบ 1 กิโลกรัม:**

วิตามิน เอ 4.00 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน ดี 0.50 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน อี 4.48 กรัม, วิตามิน เค 3 0.68 กรัม, วิตามิน บี 1 0.52 กรัม, วิตามิน บี 2 0.50 กรัม, วิตามิน บี 6 0.68 กรัม, วิตามิน บี 12 5.60 กรัม, กรดโฟลิก 0.17 กรัม, กรดนิโคตินิก 6.80 กรัม, กรดแพนโททินิก 3.36 กรัม, ไบโอดีน 0.014 กรัม, โคลีน คลอไรด์ 200.00 กรัม, แมงกานีส 26.40 กรัม, เหล็ก 17.20 กรัม, สังกะสี 26.40 กรัม, ทองแดง 3.20 กรัม, ไอโอดีน 0.32 กรัม, ซีลีเนียม 0.03 กรัม, สารอนอมคุณภาพอาหารสัตว์รวม 4.80 กรัม และสื่อเติมจนครบ 1 กิโลกรัม

**** MTB100** คือ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการป้องกันเชื้อรา (mycotoxin binder)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนในอาหารพื้นฐานไก่กระทุงระยะเล็กและระยะรุ่น

กรดอะมิโน	ปริมาณ (%)	ปริมาณ (%)
ซีสเทอีน	0.395	0.381
เมทไธโอนีน	0.578	0.599
เมทไธโอนีน + ซีสเทอีน	0.972	0.720
แอสปารากีน	2.423	2.477
ทรีโอนีน	0.885	0.961
ซีรีน	1.152	1.224
กลูตามีน	4.389	4.446
ไกลซีน	0.981	1.084
อะลานีน	1.060	1.160
วาลีน	1.092	1.162
ไอโซลิวซีน	1.011	1.113
ลิวซีน	1.820	1.985
ไทโรซีน	0.870	0.814
เฟนิลอะลานีน	1.069	1.298
ฮิสติดีน	0.607	0.688
ไลซีน	1.308	1.234
อาร์จินีน	1.558	1.832
โพรลีน	1.229	1.373

4. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) โดยพิจารณาปัจจัยหลัก คือ การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระยะที่แตกต่างกัน การทดลองใช้ไก่กระทุง 832 ตัว แบ่งไก่กระทุงออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 13 ซ้ำ ๆ ละ 16 ตัว

5. การจัดการเลี้ยงดู

เลี้ยงไก่กระทงในคอกที่มีพื้นเป็นคอนกรีตมีเกลือบเป็นวัสดุรองพื้น ความหนาแน่น 800 ตารางเซนติเมตรต่อตัว ในโรงเรือนระบบปิด ใช้ระบบควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) และระบบการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ภายในโรงเรือนมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่ประมาณ 27 – 30 องศาเซลเซียส และ 75 – 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยให้ไก่กระทงได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) มีการชั่งอาหารที่กิน(เข้า – ออก)ในทุกสัปดาห์ ได้รับน้ำผ่านระบบหยด (nipple) ระยะเวลาในการเลี้ยง 42 วัน

6. การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

การบันทึกผลการทดลอง ที่อายุ 42 วัน โดยมีการบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณอาหารที่ไก่กินในทุกสัปดาห์ จำนวนไก่ตาย และอุณหภูมิโรงเรือนทุกวัน เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ใช้ไก่กลุ่มละ 16 ตัว โดยแบ่งเป็น 2 ชุดๆ ละ 8 ตัว รวม 64 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงน้ำหนักเฉลี่ยของกลุ่ม ชั่งน้ำหนักไก่มีชีวิตแล้วฆ่าไก่โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 1.5-2.0 นาที

ไก่ชุดที่ 1 ทำการชำแหละซากไก่เพื่อชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน วัดความยาวของระบบทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ วัดสภาวะความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ไส้ติ่ง และลำไส้เล็กส่วนท้าย เก็บตัวอย่างซีรัมโดยใช้ไก่อีกซัลละ 1 ตัว รวม 52 ตัว ทำการรูดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกซีรัม (เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส)

ไก่ชุดที่ 2 ทำการเก็บลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางในสารละลายฟอร์มาลิน 10% เพื่อนำไปทำสไลด์เนื้อเยื่อต่อไป และทำการศึกษาคุณภาพซาก โดยบันทึกน้ำหนักไก่มีชีวิตก่อนชำแหละ และน้ำหนักตัวหลังนำเครื่องในออก ชั่งน้ำหนักชิ้นส่วนต่างๆ ของซาก ได้แก่ ไกรง แข้ง สะโพก น่อง สันใน สันนอก ปีกบน ปีกล่าง และไขมันช่องท้อง

7. การวิเคราะห์ทางเคมี

7.1 ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารทดลอง เพื่อวิเคราะห์โภชนะต่าง ๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัส โดยวิธี Proximate analysis ตามคำแนะนำของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน ใช้เครื่อง Amino acid analyzer จากนั้นนำอาหารมาวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง โดยละลายด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีประจุ (Deionizer) วัดด้วย pH meter (ราชวัติ, 2546)

7.2 วิเคราะห์หาปริมาณ Total protein ตามหลักการ Biuret method ใช้ชุดทดสอบของบริษัท Biotechnical ประเทศไทย และวิเคราะห์หาปริมาณของ Albumin, α -Globulin, β -Globulin และ γ -Globulin ด้วยวิธี Electrophoresis (cellulose acetate technique)

7.3 วิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน triiodothyronine (T3) ในซีรัม วัด Radioactivity ด้วยเครื่อง Gamma Counter ใช้ชุดทดสอบของบริษัท Diagnostic Products Corporation

7.4 นำซีรัมมาวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล (N D - T i t e r) วิธี Hemagglutination Inhibition Test (HI titer)

7.5 หาอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophile : Lymphocyte นำตัวอย่างเลือดจากแต่ละซ้ำ มาเสมียร์ลงกระจกสไลด์ ปล่อยให้แห้งในอากาศ 15-20 นาที จากนั้นทำการย้อมด้วยสี Wright-Giemsa และนำมาหาอัตราส่วนเม็ดเลือด การนับแยกชนิดเม็ดเลือดอัตราส่วน 100 เซลล์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Light microscope) ด้วยวิธีการดัดแปลงจาก Ritchie *et al.*, (1994)

7.6 วัดความยาวและชั่งน้ำหนักลำไส้ 5 ส่วน คือ duodenum, jejunum, ileum, cecum และ colon มีหน่วยเป็นเซนติเมตรและกรัม ตามลำดับ โดยลำไส้เล็กส่วนต้น คือ ความยาวลำไส้จากช่วงต่อจากก้น (gizzard) ไปยังบริเวณสิ้นสุด descending duodenal loop ลำไส้เล็กส่วนกลาง คือ ความยาวลำไส้จากช่วงสิ้นสุดลำไส้เล็กส่วนต้น ไปยังบริเวณจุดที่เรียกว่า Meckel's diverticulum ลำไส้เล็กส่วนปลายคือ ความยาวลำไส้จากช่วงระหว่าง Meckel's diverticulum กับ

ileo-cecal junction และไส้ตรง คือ ความยาวลำไส้จากช่วง ileo-cecal junction ไปยังจุดสิ้นสุดลำไส้ส่วนปลาย (Iji *et al.*, 2001)

7.7 เก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง มาตัดให้มีขนาด 3 เซนติเมตร เพื่อเก็บเนื้อเยื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของเซลล์ลำไส้ นำไปวัดส่วนความยาวและความกว้างของ villi ต่อ crypt of liberkühn

7.8 เก็บตัวอย่างไส้ติ่งเพื่อหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* spp.

7.9 หาปริมาณของกรดไขมันสายสั้นคัดแปลงจากวิธีของ Erwin *et al.*, (1961) ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC 2010) ของบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan' new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ คือ

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

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

A_i = อิทธิพลของโซเดียมกลูโคเนต

โดย i =

1. ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)
2. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0.2%/0.1%)
3. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0.2%/0%)
4. เสริมโซเดียมกลูโคเนต (SG; 0%/0.1%)

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง โดย $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \delta^2)$

9. ระยะเวลาในการทดลอง

- เริ่มการทดลองประมาณ ธันวาคม 2548
- สิ้นสุดการทดลองประมาณ มิถุนายน 2549

10. สถานที่ทำการทดลอง

- ศูนย์วิจัยพันธุ์สัตว์กรุงเทพฯ
- ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ
- ห้องปฏิบัติการภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ
- ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา นครปฐม
- ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา นครปฐม
- หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
- ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของฟรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และ สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารในไก่กระทง ระยะเล็ก (อายุ 0-21 วัน)

1. สมรรถภาพการเจริญเติบโต

ผลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิตไก่กระทงอายุ 21 วัน พบว่า น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 7) สอดคล้องกับ รายงานของ Houdijk *et al.* (1997); Kameue *et al.* (2004) ; Biagi *et al.* (2006) รายงานว่าการเสริม โซเดียมกลูโคเนตไม่ส่งผลต่อการกินได้ของสัตว์ แม้มิแนวน้ำมันของสมรรถภาพการผลิตที่สูงขึ้นเมื่อ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่าปริมาณอาหารที่กินของไก่กระทง กลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตมีแนวโน้มการกินได้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย ทั้งนี้อาจมีผลมาจากการเสริมโซเดียมกลูโคเนต เป็นฟรีไบโอติกในอาหารเกิดการหมักอย่างรวดเร็วในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในส่วนของลำไส้ใหญ่ และไส้ติ่ง ทำให้เกิดแก๊สและเกิดการพองบวมของลำไส้ ขึ้น จึงลดการกินได้ของสัตว์ (Asano *et al.*, 1997) ทำให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวมีแนวโน้มลดลงไปด้วย

ตารางที่ 7 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักตัวและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	37.89 ± 0.03	37.91 ± 0.03
น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม/ตัว)	800.3 ± 6.23	788.50 ± 4.47
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	762.39 ± 6.21	750.59 ± 5.14
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)	36.30 ± 0.30	35.74 ± 0.21
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	48.57 ± 0.28	48.41 ± 0.36
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.35 ± 0.01	1.36 ± 0.05

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. ความเป็นกรด-ด่าง หรือ พีเอช (pH) ในทางเดินอาหาร

ผลของโพรไบโอติกต่อความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร (ตารางที่ 8) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกนั้นมีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม การที่ค่า pH ลดต่ำลงนั้นน่าจะมีผลมาจากการที่ฟิร์ไบโอติกเป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ทำให้มีปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacilli* ซึ่งสามารถสร้าง กรดไขมันสายสั้นและกรดแลกติก การลดลงอย่างไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจากการไขมันสายสั้นที่ผลิตได้ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์อย่างรวดเร็วโดยเซลล์เยื่อบุผิว เพื่อเป็นแหล่งพลังงานให้แบคทีเรียเองและกับตัวสัตว์ (Pluske *et al.*, 1997) นอกจากนี้ร่างกายสัตว์มีการควบคุมสมดุลกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารให้เอนไซม์ทำงานได้ดีในสภาพที่ pH เหมาะสม (Pichova and Kostk, 1990)

ตารางที่ 8 แสดงผลของโพรไบโอติกต่อ pH ของอาหารที่ผ่านการย่อยในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทาง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
ลำไส้ส่วนต้น	6.17 ± 0.13	6.01 ± 0.06
ลำไส้ส่วนกลาง	5.90 ± 0.18	5.84 ± 0.11
ลำไส้ส่วนปลาย	6.45 ± 0.14	6.30 ± 0.23
ไส้ติ่ง	5.84 ± 0.11	5.72 ± 0.13
ไส้ตรง	7.01 ± 0.16	6.72 ± 0.18

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. ผลต่อความยาวลำไส้และน้ำหนักอวัยวะภายใน

ผลของการเสริมโพรไบโอติกต่อความยาวลำไส้ส่วนต่างๆ ของไก่กระทางอายุ 21 วัน (ตารางที่ 9) พบว่าไก่กระทางที่ได้รับโพรไบโอติกมีความยาวของลำไส้ส่วนต่างๆ ได้แก่ ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนกลาง ลำไส้เล็กส่วนปลาย ไส้ติ่ง และไส้ตรง ไม่แตกต่างจากกลุ่ม

ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเสริมโซเดียมกลูโคเนตมีแนวโน้มให้ความยาวของลำไส้ส่วนต่างๆ ยาวขึ้น

ตารางที่ 9 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนต ต่อความยาวลำไส้ของไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา (เซนติเมตร)	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
ลำไส้เล็กส่วนต้น	24.65 $\pm$ 0.78	26.69 $\pm$ 1.02
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	56.50 $\pm$ 1.40	56.88 $\pm$ 2.49
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	54.88 $\pm$ 1.68	59.00 $\pm$ 2.59
ไส้ติ่ง	12.44 $\pm$ 0.43	13.06 $\pm$ 0.63
ไส้ตรง	5.08 $\pm$ 0.38	6.06 $\pm$ 0.15

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ด้านน้ำหนักอวัยวะภายใน (ตารางที่ 10) พบว่าน้ำหนักของลำไส้เล็กส่วนปลาย และไขมันช่องท้อง (%น้ำหนักตัว) ในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนั้นน้ำหนักของม้ามและต่อมเบียร์ซ่า ของกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง ไส้ติ่ง ไส้ตรง ตับ ตับอ่อน และหัวใจนั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับม้าม และต่อมเบียร์ซ่านั้นพบว่า น้ำหนักม้ามของกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.01 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ม้ามนี้บ่งบอกถึงความสามารถของร่างกายต่อการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม (Tizard, 2000) ส่วนน้ำหนักต่อมเบียร์ซ่าของกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.04 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ทั้งนี้อาจมีผลมาจาก การเพิ่มขึ้นของปริมาณ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถช่วยรักษาจำนวนของ follicle ที่อยู่ในต่อมเบียร์ซ่า (Shoeib *et al.*, 1997) ส่งผลให้ต่อมเบียร์ซ่ามีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม จึงแสดงให้เห็นว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนต ส่งผลต่ออวัยวะภูมิคุ้มกันอย่างชัดเจน

ส่วนเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องต่อน้ำหนักตัวพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับ Chen *et al.*

(2005a) ที่รายงานว่า การเสริมพรีไบโอติกนั้น มีผลลดเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้อง (Luo *et al.*, 1996) การหมักย่อยพรีไบโอติกจนได้กรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acids; SCFA) ซึ่ง SCFA โดยเฉพาะโพรพิโอเนตจะไปลดการทำงานของการทำงานของเซลล์ไขมันในตับ (Delzenne and Kok, 2001) จึงอาจทำให้มีเปอร์เซ็นต์ไขมันในช่องท้องลดลง นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการเสริมโซเดียมกลูโคเนต ทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงจึงทำให้มีพลังงานส่วนเกินที่ผลิตไขมันลดลง

ตารางที่ 10 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทอง (%น้ำหนักตัว)

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1.17±0.06	1.37±0.03
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	2.35 ± 0.08	2.45 ± 0.05
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	1.50 ± 0.10 ^b	1.81 ± 0.03 ^a
ไส้ติ่ง	0.56±0.04	0.60±0.02
ไส้ตรง	0.28 ± 0.03	0.32 ± 0.01
ม้าม	0.01 ± 0.01 ^d	0.02 ± 0.01 ^c
ตับ	0.44 ± 0.01	0.46 ± 0.01
ตับอ่อน	0.05 ± 0.01	0.05± 0.01
ไขมันช่องท้อง	0.18 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^b
หัวใจ	0.79 ± 0.04	0.83 ± 0.02
ต่อมเบียร์ซ่า	0.04 ± 0.01 ^d	0.05 ± 0.01 ^c

หมายเหตุ ^{a และ b} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{c และ d} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liber kühn (Ratio of villi / crypt of liber kühn)

ผลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่ออัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liber kühn ในด้านของความยาวนั้น พบว่า อัตราส่วนความยาวของ villi ต่อ crypt of liber kühn ของเนื้อเยื่อลำไส้ส่วนต้น และส่วนกลาง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยอัตราส่วนดังกล่าวของ

เนื้อเยื่อลำไส้ในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีค่าสูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 6.23 และ 7.52 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่พิจารณาอัตราส่วนดังกล่าวในด้านของความกว้างนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11)

อัตราส่วนที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของเนื้อเยื่อในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตนั้น อาจเนื่องมาจากกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีความยาวของ villi ในส่วนของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$; $P<0.05$ ตามลำดับ) ซึ่งมีค่าความยาวเท่ากับ 54.61 และ 51.78 ไมโครเมตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาความยาวในส่วน of crypt of liberkühn นั้นพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีความยาวลำไส้เล็กส่วนกลางสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยความยาวลำไส้ดังกล่าวในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนต มีค่าเท่ากับ 5.88 และ 6.89 ไมโครเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้น และส่วนกลาง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
ความยาว		
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.37 ± 0.18^b	6.23 ± 0.16^a
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	7.07 ± 0.24^b	7.52 ± 0.13^a
ความกว้าง		
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.52 ± 0.13	0.61 ± 0.24
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	0.66 ± 0.21	0.73 ± 0.19

หมายเหตุ ^{a และ b} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 12 ความยาวของ villi และ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้น และส่วนกลาง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%)
Villi		
ลำไส้เล็กส่วนต้น (ไมโครเมตร)	45.67±8.15 ^d	54.61±6.22 ^c
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (ไมโครเมตร)	41.56±2.38 ^b	51.78±4.31 ^a
crypt of liberkühn		
ลำไส้เล็กส่วนต้น (ไมโครเมตร)	8.50 ±0.46	8.76 ±0.52
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (ไมโครเมตร)	5.88±0.29 ^b	6.89±0.21 ^a

หมายเหตุ ^{a และ b} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{c และ d} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ทั้งนี้อาจมีผลมาจากแบคทีเรียหมักย่อยโปรไบโอติกได้กรดไขมันสายสั้น ซึ่งกรดไขมันสายสั้นในทางเดินอาหารดังกล่าวมีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ได้ โดยกระตุ้นการไหลเวียนเลือดในลำไส้และเป็นแหล่งพลังงานสำคัญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ดังนั้นจึงทำให้สามารถที่ย่อยและดูดซึมอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ichikawa and Sakata, 1998) นอกจากนั้นไซโตเมกัลโลโคเคนต์ในอาหารมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้ (Chesson, 1993) และทำให้ความยาวของ ileal microvilli และ jejunal vili ของไก่เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Iji and Tivey, 1999)

การพัฒนาโครงสร้างของเยื่อบุผิว mucosa ในลำไส้เล็กของไก่กระตังนั้นมีการพัฒนาทันทีเมื่อไก่ได้รับอาหารหลังจากการฟักออก ส่วนของลำไส้เล็กส่วนต้นจะมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์เมื่อไก่อายุ 7 วัน ขณะที่ลำไส้เล็กส่วนกลางและปลายนั้นจะพัฒนาต่อไปจนสมบูรณ์เมื่ออายุ 14 วัน (Uni *et al.*, 1995; Uni *et al.*, 1998) ดังนั้นสัดส่วนความยาวของ villi ต่อ crypt of liberkühn ในกลุ่มที่เสริมไซโตเมกัลโลโคเคนต์ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม น่าจะมีผลมาจากอาหารที่กินเข้าไป แสดงให้เห็นว่าไซโตเมกัลโลโคเคนต์นั้นมีผลต่อโครงสร้างของเยื่อบุ mucosa ของเนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลาง เช่น ความยาวของ villi และ crypt of liberkühn นอกจากนั้นการเสริมไซโตเมกัลโลโคเคนต์ทำให้เกิดการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ส่งผลให้เกิดกรดไขมันสายสั้นขึ้น กรดไขมันสายสั้นจะเข้าไป

กระตุ้นการเจริญของ crypt of liberkuhn ในลำไส้ (Sakata, 1987) โดยเฉพาะกรดบิวทีริก มีบทบาทสำคัญ 2 อย่าง คือ เป็นสารอาหารสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิต ATP ในสถานะที่มีออกซิเจนของเซลล์ และกระตุ้นการเคลื่อนย้ายเซลล์ การเจริญของเซลล์เยื่อผนังลำไส้ รวมทั้งการสร้างเซลล์ใหม่ใน crypt of liberkuhn (Velazquez *et al.*, 1996; Jacobasch *et al.*, 1999)

การทดลองที่ 2 ผลการเสริมโปรไบโอติกโซเดียมกลูโคเนตในแต่ละระยะต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระทองอายุ 42 วัน

1. สมรรถภาพการผลิต

ผลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิตไก่กระทองอายุ 42 วัน จากผลการทดลองพบว่า น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทองทุกกลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13) แต่การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะทำให้การกินอาหารต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) กลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตในระยะแรก หรือระยะหลัง มีปริมาณการกินอาหารใกล้เคียงกัน ส่วนกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตในทั้ง 2 ระยะ นั้นมีการกินได้ต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 101.31 กรัมต่อตัว

สอดคล้องกับการศึกษาของ Khaksefidi and Ghoorchi (2006) พบว่าการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารส่งผลทำให้ไก่กระทองมีการกินอาหารลดลง และ Asano *et al.* (1997) รายงานว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนต เป็นโปรไบโอติกในอาหารเกิดการหมักอย่างรวดเร็วในระบบทางเดินอาหารส่วนท้าย ทำให้เกิดแก๊สและเกิดการพองบวมของลำไส้ขึ้น จึงลดการกินได้ของสัตว์ แม้ว่า Houdijk *et al.* (1997); Kemeue *et al.* (2004); Biagi *et al.* (2006) รายงานว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่ส่งผลต่อการกินได้ของสัตว์ และมีแนวโน้มของสมรรถภาพการผลิตที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

2. ลักษณะคุณภาพซาก

จากการศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก หรือเสริมระยะหลัง และกลุ่มควบคุม ต่อคุณภาพซากของไก่กระทองที่อายุ 42 วัน (ตารางที่ 14) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ ทำให้เปอร์เซ็นต์ซาก กล้ามเนื้อสันใน กล้ามเนื้ออก และเปอร์เซ็นต์เนื้อทั้งหมด สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) เช่นเดียวกับผลของเปอร์เซ็นต์กล้ามเนื้อสันนอกที่ได้รับ

อิทธิพลจากการเสริมโซเดียมกลูโคเนตมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนการเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ปีกบนและล่าง น่อง และสะโพก จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ ทำให้คุณภาพซากสูงกว่ากลุ่มอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Yusrizal and Chen (2003) และ Ammemann *et al.* (1989) รายงานว่าการเสริมฟรีไบโอติกในสูตรอาหารมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ซากและเปอร์เซ็นต์เนื้อทั้งหมดโดยทำให้คุณภาพซากดังกล่าวสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และสอดคล้องกับการศึกษาของ Ghiyasi *et al.* (2007) รายงานว่าการเสริมฟรีไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวแต่สามารถปรับปรุงในส่วนของเปอร์เซ็นต์ซาก กล้ามเนื้อส่วนอก รวมทั้งปริมาณไขมันช่องท้องอีกด้วย ทั้งนี้เพราะฟรีไบโอติกมีส่วนช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานดีขึ้นส่งผลให้คุณภาพซากดีขึ้นไปด้วย

ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารของไก่กระพง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	37.91 ± 0.03	37.92 ± 0.03	37.89 ± 0.03	37.88 ± 0.03
น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม/ตัว)	2516.96±23.69	2459.24±21.25	2443.43 ± 30.78	2464.94 ± 34.45
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น(กรัม/ตัว)	2479.05 ± 23.70	2421.32±1.23	2405.54 ±30.77	2427.06 ±34.41
อัตราการเจริญเติบโต(กรัม/ตัว/วัน)	59.03 ± 0.56	57.65±0.50	57.27 ± 0.73	57.79±0.82
ปริมาณอาหารที่กิน(กรัม/ตัว/วัน)	105.18± 1.17 ^a	101.31± 1.01 ^b	102.65± 1.17 ^{ab}	104.40± 1.37 ^{ab}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.78 ±0.02	1.76 ± 0.01	1.79±0.02	1.81 ±0.01

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 14 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อลักษณะคุณภาพซากของไก่กระทง 42 วัน
(%น้ำหนักตัว)

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
เปอร์เซ็นต์ซาก	79.26 ± 0.60 ^d	81.16 ± 0.69 ^c	79.33 ± 0.41 ^d	79.99 ± 0.57 ^{cd}
ปีกบนและล่าง	9.32 ± 0.08	9.57 ± 0.17	9.40 ± 0.10	9.42 ± 0.06
น่อง	12.37 ± 0.19	12.60 ± 0.14	12.52 ± 0.22	12.59 ± 0.22
สะโพก	12.17 ± 0.18	12.27 ± 0.20	12.20 ± 0.12	12.27 ± 0.15
กล้ามเนื้อสันนอก	17.77 ± 0.36 ^d	18.26 ± 0.36 ^c	17.92 ± 0.46 ^{cd}	18.00 ± 0.33 ^c
กล้ามเนื้อสันใน	4.42 ± 0.10 ^b	4.80 ± 0.07 ^a	4.68 ± 0.11 ^{ab}	4.78 ± 0.07 ^a
กล้ามเนื้ออก	22.19 ± 0.16 ^d	23.06 ± 0.30 ^c	22.60 ± 0.27 ^{cd}	22.78 ± 0.07 ^c
เปอร์เซ็นต์เนื้อทั้งหมด	37.43 ± 0.35 ^d	40.39 ± 0.40 ^c	39.51 ± 0.40 ^{cd}	39.93 ± 0.04 ^c

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^c และ ^d อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. ความยาวและน้ำหนักของลำไส้ส่วนต่างๆ

ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อความยาวและน้ำหนักของลำไส้ส่วนต่างๆ (ตารางที่ 15) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมเฉพาะระยะแรก เสริมเฉพาะระยะหลัง และกลุ่มควบคุม พบว่า การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ ส่งผลให้ความยาวของลำไส้ส่วนต้นยาวกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ และการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ไส้ตรงยาวกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) นอกจากนั้นแล้วความยาวของลำไส้ส่วนกลาง ส่วนปลายและไส้ติ่ง ในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ความยาวของลำไส้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

ด้านน้ำหนักของลำไส้ส่วนต่างๆ พบว่าลำไส้เล็กส่วนต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีน้ำหนักลำไส้เท่ากับ

0.83 ของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ซึ่งมีค่ามากกว่ากลุ่มอื่น และยังพบว่าน้ำหนักของลำไส้เล็กส่วนกลางมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มอื่น โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มอื่นมีค่าเท่ากับ 1.47 ของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ส่วนน้ำหนักของลำไส้ส่วนปลาย ไส้ติ่ง และไส้ตรงนั้น กลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีน้ำหนักของลำไส้มากกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ แม้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองสอดคล้องกับ Trevino *et al.* (1990) รายงานว่าการเสริมสารกลุ่มพรีไบโอติกจะทำให้ความยาวลำไส้ยาวขึ้น โดย Ichikawa and Sakata (1998) กล่าวว่าแบคทีเรียจะหมักย่อย พรีไบโอติกได้กรดไขมันสายสั้น ซึ่งกรดไขมันสายสั้นในทางเดินอาหารดังกล่าวมีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ได้ อาจกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในลำไส้และเป็นแหล่งพลังงานสำคัญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ดังนั้นทำให้การย่อยและดูดซึมอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้น้ำหนักของลำไส้ที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้ (Chesson, 1993) และทำให้ความยาวของ ileal microvilli และ jejunal vili ของไก่เพิ่มขึ้นด้วย (Iji and Tivey, 1999) จากที่กล่าวมาพบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ความยาวและน้ำหนักของลำไส้ส่วนต่างๆ เพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะการเสริมทั้ง 2 ระยะ

ตารางที่ 15 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อความยาวและน้ำหนักลำไส้ ของไก่กระທ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
ความยาว (เซนติเมตร)				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	36.39 ± 0.52 ^b	41.58 ± 1.81 ^a	36.75 ± 0.82 ^b	37.14 ± 1.04 ^b
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	79.85 ± 2.34	88.12 ± 2.03	85.72 ± 1.74	84.98 ± 2.44
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	83.48 ± 4.99	89.15 ± 1.95	86.33 ± 1.89	87.72 ± 1.96
ไส้ติ่ง	20.23 ± 0.62	21.20 ± 0.74	20.75 ± 0.83	20.75 ± 0.86
ไส้ตรง	6.36 ± 0.27 ^d	7.88 ± 0.15 ^c	7.38 ± 0.21 ^c	7.32 ± 0.15 ^c
น้ำหนัก (%น้ำหนักตัว)				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.69 ± 0.03 ^d	0.83 ± 0.02 ^c	0.68 ± 0.03 ^d	0.68 ± 0.03 ^d
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.25 ± 0.06 ^b	1.47 ± 0.03 ^a	1.34 ± 0.04 ^{ab}	1.37 ± 0.06 ^{ab}
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	1.10 ± 0.09	1.18 ± 0.04	1.11 ± 0.06	1.14 ± 0.06
ไส้ติ่ง	0.42 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.40 ± 0.02
ไส้ตรง	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.05	0.15 ± 0.01

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^c และ ^d อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn (Ratio of villi/crypt of liberkühn)

อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กส่วนต้น และส่วนกลางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยอัตราส่วนของความยาวลำไส้เล็กส่วนต้นในกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะมีค่าสูงกว่าทุกกลุ่ม และอัตราส่วนของความยาวลำไส้เล็กส่วนกลาง กลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก และเสริมระยะหลัง มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ในด้านความกว้างของลำไส้เล็กส่วนต้นพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยอัตราส่วนของความกว้างลำไส้เล็กส่วนต้นของกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีค่าสูง

กว่าทุกกลุ่ม (ตารางที่ 16) แต่ในส่วนของลำไส้เล็กส่วนกลางไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความยาวของ villi ลำไส้เล็กส่วนต้น พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 17) โดยกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีความยาวของ villi สูงกว่าทุกกลุ่มมีค่าเท่ากับ 69.05 ไมโครเมตร และความยาวของลำไส้เล็กส่วนกลางพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีความยาวของ villi สูงกว่าทุกกลุ่มมีค่าเท่ากับ 64.41 ไมโครเมตร

ความยาวของ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้น และส่วนกลางนั้น กลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ ทำให้ความยาวของ crypt of liberkühn สูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉพาะกลุ่มเสริมทั้ง 2 ระยะ มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ($P < 0.01$) พบว่าความยาวของ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้นของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะหลัง เสริมระยะแรก และกลุ่มควบคุม เท่ากับ 8.76 8.63 8.25 และ 8.20 ตามลำดับ และความยาวของ ลำไส้เล็กในส่วนกลาง ของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะหลัง เสริมระยะแรก และกลุ่มควบคุม เท่ากับ 6.29 5.00 4.94 และ 5.80 ตามลำดับ

การที่อัตราส่วนความยาวของ villi ต่อ crypt of liberkühn และความยาวของ villi ในส่วนลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ เป็นสิ่งที่บ่งชี้ว่าลำไส้ทั้ง 2 ส่วนของไก่อะทงกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีการเจริญเติบโตของเซลล์ mucosa ที่ดีกว่า ซึ่งเซลล์ mucosa นั้นเป็น epithelial cell layer ที่บุผิวเนื้อเยื่อด้านในของลำไส้ โดยเนื้อเยื่อในส่วนนี้จะมี smooth muscle fibers ที่เรียกว่า muscularis mucosae (Argenzio, 1993) muscularis mucosae เป็นตัวทำให้เกิดการโค้งงอและรอยพับของ mucosa บริเวณส่วนบนของจุดโค้งงอและรอยพับดังกล่าวจะถูกปกคลุมด้วย villi และ microvilli ซึ่งจะช่วยให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสต่อสารอาหารและอิเล็กโทรไลต์ได้มากขึ้น โดยการเจริญเติบโตของ villi นั้นจะเป็นการเจริญเติบโตและพัฒนาของเซลล์แบบที่เรียกว่า migratic activity ที่มีจุดเริ่มต้นมาจากกลุ่มเซลล์ที่อยู่ใต้ villi มีชื่อเรียกว่า crypt of liberkühn โดยเซลล์จะเจริญเติบโตขึ้นมาเรื่อย ๆ จาก crypt ขยับขึ้นไปจนถึงจุดยอดของ villi จากนั้นจะมีการสลับเซลล์ที่แก่และตายแล้วบริเวณส่วนยอดให้หลุดออกไป แล้วมีเซลล์ใหม่ที่เจริญต้นขึ้นมาแทนที่ (Frandsen, 1992) ทั้งนี้มีรายงานว่า villi และ microvilli สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้แก่ลำไส้เล็กได้สูงถึง 600 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อบริเวณอื่นที่มีผิวเรียบทรงกระบอกธรรมดา ดังนั้นหาก villi และ crypt of liberkühn มีอัตราส่วนความยาวที่เพิ่มขึ้น ก่อให้เกิดผลดีในแง่ของการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของ

villi ต่อสารอาหารต่าง ๆ และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ของร่างกายได้ดีขึ้น (William, 1997)

Dobrogosz *et al.* (1991) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ช่วยเพิ่มความยาวของ villi และความลึกของ crypt ทำให้มีพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารมากขึ้น ส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารมีประสิทธิภาพดีขึ้นด้วย นอกจากนั้นยังไปเพิ่มจำนวนเซลล์ Peyer's patches ในลำไส้เล็กส่วนท้าย ซึ่งสามารถเป็นดัชนีชี้วัดระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์เยื่อเมือก (Nahashon *et al.*, 1994) การเพิ่มความยาวของ villi และความลึกของ crypt อาจมีผลมาจากปริมาณของกรดบิวทริกที่เพิ่มขึ้นที่ได้จากการหมักย่อยของจุลินทรีย์ (Gálfi and Bokori, 1990)

ตารางที่ 16 อัตราส่วนของ villi ต่อ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้น และส่วนกลาง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
ความยาว				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	7.15 ± 0.38^c	7.88 ± 0.90^c	7.40 ± 0.91^d	7.51 ± 0.65^d
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	8.09 ± 0.08^d	10.24 ± 0.15^c	10.01 ± 0.24^c	9.99 ± 0.18^c
ความกว้าง				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.78 ± 0.03^d	1.37 ± 0.11^c	1.07 ± 0.16^d	0.78 ± 0.07^d
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	0.94 ± 0.06	0.90 ± 0.05	0.99 ± 0.08	1.08 ± 0.09

หมายเหตุ ^{c, d และ e} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 17 ความยาวของ villi และ crypt of liberkühn ของลำไส้เล็กในส่วนต้น และส่วนกลาง

ลักษณะที่ศึกษา (ไมโครเมตร)	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
Villi				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	58.66±2.01 ^b	69.05±1.86 ^a	61.03±3.04 ^b	64.84 ±3.17 ^{ab}
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	46.91±2.38 ^d	64.41±3.41 ^c	49.88 ±2.06 ^d	49.93±0.28 ^d
crypt of liberkühn				
ลำไส้เล็กส่วนต้น	8.20 ±0.46 ^d	8.76 ±0.52 ^c	8.25 ±0.65 ^d	8.63 ±0.54 ^c
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	5.80±0.29 ^d	6.29±0.21 ^c	4.94 ±0.20 ^d	5.00 ±0.32 ^d

หมายเหตุ ^{a และ b} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{c และ d} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5. ปริมาณกรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acid)

จากผลการทดลองพบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารไก่กระทงทำให้กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกในของเหลวในไส้ติ่ง มีปริมาณสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (ตารางที่ 18)

กลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่าทุกกลุ่ม มีค่าเท่ากับ 31.18 mmol/g (P<0.01) ส่วนกลุ่มเสริมระยะแรก ระยะหลัง และกลุ่มควบคุมมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก ระยะหลัง และกลุ่มควบคุมมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ปริมาณกรดบิวทีริก พบว่ากลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีปริมาณสูงกว่าทุกกลุ่ม มีค่าเท่ากับ 16.64 mmol/g ส่วนกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตระยะแรก ระยะหลัง และกลุ่มควบคุมมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ เท่ากับ 8.62 8.89 และ 7.24 mmol/g ตามลำดับ

ตารางที่ 18 แสดงปริมาณกรดไขมันสายสั้น (กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทีริก และ กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด) ในไส้ติ่งไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา (mmol/g)	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
กรดอะซิติก	16.80 ± 0.02 ^d	31.18 ± 0.05 ^c	20.51 ± 0.02 ^d	20.70 ± 0.01 ^d
กรดโพรพิโอนิก	11.09 ± 0.01 ^b	15.89 ± 0.03 ^a	11.75 ± 0.02 ^b	13.80 ± 0.01 ^a
กรดบิวทีริก	7.24 ± 0.01 ^d	16.64 ± 0.03 ^c	8.62 ± 0.01 ^d	8.89 ± 0.01 ^d
กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด	35.13 ± 0.03 ^d	63.71 ± 0.02 ^c	40.88 ± 0.02 ^d	43.39 ± 0.03 ^d

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^c และ ^d อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

กรดไขมันสายสั้นในทางเดินอาหารดังกล่าวมีผลในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์เยื่อผนังลำไส้ได้ (Ichikawa and Sakata, 1998) โดยอาจเป็นผลจากการกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในลำไส้ และเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเซลล์เยื่อผนังลำไส้ (Rabassa and Rogers, 1992) นอกจากนี้พลังงานที่เกิดจากการหมักย่อยดังกล่าวยังเป็นแหล่งของพลังงานใช้ประโยชน์ได้ให้แก่สัตว์ปีกถึง 7.8-8.6 KJ g⁻¹ หรือคิดเป็น 3.5% ของพลังงานใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด ซึ่งกรดบิวทีริกที่ผลิตได้จะทำให้เพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์ ลดการขับของมูล และเพิ่มความลึกของ crypt (Piva *et al.*, 2002) นอกจากนี้กรดบิวทีริกยังสามารถเพิ่มความยาวของ microvilli และความลึกของ crypt อีกด้วย (Gálfi and Bokori, 1990) ซึ่ง Jacobasch *et al.* (1999) รายงานว่ากรดบิวทีริกในระบบทางเดินอาหารของไก่มีผลป้องกันการอักเสบของลำไส้และป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอน การมีกรดบิวทีริกสูงอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและหน้าที่ของเซลล์ในทางเดินอาหารของไก่กระทง และส่งเสริมให้ไก่กระทงมีสุขภาพดี ทนทานต่อโรคต่างๆ สูงขึ้นส่วนปริมาณกรดไขมันสายสั้นได้ทั้งหมด พบว่ากลุ่มที่มีการเสริมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีปริมาณสูงกว่าทุกกลุ่ม มีค่าเท่ากับ 63.71 mmol/g ส่วนกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตระยะแรก ระยะหลัง และกลุ่มควบคุมมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Biagi *et al.* (2006) ที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีแนวโน้มทำให้ปริมาณของกรดไขมันสายสั้นเพิ่มขึ้น โดยทำให้ปริมาณของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทีริก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น

จากที่กล่าวมามีความเป็นไปได้ว่า กลุ่มควบคุม และกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตเพียงระยะเดียว มีการหมักย่อยของแบคทีเรียในลำไส้และกรดไขมันสายสั้นน้อย ทำให้การเจริญของลำไส้ต่ำกว่ากลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ และทั้งนี้ปริมาณของกรดไขมันสายสั้นแตกต่างกัน มีผลมาจากปริมาณของโซเดียมกลูโคเนตที่กินเข้าไปส่งผลทำให้เกิดความแตกต่างของประชากรจุลินทรีย์และการหมักย่อยในทางเดินอาหาร ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีการเมแทบอลิซึมสารอาหารในลำไส้ใหญ่และการหมักย่อยเกิดขึ้นได้หลายวิถีทาง (Macfarlane and Cummings, 1995) เช่น การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากกรดซักซินิก (succinic acids) ต้องใช้โคแฟกเตอร์ (cofactor) B₁₂ (Benalier *et al.*, 1999) การผลิตกรดอะซิติกจะเกิดก๊าซไฮโดรเจน (Gibson *et al.*, 1990) เป็นต้น มีผลทำให้กรดไขมันสายสั้นที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน โดยเฉพาะกรดบิวทีริกจะเป็นสารอาหารสำหรับการผลิต ATP ในสภาพใช้ออกซิเจนของเซลล์เยื่อบุลำไส้ตรง อีกทั้งมีความสำคัญในการกระตุ้นการเจริญและสร้างเซลล์ใหม่พื้นฐาน crypt ของเยื่อบุลำไส้ในเซลล์ปกติ ส่วนในเซลล์เนื้องอกจะยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในระยะ GI ของวงจรเซลล์ (Jacobasch *et al.*, 1999; Bird *et al.*, 2000)

6. ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* spp. ในไส้ติ่ง

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก และเสริมระยะหลัง กับกลุ่มที่ได้รับอาหารเปรียบเทียบกับไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต ต่อปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. พบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีปริมาณ *Lactobacillus* spp. มากกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีปริมาณ *Lactobacillus* spp. มากกว่ากลุ่มอื่น แม้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 19)

โซเดียมกลูโคเนตเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* spp. ทำให้มีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มีมากขึ้น สามารถแข่งขันแย่งสารอาหารและยึดเกาะติดผนังเยื่อบุทางเดินอาหาร เป็นผลให้ไปขัดขวางกลไกการยึดเกาะและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค โดยถูกกำจัดออกไปจากทางเดินอาหาร (Barrow *et al.*, 1980) นอกจากนี้ *Lactobacilli* ยังสร้างกรดอินทรีย์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หรือสารยับยั้งแบคทีเรียไอซิน (bacteriocin) เช่น nisin (Hill, 1995), acidolin, acidophillin, bulgarican, lactobrevin, lactocidin, lactoin และ lactolin เป็นต้น (Muralidhara *et al.*, 1977) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถกำจัดเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* spp. ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคในทางเดินอาหารสัตว์ทั่วไป จากรายงานของ Cosby *et al.* (1997) กล่าวว่า *Lactobacillus* spp. ที่แยกได้จากก้นและซี่กัมไก่สามารถสร้างสารต่อต้านจุลินทรีย์ระหว่างการศึกษาเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยมีฤทธิ์ยับยั้ง *Salmonella typhimurium* ได้

ตารางที่ 19 แสดงผลของโชนิยเมกุลโคเนตต่อปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* spp. (CFU/g) ของไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	18.58±12.63	38.70±4.80	31.20±3.73	34.33±5.30

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

7. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในทางเดินอาหาร

ความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารไก่กระทงที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ พบว่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่ากลุ่มที่ได้รับโชนิยเมกุลโคเนตนั้นจะมีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม (ตารางที่ 20)

Sturkie (1976) รายงานว่า ความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารไก่ตั้งแต่ลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นกรด (5.70-6.00) ลำไส้เล็กส่วนปลายมีความเป็นกรด-ด่างเกือบเป็นกลาง (6.30-6.40) ในขณะที่ลำไส้ใหญ่และซีกัมมีพีเอชเป็น กรดอ่อนถึงด่าง (5.70-8.40) สภาพทางเดินอาหารที่เป็นกรดอ่อนถึงด่างจะเหมาะสมสำหรับการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ทนกรดและแบคทีเรียก่อโรค เช่น *E. coli* และ *Salmonella* spp. เป็นต้น ในการทดลองนี้ความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารไก่กระทงที่ได้รับอาหารทั้ง 4 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ไก่ที่ได้รับโชนิยเมกุลโคเนตจะมีปริมาณ *Lactobacilli* ที่มีแนวโน้มมากกว่าไก่ที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุมก็ตาม (ตารางที่ 19) ซึ่ง *Lactobacilli* สามารถสร้างกรดไขมันสายสั้นและกรดแลกติก ทำให้ความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารลดลง อาจเนื่องจากกรดไขมันสายสั้นที่ผลิตได้ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์อย่างรวดเร็วโดยเซลล์เยื่อบุผิว เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานให้กับแบคทีเรียเองและให้กับตัวสัตว์ (Pluske *et al*, 1997) กรดไขมันสายสั้นส่วนใหญ่ (ไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์) จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ใหญ่อย่างรวดเร็ว และเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์เยื่อบุลำไส้ บางส่วนจะถูกขับออกทางมูล ปัสสาวะ และลมหายใจ (Gibson and Roberfroid, 1995; Eliotand and Shronts, 1992) นอกจากนี้ที่ลำไส้จะมีการหลั่งเยื่อเมือกและไบคาร์บอเนตออกมาเพื่อปรับค่าพีเอชของทางเดินอาหารให้มีสภาพเหมาะสมสำหรับน้ำย่อยและป้องกันชั้นเยื่อบุลำไส้จาก

น้ำย่อย (ชัยวัฒน์, 2541) จึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารของไก่ทั้ง 4 กลุ่มใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 20 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อ pH ในระบบทางเดินอาหารของไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG	SG	SG
		(0.2%/0.1%)	(0.2%/0%)	(0%/0.1%)
ค่าไล่ส่วนต้น	6.10 ± 0.12	5.88 ± 0.12	5.93 ± 0.15	5.86 ± 0.12
ค่าไล่ส่วนกลาง	5.87 ± 0.14	5.72 ± 0.16	5.85 ± 0.09	5.83 ± 0.12
ค่าไล่ส่วนปลาย	5.94 ± 0.24	5.69 ± 0.26	5.92 ± 0.23	5.71 ± 0.14
ไล่ตั้ง	7.38 ± 0.15	6.75 ± 0.58	7.36 ± 0.13	7.12 ± 0.17
ไล่ตรง	6.92 ± 0.21	6.51 ± 0.21	6.96 ± 0.16	6.54 ± 0.15

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

8. ผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่อายุ 42 วัน (ตารางที่ 21) พบว่า น้ำหนักตับ หัวใจ และตับอ่อนของทุกกลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ ไชมันช่องท้องนั้น กลุ่มเสริมทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก เสริมระยะหลัง และกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 1.03 1.35 1.36 และ 1.46 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่มีการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ มีเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องต่ำสุดคือ 1.03 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ซึ่งสอดคล้องกับ Kalavathy *et al.* (2003) พบว่าการเสริมเชื้อในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. ลดเปอร์เซ็นต์ของไขมันในช่องท้อง Chen *et al.* (2005b) ทำการเสริมพรีไบโอติกลงในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0 และ 1.0% พบว่าเปอร์เซ็นต์ของไขมันช่องท้องลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ซึ่งการลดลงของเปอร์เซ็นต์ไขมันในช่องท้องเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จากการเสริมพรีไบโอติกจะไปทำการลดการทำงานของ acetyl-CoA carboxylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ควบคุม (rate limiting enzyme) ในการสังเคราะห์กรดไขมัน (Santoso *et al.*, 1995)

การเสริมพรีไบโอติกมีอิทธิพลขบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสและไขมัน โดยอาศัยการทำงานของกรหมักย่อยพรีไบโอติกจนได้กรดไขมันสายสั้น (Luo *et al.*, 1996) โดยเฉพาะโปรพิโอเนตสามารถลดการสังเคราะห์กรดไขมันในตับ (Delzenne and Kok, 2002) สอดคล้องกับรายงานของ Boillot *et al.* (1995) ทำการเสริมโปรพิโอเนตในอาหารหนู พบว่าทำให้กลูโคสในพลาสมาลดลง เมื่อมีการกินอาหารที่มีพรีไบโอติก ทำให้ไปเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ จุลินทรีย์เหล่านี้ทำการหมักย่อยพรีไบโอติกจนได้กรดไขมันสายสั้น โปรพิโอเนตเป็นตัวยับยั้งการทำงานของกลูโคสในตับ โดยยับยั้ง fatty acid synthase mRNA ทำให้มีการสร้างกรดไขมันลดลง เมื่อกรดไขมันน้อยลงการผลิตไตรกลีเซอไรด์ก็ลดลง ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่ส่งเข้าสู่กระแสเลือดน้อยลงและกรดไขมันที่เก็บใน adipose tissue น้อยลง (Delzenne *et al.*, 2002)

ตารางที่ 21 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักอวัยวะของไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
น้ำหนัก (%น้ำหนักตัว)				
ตับ	2.24 ± 0.08	2.35 ± 0.04	2.31 ± 0.06	2.29 ± 0.07
ไขมันช่องท้อง	1.46 ± 0.10 ^a	1.03 ± 0.07 ^b	1.35 ± 0.12 ^a	1.36 ± 0.10 ^a
หัวใจ	0.57 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.02
ตับอ่อน	0.23 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.11 ± 0.02

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

9. อัตราส่วนไขมัน และต่อมเบอรัชาต่อน้ำหนักตัว

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยสัดส่วนน้ำหนักไขมันต่อน้ำหนักตัว พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.03 1.98 1.94 และ 1.84 เปอร์เซนต์น้ำหนักตัว ที่ระดับโซเดียมกลูโคเนตในอาหารทั้ง 2 ระยะ เสริมในระยะแรก เสริมในระยะหลัง และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ผลการทดลอง ด้านค่าเฉลี่ยสัดส่วนของต่อมเบอรัชาต่อน้ำหนักตัว ไม่พบความแตกต่างของทุกกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 22)

โดยกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยสัดส่วนน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัวต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

ม้ามเป็นแหล่งสะสมของ T lymphocyte ที่เจริญพัฒนาเต็มที่ ซึ่งค่าเฉลี่ยสัดส่วนน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว อาจบ่งบอกถึงความสามารถของร่างกายต่อการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม แนวโน้มของค่าเฉลี่ยสัดส่วนน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว ในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำที่สุดแสดงว่าอาจส่งผลทำให้ม้ามมีขนาดเล็กลง ซึ่งจะส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Tizard, 2000)

ต่อมเบียร์ช่าเป็นอวัยวะน้ำเหลืองปฐมภูมิทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางที่ Stem cells จากไขกระดูกจะพัฒนาไปเป็น B cells ตอบสนองต่อแอนติเจน โดยการสร้างและปลดปล่อยแอนติบอดีเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งจะเจริญเต็มที่เมื่อไก่อายุ 28 วัน และจะค่อยๆ หยุดการทำงานและฝ่อลงเมื่อไก่อายุได้ประมาณ 35-42 วัน โดย B cells จะไปเจริญและพัฒนาที่อวัยวะน้ำเหลืองทุติยภูมิ ได้แก่ ต่อม้ำเหลือง (Payer's Patches) หรือ ไขกระดูก (Bone marrow) แทน (Tizard, 2000) จึงทำให้การเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่ส่งผลใดๆ และต่อมเบียร์ช่าก็ไม่สามารถบ่งชี้ระบบภูมิคุ้มกันได้

ตารางที่ 22 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อน้ำหนักม้าม และต่อมเบียร์ช่าของไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
น้ำหนัก (%น้ำหนักตัว)				
ม้าม	1.84 ± 0.09^d	2.03 ± 0.09^c	1.98 ± 0.07^c	1.94 ± 0.09^c
ต่อมเบียร์ช่า	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02

หมายเหตุ ^{c และ d} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

10. ระดับไทรอยด์ฮอร์โมน (T3)

ผลการศึกษาระดับฮอร์โมนไทรไอดีน (T3) (ตารางที่ 23) ในไก่กระทงที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก เสริมระยะหลัง และกลุ่มควบคุม พบว่ามีค่าเท่ากับ

60.62 65.62 64.92 และ 66.92 นาโนกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ฮอร์โมน Thyroid มีหน้าที่ควบคุม metabolic rate (Gabarrou *et al.*, 1997 และ Bobek *et al.*, 1977) ซึ่งไทรไอยูโดไทโรนิน (T3) เป็นฮอร์โมนหลักที่ทำหน้าที่กระตุ้น metabolic rate โดยเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีน การสังเคราะห์เอนไซม์ รวมทั้งเร่งปฏิกิริยาต่างๆ เพิ่มอัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ทั่วร่างกาย (Gabarrou *et al.*, 1997 และ McNabb and King, 1993) อีกทั้งยังเพิ่มอัตราการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต จึงให้ส่งเสริมการเจริญเติบโต (Yahav, 2000; Gonzales *et al.*, 1999 และ Carew *et al.*, 1998) ดังนั้นจากผลการทดลองสอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโต เมื่อมีระดับของฮอร์โมนไทรไอยูโดไทโรนินสูงขึ้นอัตราการเจริญเติบโตก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ตารางที่ 23 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อระดับฮอร์โมนไทรไอยูโดไทโรนิน (T3) (นาโนกรัม/เดซิลิตร) ของไก่กระทง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
ฮอร์โมน T3	66.92 $\pm$ 7.30	60.62 $\pm$ 8.90	65.66 $\pm$ 8.90	64.92 $\pm$ 10.43

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

11. อัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์และระดับ ND

Titer

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมระยะแรก และระยะหลัง ในสูตรอาหารเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารเปรียบเทียบกับไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนตเพื่อศึกษาอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (ตารางที่ 24) พบว่า ที่อายุ 42 วันระดับค่าเฉลี่ยกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีค่าอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์น้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ

การเพิ่มขึ้นของระดับอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์จะเป็นตัวดัชนีที่บ่งชี้ถึงความเครียด (General stress) ในไก่ (Gross and Seigel, 1983; Maxwell, 1993) สาเหตุ

ของความเครียดอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง การลดอาหารหรือน้ำ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ช่วงแสงที่ไก่ได้รับ ซึ่งจะส่งผลให้จำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลเพิ่มขึ้น เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ลดลง (Gross and Siegel, 1986; Gross, 1989; McFarlane and Curtis, 1989) ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิดมีหน้าที่โดยตรงต่อขบวนการเก็บกิน (phagocytosing activity) และต่อสู้กับเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย (วิโรจน์, 2537) ผลการทดลองที่เกิดขึ้นมีความสอดคล้องกันเกี่ยวกับระดับของภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดและความเครียด โดยพบว่าระดับของแอนติบอดีต่อวัคซีนนิวคาสเซิล ซึ่งถือเป็นระดับของภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดกับอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่ใช้เป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงความเครียดที่ลดลง

โซเดียมกลูโคเนตที่เสริมในอาหารส่งผลให้ค่า ND Titer ในซีรัมอายุ 42 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่า ND Titer ในซีรัม 3.69 4.54 3.77 และ 4.38 ที่ระดับโซเดียมกลูโคเนตในอาหาร 0.2%/0.1%, 0.2%/0% และ 0%/0.1% ตามลำดับ (ตารางที่ 24) อาจเป็นไปได้ว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตส่งผลทำให้ระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนนิวคาสเซิลสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งจากระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนนิวคาสเซิลสูงขึ้นมีผลโดยตรงจากเนื้อเยื่อน้ำเหลือง และผลทางอ้อมจากปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร ที่จะไปกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย (Jin *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตามกลไกที่ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้นจะต้องมีการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 24 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่ออัตราส่วนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (H:L) และระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนนิวคาสเซิล (ND Titer) ของไก่ กระทั่ง 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
ปริมาณ H:L	1.49 ± 0.27^a	0.96 ± 0.20^b	1.05 ± 0.32^b	1.03 ± 0.19^b
ND Titer	3.69 ± 0.40^c	4.54 ± 0.14^a	3.77 ± 0.12^{bc}	4.38 ± 0.14^{ab}

หมายเหตุ ^{a, b และ c} อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

12. โปรตีนทั้งหมด อัลบูมิน อัลฟา-กลอบูลิน บีตา-กลอบูลิน แกมมา-กลอบูลิน กลอบูลิน และสัดส่วนของอัลบูมินต่อกลอบูลิน ในซีรัม

ผลการศึกษาการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ เสริมในระยะแรก เสริมในระยะหลัง และกลุ่มควบคุมแสดงในตารางที่ 25 พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดในซีรัม ปริมาณอัลบูมิน ปริมาณอัลฟา-กลอบูลิน ปริมาณกลอบูลินและสัดส่วนของอัลบูมินต่อกลอบูลิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลต่อบีตา-กลอบูลิน (ตารางที่ 25) พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระยะต่าง ๆ ส่งผลให้ปริมาณบีตา-กลอบูลิน ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ และระยะหลัง ทำให้ปริมาณบีตา-กลอบูลินในซีรัม ต่ำกว่ากลุ่มอื่น คือ 0.54 กรัม/เดซิลิตร และผลต่อปริมาณแกมมา-กลอบูลิน (ตารางที่ 25) พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ปริมาณแกมมา-กลอบูลิน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ และเสริมในระยะหลัง มีปริมาณแกมมา-กลอบูลินในซีรัมสูงกว่ากลุ่มอื่น มีค่า 0.82 และ 0.77 กรัม/เดซิลิตร

ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในซีรัม (total serum protein) ใช้แสดงสภาวะทางโภชนาการหรือสภาวะการสูญเสียโปรตีนเบื้องต้นได้ดี (Keneko *et al.*, 1997) นอกจากนั้นโปรตีนทั้งหมดในซีรัมมีความสัมพันธ์กับระดับโปรตีนจากอาหาร สอดคล้องกับ Glick *et al.* (1981) รายงานว่าโปรตีนรวมทั้งหมดในซีรัมลดลงเมื่อได้รับโปรตีนจากอาหารน้อยลง จากผลการทดลองไม่พบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในซีรัมเพราะอาหารที่สัตว์ได้รับทุกกลุ่มมีปริมาณของโปรตีนที่เท่ากัน นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าฮอร์โมนบางชนิด เช่น ฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) หรือ โกรทฮอร์โมน (growth hormone) มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของโปรตีนในพลาสมา ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการสร้างผลผลิต (anabolic effect) ขณะที่ฮอร์โมนไทรอกซีน (thyroxine) หรือ คอร์ทิซอล (cortisol) มีแนวโน้มทำให้โปรตีนในพลาสมาลดลงซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการสลายโปรตีน (catabolic effect) (Keneko *et al.*, 1997) ดังนั้นจุดนี้น่าจะเป็นเหตุผลทำให้กลุ่มควบคุมมีปริมาณโปรตีนรวมทั้งหมดในซีรัมต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (ตารางที่ 23)

สุพิศ (2524) กล่าวว่าบีตา-กลอบูลินส่วนใหญ่ประกอบด้วยบีตา-ไลโปโปรตีน (beta-lipoprotein) และ ทรานเฟอร์ริน (transferrin) ดังนั้นบีตา-กลอบูลินในซีรัมจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีไขมันหรือโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของเปอร์เซ็นต์ไขมันในช่องท้องของกลุ่มที่เสริม

โซเดียมกลูโคเนตที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องลดลง โดยเฉพาะในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ

แกมมา-กลอบูลิน คือ อิมมูโนกลอบูลิน (Immunoglobulin; Ig) จะเพิ่มขึ้นในกรณีที่ร่างกายมีการสังเคราะห์แอนติบอดีอันเป็นผลจากการกระตุ้นของแอนติเจนสูงขึ้น (Margaret, 2001) จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 2 ระยะ และในระยะหลัง มีปริมาณแกมมา-กลอบูลินในซีรัมเพิ่มขึ้น ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ ND-Titer ที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 24) อย่างไรก็ตามปริมาณกลอบูลินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณกลอบูลินนั้นมีอิทธิพลมาจากคุณภาพและปริมาณของโปรตีนในอาหาร (Tewe, 1985) ส่วนสัดส่วนของอัลบูมินต่อกลอบูลินนั้น สามารถใช้เป็นการสังเกตภาวะการเป็นโรคเกี่ยวกับโปรตีน (Henry, 1984)

ตารางที่ 24 แสดงผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดในซีรัม อัลบูมิน อัลฟา-กลอบูลิน บีตา-กลอบูลิน แกมมา-กลอบูลิน กลอบูลิน และสัดส่วนของอัลบูมินต่อกลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร) ของไก่อายุ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มควบคุม	SG (0.2%/0.1%)	SG (0.2%/0%)	SG (0%/0.1%)
โปรตีนทั้งหมดในซีรัม	3.29±0.13	3.73±0.25	3.42±3.73	3.65±0.07
อัลบูมิน	1.00±0.14	1.21±0.16	1.07±0.24	1.19±0.21
อัลฟา-กลอบูลิน	0.52±0.40	0.62±0.12	0.60±0.18	0.62±0.11
บีตา-กลอบูลิน	0.76±0.14 ^a	0.54±0.25 ^b	0.59±0.10 ^b	0.54±0.10 ^b
แกมมา-กลอบูลิน	0.54±0.02 ^b	0.82±0.07 ^a	0.66±0.14 ^{ab}	0.77±0.03 ^a
กลอบูลิน	0.47±0.14	0.54±0.15	0.50±0.40	0.53±0.18
อัลบูมินต่อกลอบูลิน	2.13 ±0.22	2.24±0.32	2.14±0.15	2.25±0.13

หมายเหตุ ^a และ ^b อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารไก่กระທตลอดช่วงอายุ 21 วัน ทำให้สมรรถภาพการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงตามปริมาณอาหารที่กินแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อีกทั้งยังส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารที่ดีขึ้น
2. การเสริมโซเดียมกลูโคเนตแต่ระยะนั้น แม้ว่าจะไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต แต่ส่งผลทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลง ระบบทางเดินอาหารดีขึ้น คุณภาพซากดี นอกจากนั้นยังพบมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น
3. การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงนั้น ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง แต่มีคุณภาพซากที่ดีทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าของผลผลิตได้ดียิ่งขึ้น
4. การเสริมโซเดียมกลูโคเนตนั้นควรเสริมในระยะยาว เพราะการเสริมโซเดียมกลูโคเนตเพียงระยะใดระยะหนึ่งอาจทำให้มีการแสดงประสิทธิภาพของฟรีไบโอติกได้ไม่เต็มที่

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

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

กรรณิการ์ พนาบุญเจริญ. 2545. ผลการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอินทรีย์รวมในอาหารลูกสุกรหย่านม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกรียงศักดิ์ พุนสุข. 2536. โรคติดเชื้อในไก่. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

เฉลิมขวัญ คำคำ และ มัลลิกา ชมนาวัง. 2548. คุณรู้จัก Prebiotic แล้วหรือยัง. อาหาร 35 (2): 96-102.

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

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

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ สุชน ตั้งทวีพัฒน์. 2546. ผลการเสริมเชื้อแลคโตบาซิลลัสที่มีต่อสมรรถภาพการผลิตและโคเลสเตอรอลในไข่ไข่และไข่เนื้อ. สารสนเทศและการเกษตร. 51(4):22-26.

บุษบา วิวัฒน์เวคิน. 2543. หลักการของ Prebiotic: โภชนาการที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์. วารสารองค์การเภสัชกรรม 26: 31-40.

ราชวดี ยอดเสริม. 2546. ผลการเสริมสเม็คไทต์และหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมหัวเชื้อจุลินทรีย์น้ำสกัดชีวภาพจากพืชและระดับแอมโมเนียในมูลไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- วิโรจน์ จันทรัตน์. 2537. **กายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์ปีก**. ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะ
ผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สันนิภา สุรทัตต์. 2545. **Veterinary immunology: an update**. บริษัทโนวาร์ตีส (ประเทศไทย),
กรุงเทพฯ.
- สาโรช คำเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. หน้า 321-327.
- สุทธิพันธ์ สารสมบัติ. 2537. **อิมมูโนวิทยา**. ครั้งที่ 4. เค.พี.พรินติ้ง, กรุงเทพฯ.
- โสมทัต วงศ์สว่าง. 2538. **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตว
แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- สุพิศ จินดาวณิก. 2524. **ชีวเคมีคลินิก เล่ม 1**. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- สุวรรณ พรหมทอง. 2548. **การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสรีรวิทยา จุลวิภาค และจุลินทรีย์
ในทางเดินอาหารไก่อระยะที่ได้อาหารสูตรมันสำปะหลังกับอาหารสูตรข้าวโพด
วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**
- ศุภวันจักรี พลมีศักดิ์ และ สมชัย จันทรสว่าง. 2545. ผลการใช้จุลินทรีย์และโอลิโกแซคคาไรด์
จากพืช เยรูซาเล็ม อาร์ติโค ในอาหารสุกรรุ่น-ขุนเพื่อลดกลิ่นเหม็นและแอมโมเนียของมูล
สุกร, น. 265. ใน การประชุมวิชาการสมุนไพรรไทยโอกาสและทางเลือกใหม่ของ
อุตสาหกรรมผลิตสัตว์. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Alles, M.S., J.G. Hautvast, F.M. Nagengast, R. Hartemink, K.M. Van Laere and J.B. Jansen.
1996. Fate of fructo-oligosaccharides in the human intestine. **Journal of Nutrition** 76
(2): 211-221.

- Aniansson G., B. Andersson, R. Lindstedt and C. Svanbrong. 1990. Anti-adhesive activity of humun casein against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. **Microbial Pathology** 8: 315-323.
- AOAC. 1990. **Official Method of Analysis**. 15th ed. Association of Officiation Agricultural Chemists, Inc., Virginia.
- Argenzio, R. A. 1993. **Secretory functions of the gastrointestinal tract**. In: M. J. Swenson and W.O. Reece (Ed.) Dukes' Physiology of Domestic Animals. 11th ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Asano, T., K. Yuasa, Y. Yosimura, S. Takenawa and H. Fukuba. 1997. Digestion, absorption and intestinal residue of various gluconic acids in rats. **Journal of Nutrition Food Science** 50: 287-294.
- Barrow, P.A., B.E. Brolleker, R. Fuller and M.J. Newport. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of intestine. **Apply Bacteriol.** 48: 147-154.
- Bernalier, A., J. Dore and M. Durand. 1999. Biochemistry of fermentation. In G.R Gibson, and M.B. Roberfroid, eds. **Colonic Microbiota, Nutrition and Health**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Biagi, G., A. Piva., M. Moschini., E. Vezzali and F.X. Roth. 2006. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal micro flora, and intestinal wall morphology. **Journal of Animal Science** 84: 370-378.
- Bird, A.R., I.L. Brown and D.L. Topping. 2000. Starch, resistant starches, the gut microflora and human health. **Microbiological Research** 1 (1): 25-37.

- Bobek, S., M. Jastrzebski and M. Pietras. 1977. Age related changes in oxygen consumption and plasma thyroid hormone concentration in the young chicken. **General and Comparative Endocrinology** 31: 169-174.
- Boillot J., C. Alamowitch, A.M. Berger, J. Lou, F. Bruzzo, F.R.J. Bornet and G. Slama. 1995. Effects of dietary propionate on hepatic glucose production, whole body glucose utilization, carbohydrate and lipid metabolism in normal rats. **Journal of Nutrition** 73: 241-251.
- 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. **Journal of Nutrition** 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. **Journal of Nutrition** (127): 444-448.
- Canzi, E., F. Brighenti, M.C. Casiraghi, E. Del Puppo and A. Ferrai. 1995. Prolonged consumption of inulin in ready to eat breakfast 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.
- Carew, L.B., K.G. Evarts and F.A. Alster. 1998. Growth feed intake and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. **Journal of Poultry Science** 77: 295-298.
- Chen, Y.C., Nakthong C. and Chen T.C. 2005a. Effects of chicory fructans on egg cholesterol in commercial laying hen. **Journal of Poultry Science** 4 (2): 109-114.

- Chen Y.C., C. Nakthong, T.C. Chen and R.K. Buddington. 2005b. The influence of a dietary beta-fructan supplement on digestive function, serum glucose and yolk lipid content of laying hens. **Journal of Poultry Science** 4 (9): 645-651.
- Chesson, A. 1993. **Probiotics and other intestinal mediators**. In Cole, D.J.A., J. Wiseman and M.A. Varley eds. Principles of Pig Science. Nottingham University Press. Longborough, UK. pp. 197-214.
- Chorvaticova, D., E. Machova, J. Sandula and G. Kogan. 1999. **Mutation Research** 444: 117-122.
- Cosby, D.E., S.E. Craven, M.A. Harrison and N.A. Cox. 1997. Bacterial isolates from a chicken gizzard and ceca with *in vitro* inhibitory activity against *Salmonella typhimurium*. **Journal of Food Protection** 60 (2): 120-124.
- Cumming, J.H. 1995. Short chain fatty acid. In Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition. **Physiology Pathology** 101-130.
- Delzenne N.M. and N. Kok. 2001. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. **Journal of Clinical Nutrition** 73 (2 Suppl): 456-458.
- 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. **Journal of Nutrition** 87 (2 Suppl): 255-259.
- Deppenmeier, U., M. Hoffmeister., and C. Prust. 2002. Biochemistry and biotechnological applications of *Gluconobacter* strain. **Apply Microbiology Biotechnology** 60: 233-242.
- Dobrogosz, W. J., B. L. Black, and L. A. Casas. 1991. Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. **Journal of Poultry Science** 70(Suppl.1):158. (Abstr.)

- Eliot, G. and E.P. Shrouts. 1992. Intestinal fuels : glutamine, short-chain fatty acids and dietary fiber. **Journal of American Dietetic Association** 92 (10): 1239-1246.
- Erwin, E.S., G.J. Marco and E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science** 44: 1768-1771.
- Frandsen, R.D. 1992. **Anatomy and physiology of farm animals**. 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger.
- Frankel W.L., W. Zhang, A. Singh, D.M. Klurfeld, S. Don, T. Sakata and I. Modlin. 1994. Mediation of the tropics effect of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. **Gastroenterology** (106): 375-380.
- Gabarrou, J.F., C. Duchamp, J. Williams and P.A. Geraert. 1997. A role of thyroid hormones in the regulation of diet-induced thermogenesis in birds. **British Journal of Nutrition** 78: 963-973.
- Gálfi, P. and J. Bokori. 1990. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. **Acta Veterinaria Hungarica** 38 (1-2): 3-17.
- Geyra, A, Z. Uni and D. Sklan. 2001. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Journal of Poultry Science** 80: 776-782.
- Gibson, G.R., J.H. Cummings, G.T. Macfarlane, C. Allison, I. Segal, H.H. Vorster and A.R. Walker. 1990. Alternative pathways for hydrogen disposal during fermentation in the human colon. **Gut** 31(6): 679-683.
- Gibson, G.R. and X. Wang. 1994. Regulatory effect of Bifidobacterium on the growth of other colonic bacteria.. **Journal of Apply Bacteria** (77): 402-412.

- Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation on the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition** (125): 1404-1412.
- Gibson, G.R. 1998. Dietary modulation of human gut microflora using prebiotics. **Journal of Nutrition** 80: 209-212.
- Gibson, G.R., R.A. Rastall and M.B. Roberfroid. 1999. Prebiotics. *In* **Colonic microbiota, nutrition and health**. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.
- Glick, B., R.L., E.J. Day and D. Thompson. 1981. Calorie-Protein deficiencies and the immune response of the chicken. I. Humeral Immunity. **Journal of Poultry Science** 60: 2494-2500.
- Gonzales, E., J. Buyse, J.R. Sartori, M.M. Loddi and E. Decuypere. 1999. Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 2. Relationship between the thyroid and somatotrophic axes with growth and mortality. **Journal of Poultry Science** 78: 516-521.
- Gross, W.B. 1983. Evaluation of the heterophil:lymphocyte ratio as a measure of stress in chicken. **Avian Diseases**. 27 (4): 972-979.
- 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.
- Gross, W.B. 1989. Factors affecting chicken thrombocyte morphology and the relationship with heterophil:lymphocyte ratio. **Journal of Poultry Science** 30: 919-925.
- Harvey, S., J. Phillips, A. Rees and T. Hall. 1984. Stress and adrenal function. **Journal of Experimental Zoology** 232 (3):633-645.
- Havenaar, R., B.T. Brink and H.J. Jos. 1992. Selection of strains for probiotic use. In Fuller, R. ed. **Probiotics: The scientific basis**. Chapman & Hall, London, U.K. pp. 209-224.

- Henry, J.B. 1984. **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. 17th ed. Philadelphia, Saunders.
- Hill, C. 1995. Bacteriocin : natural antimicrobials from microorganism, pp. 22-39. *In* G.W. Gould, ed. **New Methods of Food Preservation**. Blackie Academic&Professional, London.
- 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. pp. 113-124.
- Houdijk, J.G.M., R. Hartemink, K.M.J. Van Laere and B.A. Williams. 1997. Fructooligosaccharides and transgalactooligosaccharides in weaner pigs diet. **Journal of Animal Science** 77: 69-78.
- Hudson, M.J. and P.D. Marsh. 1995. **Carbohydrate metabolism in the colon**. *In* G.R. Gibson and G.T. Macfarlane (eds.) **Human Colonic Bacteria Role in Nutrition, Physiology and Pathology**. CRC Press, Boca Raton.
- Ichikawa, H. and T. Sakata. 1998. Stimulation of epithelial cell proliferation of isolated distal colon of rats by continuous colonic infusion of ammonia or short-chain fatty acids is nonadditive. **Journal of Nutrition** 128(5):843-847.
- Iji, P.A. and D.R. Tivey. 1999. **The use of oligosaccharides in broiler diets**. *In* Kwakkel, R.P. and J.M.P. Bos. Eds. Proc. 12th Europe. Sym. Poult. Nutr., World's Poult. Sci. Assoc., Dutch Branch. Het Spelderholt, Beekbergen, the Netherlands. pp. 193-201.
- Iji, P.A., Saki and D.R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. I. Intestinal weight and mucosal development. **Journal of Poultry Science** 42: 505-513.

- Jacobasch, G., D. Schnried, M. Kruschewski and K. Schmehl. 1999. Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. **Journal of Coloretal Disease** 14 (4-5): 201-211.
- Jin, L., L.P. Reynolds, D.A. Redmer, J.S. Caton and J.D. Crenshaw. 1994. Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation, and morphology in growing pigs. **Journal of Animal Science** 270-2278.
- 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, 2001.
- Kalavathy R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2003. Effect of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. **Letters in Applied Microbiology** 27 (3): 183-185.
- Kamath, P.S., S.F. Philips and A.R. Zinsmeister. 1988. Stimulation of ileal emptying by short-chain fatty acids. **Gastroenterology** 95: 1496-1502.
- Kameue, C., T. Tsukahara, K. Yamada, H. Koyama Y. Iwasaki, K. Nakayama and K. Ushida. 2004. Dietary sodium gluconate protects rats from large bowel cancer by stimulating butyrate production. **Journal of Nutrition** 134: 940-944.
- Kaneko, J.J., J.W. Harvey and M.L. Bruss. 1997. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. 5th ed. Sandiego, Academic Press.
- Khaksefidi, A. and T. Ghoorchi. 2006. Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. **Journal of Poultry Science** 43 (3): 296-300.
- Kjeldsen, N. 1997. Proc. Societ. **Feed Technology** pp. 175-180.

- Krizkova L., Z. Durackova, J. Sasinkova and J. Krajcovic. 2001. Antioxidative and antimutagenic activity of yeast cell wall mannans *in vitro*. **Mutation Restriction** (497): 213-222.
- Leveille, G.A. and H.E. Sauberlich. 1961. Influence of dietary protein level on serum protein components and cholesterol in growing chick. **Journal of Nutrition** 74: 500-504.
- 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.
- Luo, J., S.W. Rizkalla, C. Alamowitch, A. Boussairi, A. Blayo, J.L. Barry, A. Laffitte, F. Guyon, F.R.J. Bornet and G. Slama. 1996. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides by healthy subjects decreased basal hepatic glucose production but had no effect on inulin-stimulated glucose metabolism. **Journal of Clinical Nutrition** (63): 939-945.
- Lutz, T. and E. Scharrer. 1991. **Experiment Psychology**. 76: 615-618.
- Margaret, A.W. 2001. **Avian Plasma Protein**. Available Source: <http://www.exoticpetvet.net>,
- MacFarlane, G.T. and J.H. Cummings. 1995. Microbiological aspects of the production of short-chain fatty acids in the large bowel. In J.H. Cummings, J.L. Rombeau and T. Sakata, eds. **Physiological Aspects of Short Chain Fatty Acids**. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Maxwell, M.H. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poultry Science Journal** 49:34-43.
- McFarlane, J.M. and S.E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chickens effects on plasma corticosterone and the heterophil:lymphocyte ratio. **Journal of Poultry Science** 68: 522-527.

- McNabb, F.M.A. and D.B. King. 1993. **Thyroid hormones effects on growth development and metabolism**. pp. 393-417 *in*: The Endocrinology of Growth Development and Metabolism. Vertebrates M.P. Schreibman, C.G. Scanes and P.K.T. Pang, ed. Academic Press, New York, NY.
- 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.
- Muralidhara, K.S., G.G. Sheggeby, D.C. England and W.E. Sandine. 1977. Effect of feeding *Lactobacillus* flora of intestinal tissue from piglets. **Journal of Food Protection** 40: 288-295.
- Nahashon, S. N., H. S. Nakaue, and L. W. Mirosch. 1994. Production variables and nutrient retention in Single comb White Leghorn laying pullets fed diets supplemented with Direct-Fed Microbials. **Journal of Poultry Science** 73:1699–1711.
- National Research Council. 1994. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9th Ed., National Academy Press, Washington, D.C. 27-29.
- Newman, K.T. 1995. **Saccharomyces boulardii: More application of yeast culture in monogastric**, pp. 379-381. *In* T.P. Lyons (ed.). Biotechnoly in the feed industry. Alltech. Publication, Nicholasville, Kentucky.
- Oppenheim, J.J. and E.M. Shevach. 1990. **Immunophysiology: the role of cells and cytokines in immunity and inflammation**. Oxford University Press, New York, NY.
- Pichova, I. and V., Kostk. 1990. Molecular characteristics of pepsinogen and pepsin from duck glandular stomach. **Comparative biochemistry and physiology** 97 (1): 89-94.

- 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 Science** 51 (1):215-236.
- Rabassa, A.A. and A.I. Rogers. 1992. The role of short-chain fatty acid metabolism in colonic disorders. **Journal Gastroenterol** 87 (4): 419-423.
- Ritchie, B.W., J.G. Harrison and R.L. Harrison. 1994. **Avian Medicine Principle and Application**. Florida. Winger's Publishing, Inc. p 138.
- Ross, G.C. 1999. **Prebiotic**, pp. 141-156. *In* W.T. Giral (ed.). *Prebiotics 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. **British Journal of Nutrition** 58: 95-103.
- Salminen, S., M. Deiegton and S. Gorbach. 1993. **Lactic Acid Bacteria in health and disease**, pp. 199-225. *In* S. Salminen and W. Attevon (eds.). *Lactic Acid Bacteria*. Lea and Febiger Malvern, Pennsylvania.
- SAS. 1990. *SAS/STAT User's Guide*. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, USA.
- Savage, T.F., P.F. Cotter and E.I. Zakrzewska. 1996. **Journal of Poultry Science** 75 (Suppl.1): 143.
- Savage, T.F., E.I. Zakrzewska and J.R. Andreasen. 1997. **Journal of Poultry Science** 76 (Suppl.1): 139.

- Savage, D.C. 2001. **Impact of antimicrobials on the microbial ecology of the gut**. Available
Source: <http://books.Nap.Edu/books/0309030447/html/130.html#pagetop>, December 3,
2001.
- Stephen, A. 1994. Propionate sources and effect on lipid metabolism. In *Falk Symposium* 73.
Short chain fatty acid, pp.260-271.
- Strombeck, D.R. and W.G. Guilford Wolfe. 1991. **Small animal gastroenterology**. 2nd ed.
Publishing limited.
- Sturkie, P.D. 1976. **Avian Physiology**. Springer-Verlag, Berlin.
- 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.
- Terada, A., H. Hara, M. Kataoka and T. Mitsuka. 1992. Effect of lactose on the composition and
metabolic activity of the human fecal flora. **Microbial Ecology in Health and Disease**
5: 43-50.
- Tewe, O.O. 1985. Protein metabolism in growing pigs fed corn or cassava peel based diets
containing graded protein levels. **Research in Veterinary Science** 38 (3): 259-263.
- Tizard, I.R. 2000. **Veterinary immunology An Introduction**. 4th ed. W.B. saunders Company
Philadelphia, London.
- Thomas, J.S. 1998. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott
Williams & Wilkins.
- Trevino, J., C. Centeno, A. Brences, P. Yuste and I. Rubio. 1990. **Animal Feed Science
Technology** 30: 313-319.

- Uni, Z., S. Ganot and D. Sklan. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Journal of Poultry Science** 77: 75-82.
- Uni, Z., Y. Noy and D. Sklan. 1995. Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light strain chicks. **Journal of Poultry Science** 74: 1622-1629.
- Velazquez, O.C., H.M., Lederer and J.L. Rombeau. 1996. Butyrate and the colonocyte, implications for neoplasia. **Digestive Diseases and Science** 41(4): 727-739.
- Williams, C.M. and K.G. Jackson. 2002. **British Journal of Nutrition** 87: 5261-5264.
- Wingfield, J.C. 1994. **Modulation of the adrenocortical response to stress in birds**, pp. 520-528. Cited K.G. Davey, R.E. Peter, and S.S. Tobe, eds. **Perspectives in comparative endocrinology**. Natl. Research Council of Canada, Ottawa.
- Yahav, S. 2000. Relative humidity at moderate ambient temperatures: its effect on male broiler chickens and turkeys. **British Journal of Poultry Science** 41: 94-100.
- Yusrizal and T.C. Chen, 2003. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestine length. **Journal of Poultry Science** 2: 214-219.

ภาคผนวก

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว} = \frac{\text{น้ำหนักไก่สิ้นสุดการทดลอง}-\text{น้ำหนักไก่เริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง}}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้}-\text{น้ำหนักอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนไก่}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด} = \frac{\text{จำนวนไก่สิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}}$$

การวิเคราะห์ Triiodothyronine:T3 ในซีรัม โดยใช้ Solid-phase ¹²⁵I Radioimmunoassay

หลักการ

การตรวจโดยเทคนิคนี้ ใช้สมบัติการเลือกจับอย่างจำเพาะระหว่างฮอร์โมน ซึ่งทำหน้าที่เหมือนแอนติเจน กับแอนติบอดีฮอร์โมน โดยใช้วิธีการยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) ระหว่างฮอร์โมนที่ติด และไม่ติดฉลากกัมมันตภาพรังสี กับแอนติบอดี โดยสารกัมมันตภาพรังสีที่ใช้ติดฉลากฮอร์โมนคือ ไอโอดีน ชนิด ¹²⁵I ซึ่งสามารถให้รังสีแกมมาที่มีอำนาจทะลุทะลวงสูง จึงทำให้ตรวจหาฮอร์โมนในระดับต่ำ ๆ ได้ดี การตรวจวิธีนี้จะหยุดทั้งสารละลายมาตรฐานของฮอร์โมน และตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาระดับฮอร์โมนไปพร้อม ๆ กัน โดยเติมแอนติบอดี และฮอร์โมนที่ติดฉลาก ¹²⁵I ในจำนวนที่แน่นอนลงไป แล้วนำไปรวมกับตัวอย่างสารที่ต้องการตรวจหาระดับฮอร์โมน และใช้เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม จากนั้นทำการแยกฮอร์โมนที่ติดฉลาก ¹²⁵I ที่อยู่ในรูปอิสระ และจับกับแอนติบอดี จากกันโดยการแยกตะกอนออกมา แล้วนำค่ากัมมันตภาพรังสีที่ได้ ไปเทียบกับค่าจากกราฟที่ได้

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง Gamma Counter ที่ใช้กับหลอดขนาด 12×75 มิลลิเมตร
2. เครื่อง Vortex mixer
3. เครื่อง Centrifuge ที่ควบคุมอุณหภูมิและความเร็วรอบ $3,000 \times g$
4. หลอด Polypropylene ขนาด 12×75 มิลลิเมตร
5. ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
6. เครื่อง Water bath ควบคุมอุณหภูมิ
7. น้ำกลั่นเพื่อใช้กับหลอด NSB
8. ปีกเกอร์ และแท่งแก้ว สำหรับการเตรียม Working solution
9. Deionized water สำหรับการเตรียม Calibrators
10. ที่วางหลอดทดลองชนิดโฟม (Foam decanting rack)
11. Volume metric pipets ขนาด 2.0 5.0 และ 7.7 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. ^{125}I Total T3
2. Total T3 Calibrators มีปริมาณ T3 เท่ากับ 0, 20, 50, 100, 200 และ 600 นาโนกรัม/เดซิลิตร
3. หลอด Polypropylene ที่เคลือบด้วยแอนติบอดี และ T3 (Total T3 Ab Coated Tubes)

วิธีการวิเคราะห์

สารเคมีทุกชนิดควรอยู่ที่อุณหภูมิห้อง (15-28 องศาเซลเซียส) ก่อนทำการวิเคราะห์

1. เขียนฉลากติดหลอด Polypropylene ขนาด 12×75 มิลลิเมตร จำนวน 2 หลอด คือ T (Total Count) และ NSB (Nonspecific binding)
2. เขียนฉลากติดหลอดที่เคลือบด้วยแอนติบอดีและ T3 ซึ่งประกอบด้วยหลอด A ถึง F และตัวอย่างที่ต้องการหาระดับฮอร์โมน

3. ใช้ไมโครปิเปต ขนาด 100 ไมโครลิตร ดูด Zero calibrators (A) เดิมลงในหลอด NSB และหลอด A เดิม Calibrators B-F และตัวอย่างลงในหลอดที่ติดฉลากไว้
4. เติม ^{125}I Total T3 1 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอด จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง Vortex (หลอด T หลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนนี้ ให้ผ่านไปยังขั้นตอนที่ 7)
5. นำทุกหลอด ยกเว้นหลอด T ไปอุ่นใน Water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
6. เทสารละลายส่วนบนออก ยกเว้นหลอด T แล้วคว่ำหลอดไว้ให้สารละลายไหลออกให้หมดเป็นเวลา 2-3 นาที
7. นำไปนับด้วยเครื่อง Gamma Counter เวลา 1 นาทีในการนับ โดยใช้ช่อง ^{125}I เพื่อหา T3

การคำนวณ

1. นำค่าที่นับได้ไปคำนวณด้วยโปรแกรม GMS Version 3.05 หรือ
2. นำค่าที่ได้ไปคำนวณโดย

$$\text{ค่าที่นับได้สุทธิ} = \text{ค่าที่นับได้} - \text{ค่าที่นับได้จากหลอด NSB}$$

$$\% \text{ Bound} = (\text{ค่าที่นับได้สุทธิ} / \text{ค่าที่นับได้สุทธิของหลอด A}) \times 100$$

นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟในกระดาษ Logit – log โดยให้แกน X เป็น % Bound และแกน Y เป็นค่าความเข้มข้นของ Calibrators A-F ถ้าให้เป็นเส้นตรงผ่านจุด ทราบค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยการนำ % Bound มาใส่ในกราฟ แล้วอ่านค่าความเข้มข้น

วิธีการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)

หลักการ

เครื่อง pH จะวัดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 คือ อิเล็กโทรดแก้ว และอิเล็กโทรดมาตรฐาน ศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรดแก้วจะเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด – ด่างของสารละลาย ซึ่งไวต่อการเปลี่ยนแปลง (H^+) แต่ไม่ไวต่อไอออนชนิดอื่น ส่วนอิเล็กโทรดมาตรฐานจะให้ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน

ความเป็นกรด – ด่างเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยละลายสารต่างๆ ซึ่งการหาค่า pH นี้เป็นการหาจำนวนของ H^+ กับ OH^- ในหน่วยกรัมสมมูลต่อลิตร (gmE/liter) น้ำบริสุทธิ์จะมีค่าคงที่ K เท่ากับ 10^{-14} ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่ความเป็นกลาง (H^+) = (OH^-) = 10^{-7} ค่าของ pH จะออกมาในรูปลอการิทึม คือ $pH = -\log (H^+)$

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
2. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. กระป๋องมีฝาปิดขนาด 10 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวง
5. แท่งแก้ว
6. เครื่องชั่งดิจิทัล
7. เครื่อง Vortex mixer
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระดาษทิชชู

สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7.0 ± 0.02 และ 4.01 ± 0.01 อุณหภูมิ 25 °C
2. น้ำกลั่น Deionized

วิธีการวิเคราะห์

1. สอบเทียบเครื่อง pH meter ก่อนทำการวัดความเป็นกรด - ด่างทุกครั้ง
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (อาหาร มูล และ Digesta) ที่ต้องการวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ใน กระจก
3. ตวงน้ำกลั่น Deionized ปริมาณ 3 เท่า เพื่อเจือจางตัวอย่าง อัตราส่วน (ตัวอย่าง : น้ำกลั่น เท่ากับ 1:3) แล้วปิดฝากระจก
4. นำมาเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer นาน 1 นาที
5. นำไปวัดค่า pH โดยเครื่อง pH meter ใช้เวลา 30 วินาที โดยวัดส่วนข้างบนที่เป็นน้ำใส ๆ
6. ก่อนวัดตัวอย่างต่อไป ต้องล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionized ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำ ออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเล็กโทรดให้แห้ง เพราะอาจทำให้เกิดไฟฟ้าสถิตย์ที่ผิวของอิเล็กโทรด

การสอบเทียบเครื่อง pH

1. สอบเทียบโดยใช้สารละลายมาตรฐาน 2 จุด คือ pH 7.0 และ 4.01
2. ล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionized ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเล็กโทรด
3. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7.0 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
4. จากนั้นล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionized ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก
5. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
6. ล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionized ระหว่างที่รอวัดค่าให้จุ่มหัวอิเล็กโทรดไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น Deionized อยู่

การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์ลำไส้

1. นำลำไส้ไก่มาล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer saline pH 7.4 จากนั้นนำเนื้อเยื่อมาคงสภาพใน 10 % buffer formalin นาน 24 ชั่วโมง เนื้อเยื่อที่ผ่านน้ำยาคงสภาพจะถูกตัดเป็นชิ้นขนาดยาว 1 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำมาล้างน้ำ แล้วนำไปผ่านกระบวนการโดยใช้เครื่อง automatic tissue processor ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

70% ethyl alcohol	ครั้งละ 5 ชั่วโมง 1 ครั้ง
70% ethyl alcohol	ครั้งละ 2 ชั่วโมง 1 ครั้ง
80% ethyl alcohol	ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
95% ethyl alcohol	ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
100% ethyl alcohol	ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
xylene	1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
Paraffin หลอมเหลว	1 ชั่วโมงครั้ง 2 ครั้ง

2. นำเนื้อเยื่อเข้าเครื่องปรับความดันสุญญากาศ ตั้งความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที

3. นำเนื้อเยื่อมาฝังในพาราฟิน (embedding) โดยใช้เครื่องหยอดพาราฟิน ทิ้งไว้ให้พาราฟินแข็งตัว

4. นำบล็อกพาราฟินที่มีชิ้นเนื้อฝังอยู่มาตัดแต่งหน้าบล็อก แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องไมโครทอม ความหนาของการตัด 3 ไมโครเมตร

5. นำ sections ที่ได้มาติดกับสไลด์กระจก โดยนำ sections ไปลอยในอ่างลอยเนื้อเยื่อ (tissue floating bath) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ภายในอ่างน้ำผสมเจลาตินในอัตราส่วนเจลาติน 0.5 กรัม ต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้ววางกระจกสไลด์พร้อม sections อยู่ให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน

6. นำกระจกสไลด์ที่มี sections อยู่ไปย้อมสี โดยสีที่ใช้ย้อมคือ Mayer's Hematoxylin และ eosin มีขั้นตอนการย้อมสีดังนี้

6.1 การขจัดพาราฟิน (deparaffinization) โดยจุ่มกระจกสไลด์ที่มี sections อยู่ลงไป ใน xylene 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที

6.2 การเอาน้ำเข้าเนื้อเยื่อ (hydration) โดยเริ่มจาก

100% ethyl alcohol 2 นาที 3 ครั้ง

95% ethyl alcohol 2 นาที 2 ครั้ง

70% ethyl alcohol 2 นาที 1 ครั้ง

แล้วล้างด้วยน้ำประปา ประมาณ 5 นาที และล้างด้วย Hypo ประมาณ 7 นาที

6.3 การย้อมสีครั้งแรก (primary stain) ย้อมด้วย Hematoxylin นานประมาณ 7-10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาประมาณ 5 นาที

6.4 การล้างสีส่วนเกิน โดยจุ่ม ammonia ประมาณ 10 วินาที และล้างด้วย 95% ethyl alcohol ประมาณ 10 วินาที

6.5 การย้อมสีซ้ำ (counterstain) ย้อมด้วย eosin นาน 2 นาที

6.6 การขจัดน้ำ (dehydration) เริ่มจาก

95% ethyl alcohol 2 นาที 3 ครั้ง

100% ethyl alcohol 2 นาที 4 ครั้ง

6.7 การขจัด alcohol และทำให้เนื้อเยื่อใส (clearing) โดยการจุ่มกระจกสไลด์ที่มี sections อยู่ลงใน xylene 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที หยด mounting media ลงบนกระจกสไลด์แล้ว ปิดกระจกปิดสไลด์

6.8 นำกระจกสไลด์ที่มี sections ที่ย้อมสีเสร็จแล้ว ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ Olympus เพื่อเปรียบเทียบสัดส่วนความยาวและความกว้างของ villi และ crypt of liberkühn ระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับต่างๆ โดยในส่วน ของ villi height นั้นจะวัดจากส่วนปลายของ villi ถึง villus-crypt โดยใช้ lamina propia เป็นฐาน การวัด villi width จะวัดความกว้างของ villus ที่จุดบริเวณเป็นครึ่งหนึ่ง (1/2) ของ ความสูง สำหรับการวัด crypt depth นั้นจะวัดความลึกของ crypt จากบริเวณ valley ของ แต่ละ villi ไปยัง basolateral membrane (Uni *et al.*, 1995)

การศึกษาารูปแบบของโปรตีนในซีรัม(serum protein pattern)และค่าอัตราส่วนอัลบูมินต่อโกลบูลิน (A:G) โดยเทคนิคเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส ตามวิธีการของ Laboratories, U.S.A.

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส และเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Helena Laboratories, U.S.A.)
2. แผ่นเซลลูโลสอะซิเตท (TITAN III-H) ขนาด 76 x 60 มิลลิเมตร
3. จานแก้ว
4. ตู้อบ
5. เครื่องวิเคราะห์แผ่นเจล EDC (Electrophoresis data center; Helena Laboratories)
6. กระดาษกรอง
7. แผ่นสไลด์
8. Micropipette

สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-บาร์บิทัล-โซเดียม (tris-barbital-sodium buffer) พีเอช 8.8 สำหรับซีรัมในพลาสติก
2. สีย้อมฟองโซเอส (destining reagent) ประกอบด้วยฟองโซเอส 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดซัลโฟลิก (sulfosalicylic acid) 3.5 เปอร์เซ็นต์ และกรดไตรโคลโรอะซิติก (trichloroacetic acid)
3. สารละลายล้างสีย้อม (destaining reagent) ประกอบด้วยกรดอะซิติก 5 เปอร์เซ็นต์
4. สารละลาย clearing ประกอบด้วย
กรดอะซิติก 30 ส่วน
เมทานอล 70 ส่วน
Clear aid (Helena Laboratories, U.S.A.)
5. สารละลายมาตรฐานซีรัม (serum control; Helena Laboratories, U.S.A.)

วิธีการ

1. เตรียมสารละลาย Tris-barbital-sodium buffer pH 8.8 โดยละลาย Tris-barbital-sodium buffer จำนวน 18 กรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 750 มิลลิลิตร นำแผ่นเซลลูโลสอะซิเตทมาแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์เป็นเวลา 20 นาที

2. เทสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในอ่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 ข้างของเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส ใส่กระดาษกรอง (wick) ที่ชุ่มด้วยบัฟเฟอร์ลงในอ่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 ข้าง เพื่อเป็นสะพานเชื่อมกระแสไฟฟ้า
3. บรรจุซีรัม ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ลงในช่องใส่สาร นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทที่แช่ในบัฟเฟอร์มาซับด้วยกระดาษกรอง แล้วนำ applicator มากดในช่องที่ใส่ซีรัม 3-4 ครั้ง จากนั้นนำ applicator มากดลงแผ่นเซลล์โลส นาน 5 วินาที
4. นำแผ่นเซลล์โลสที่ใส่สารเรียบร้อยแล้วมาวางบนอ่างอิเล็กโทรด เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ 180 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที
5. ย้อมสีโดยแช่แผ่นเซลล์โลสอะซิเตทในสารละลายสีย้อมพองโซ เอส เป็นเวลา 5 นาที ล้างสีย้อมในกรดอะซิติก 2 ครั้งๆ ละ 2-3 นาที
6. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาแช่ลงในเมธานอล 2 ครั้งๆ ละ 2-3 นาที
7. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาแช่ในสารละลาย clearing เป็นเวลา 10 นาที
8. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาให้ความร้อน โดยอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้แผ่นเซลล์โลสอะซิเตทเปลี่ยนจากแผ่นทึบแสงมาเป็นแผ่นโปร่งใสและแห้งสนิททั่วทั้งแผ่น

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิลัส Man Rogsa Sharpe Agar (MRS agar)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกสรร (selective medium) ใช้ในการทดสอบ Lactic acid bacteria ปัจจุบันสามารถเตรียมได้จาก MRS agar ผง ซึ่งน้ำหนักผงวุ้นสำเร็จรูป 66.8 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายผงอาหารวุ้นในน้ำ ต้มจนเดือด แล้วบรรจุขวดและปิดฝาในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่อนำไปใช้ให้ความร้อนอาหารวุ้นจนอยู่ในสภาพของเหลว จากนั้นนำไปแช่ใน waterbath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

MRS agar ประกอบด้วยสัดส่วนดังนี้

Peptone from casein	10.00 g.
Meat extract	8.00 g.
Yeast extract	4.00 g.
D (+) glucose	20.00 g.
Di-potassium hydrogen phosphate	2.00 g.
Tween R-80	1.00 g.
Di-ammonium hydrogen citrate	2.00 g.
Sodium acetate	5.00 g.
Magnesium sulfate	0.20 g.
Manganese sulfate	0.04 g.
Agar	14.00 g.
Distilled water	1.00 g.

ปรับ pH 5.7 ± 0.2 (25 องศาเซลเซียส)

การ Pour Plate Technique

เป็นวิธีการตรวจนับจุลินทรีย์เฉพาะที่มีชีวิตอยู่จริง และสามารถเพิ่มจำนวนเป็นจุดโคโลนี (colony) ได้ในอาหารวุ้น โดยถือหลักที่ว่าเซลล์จุลินทรีย์ 1 เซลล์ เจริญเติบโตเป็นหนึ่งโคโลนี การนับจำนวนจะให้ผลที่แม่นยำเมื่อจำนวนเชื้ออยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี วิธีการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour plate ทุกขั้นตอนต้องดำเนินการภายใต้สภาพปลอดเชื้อสามารถทำได้ดังนี้

1. เตรียม peptone water blank เพื่อใช้เป็น stock solution สำหรับเจือจางตัวอย่าง ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปนิ่งมาเชื้อ
2. นำตัวอย่าง ๆ ละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน peptone water blank ได้ระดับความเจือจางที่ $1:10^2$ เขย่าให้เข้ากัน
3. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ผสมดีแล้วจากข้อ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงใน peptone water blank อีกขวดเขย่าให้เข้ากัน ได้ระดับความเจือจาง $1:10^3$
4. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ผสมดีแล้วจากข้อ 3 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงใน peptone water blank อีกขวดเขย่าให้เข้ากัน ได้ระดับความเจือจาง $1:10^4$
5. ทำเช่นเดียวกับข้อ 4 จะได้เชื้อที่มีความเจือจางระดับต่าง ๆ
6. ใส่ตัวอย่างเชื้อที่เจือจางระดับต่าง ๆ ลงในจานเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร
7. เทอาหารวุ้นที่หลอมเหลวแล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 10-15 มิลลิลิตร วางไว้จนอาหารเย็นและวุ้นแข็งตัว
8. นำไปบ่มโดยการกลับด้านล่างของจานเพาะเชื้อไว้ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส Lactic acid bacteria บ่มไว้ในสภาพไร้ออกซิเจน และใส่ anaerobic jar จะเห็นโคโลนีสีขาวขุ่น กลมมนูน

การนับโคโลนีจะเลือกนับจานเลี้ยงเชื้อเจือจาง 2 ระดับ ที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาจำนวนโคโลนีของเชื้อต่อตัวอย่าง 1 กรัม (colony forming units/g; cfu/g) จากสมการ

$$N = \frac{\sum C}{V [N_1 + 0.1N_2]d}$$

C = number of colony

V = volumer of sample

N_1 = number of plate (1 dilution step)

N_2 = number of plate (2 dilution step)

D = lowest count dilution

การหาปริมาณกรดไขมันสายสั้นในไส้ติ่ง

นำของเหลวในไส้ติ่ง 5 กรัม เจือจางกับน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปั่นด้วยความเร็ว 9,000 rpm นาน 10 นาที นำส่วนของเหลวใส (supernatant) 0.7 มิลลิลิตร ไปผสมกับ Internal standard 0.4 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่อง Gas Chromatography (GC 2010) ของบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีขั้นตอนเตรียม Stock Standard และ Internal Standard ดังนี้ (Erwin *et al.*, 1961)

การเตรียม Stock Standard

ประกอบด้วย 70 mM acetic acid, 30 mM propionic acid, 10 mM butyric acid และ 2 mM valeric acid

การเตรียม Internal Standard

ประกอบด้วย 25% metaphosphoric acid , 1.6% isocaproic acid และ formic acid ในอัตราส่วน 5:5:15 ตามลำดับ

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล

นางสาวโสมรพีช ภูมิภักดีพรรณ

วัน เดือน ปี ที่เกิด

วันที่ 7 มกราคม 2526

สถานที่เกิด

นครสวรรค์

ประวัติการศึกษา

วท.บ.สัตวศาสตร์ (การผลิตสุกร) มหาวิทยาลัยแม่โจ้
เชียงใหม่