ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัตวบาล	สัตวบาล
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล

Effects of Liquid DL-Methionine Hydroxy Analog Free Acid on Production Performance, Intestinal Ecology and Intestinal Morphology of Nursery Pigs

นามผู้วิจัย นายชาญวิทย์ แก้วตาปี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์เปรมใจ ตรีสรานุวัฒนา, M.Stat.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... **เดือน**..... **พ.ศ.**.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล

Effects of Liquid DL-Methionine Hydroxy Analog Free Acid on Production Performance, Intestinal Ecology and Intestinal Morphology of Nursery Pigs

โดย

นายชาญวิทย์ แก้วตาปี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2551

ชาญวิทย์ แก้วตาปี 2551: ผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 114 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ในสุกรระยะอนุบาล วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลการเสริม LMA ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง (Short Chain Fatty Acids; SCFAs) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ โดยใช้สุกรลูกผสม (ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) เพศผู้ตอน น้ำหนักเฉลี่ย 12.48 กิโลกรัม จำนวน 180 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 6 ตัว ระยะเวลาทดลอง 6 สัปดาห์ เสริม LMA ในอาหาร 3 ระดับ คือ 0.00 (กลุ่มควบคุม) 0.15 และ 0.24% พบว่า การเสริม LMA ไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (P=0.56) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (P=0.22) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P=0.22) แต่กลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.15% มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (P=0.03) อย่างไรก็ตามการเสริม LMA มีผลเพิ่มปริมาณ LMA และเมทไธโอนีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากอาหาร (P<0.01) และลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหาร (P<0.01) มีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหาร (P=0.02) และลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ (P<0.01) การเสริม LMA ในอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดอะซิติก (P=0.04) และการเสริมระดับ 0.15% ทำให้ปริมาณกรดวาเลอริก (P=0.02) และความสูงวิลลัสที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้น (P<0.01) นอกจากนี้การเสริมระดับ 0.24% ทำให้คริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนท้ายมีความลึกลดลง (P<0.01) มีผลลดสัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนท้าย (P<0.01) ในการทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มและทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของ SCFAs ในไส้ติ่งและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก โดยใช้สุกรลูกผสม (ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) เพศเมีย น้ำหนักเฉลี่ย 18.92 กิโลกรัม จำนวน 24 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 2 ตัว ระยะเวลาทดลอง 6 สัปดาห์ เสริม LMA ในน้ำดื่ม 3 ระดับ คือ ไม่เสริม (กลุ่มควบคุม) เสริมระดับ 0.05 หรือ 0.10% ผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.10% มีผลเพิ่มปริมาณการกินอาหาร (P<0.01) และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (P=0.02) แต่ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P=0.20) การเสริม LMA เพิ่มปริมาณการกินน้ำเฉลี่ยต่อวัน (P<0.01) และลดค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่ม (P<0.01) ทำให้ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (P=0.04) และเชื้อ *E. coli* (P<0.01) ในน้ำดื่ม นอกจากนี้การเสริม LMA ระดับ 0.10% มีผลเพิ่มความสูงวิลลัสที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.02) ส่วนกลาง (P=0.04) ส่วนปลาย (P=0.01) และเพิ่มสัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ที่ลำไส้เล็กส่วนกลาง (P=0.04). ขณะที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกในไส้ติ่งมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.01) ดังนั้นการเสริม LMA ในอาหารและน้ำดื่มมีผลให้สุกรระยะอนุบาลมีสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้น เนื่องจาก LMA เป็นแหล่งของเมทไธโอนีนและยังทำให้น้ำดื่มมีคุณภาพดีขึ้น อีกทั้งช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร จากการปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กให้ดีขึ้น

_____ / ____ / ____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Chanwit Kaewtapee 2008: Effects of Liquid DL-Methionine Hydroxy Analog Free Acid on Production Performance, Intestinal Ecology and Intestinal Morphology of Nursery Pigs. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 114 pages.

Two experiments were designed to study effects of liquid DL-methionine hydroxy analog free acid (LMA) on production performance, intestinal ecology and intestinal morphology of nursery pigs. A completely randomized design was used. The first experiment was conducted to evaluate effect of LMA in diets on production performance, microbial in gastrointestinal tract, concentration of short chain fatty acids (SCFAs) in caecum and small intestinal morphology. One hundred and eighty crossbred (Large White x Landrace, BW ~ 12.48 kg) barrow were divided into three groups with ten replications of six piglets each for 6 weeks. Piglets received LMA in diet at 0.00 (control), 0.15 or 0.24%. The results indicated that supplementation of LMA was not affected of average daily feed intake (ADFI; P=0.56), average daily gain (ADG; P=0.22) and feed conversion ratio (FCR; P=0.22). Nevertheless, adding 0.15% LMA significantly improved weight gain (P=0.03). Supplementation of LMA significantly increased average LMA and methionine daily intake (P<0.01), and significantly reduced pH of diet (P<0.01) and *E. coli* in diet (P=0.02) and pH of caecum and colon (P<0.01). Consequently, acetic acid was significantly increased when LMA was added (P=0.04) and adding 0.15% LMA significantly increased valeric acid (P=0.02) and increased villous height of jejunum (P<0.01). Adding 0.24% LMA decreased crypt depth of ileum (P<0.01) resulting increased villous height to crypt depth ratio of ileum (P<0.01). Second experiment was investigated to evaluate the effect of LMA in drinking water on production performance, microbial in drinking water and gastrointestinal tract, concentration of SCFAs in caecum and small intestinal morphology. Twenty-four crossbred pigs (Large White x Landrace, BW ~ 18.92 kg) were divided into three groups with four replications of two piglets each for 6 weeks. The piglets received drinking water of 0.00 (control), with 0.05 or 0.10% LMA. The results indicated that adding LMA at 0.10% to drinking water significantly increased ADFI (P<0.01) and ADG (P=0.02), although FCR was not significantly affected (P=0.20). Adding LMA to drinking water significantly increased their water intake and significantly reduced the pH of drinking water (P<0.01), consequently total plate count (P=0.04) and *E. coli* in drinking water was reduced (P<0.01). Furthermore, adding LMA at 0.10% significantly increased villous height in the duodenum (P=0.02), jejunum (P=0.04) and ileum (P=0.01), and the villous height to crypt depth ratio in the jejunum (P=0.04), whereas acetic acid concentration in the caecum was significantly lower than in the control group (P<0.01). It could be concluded that supplementation of LMA increased production performance of nursery pigs due to increment of source of methionine and water quality along with high nutrient utilization caused by an improvement of small intestinal morphology.

_____ _____ ____ / ____ / ____

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตรจารย์ ดร. ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ และรองศาสตรจารย์เปรมใจ ตรีสรานุวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำในการทำงานวิจัยและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ประสานพานิช ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่และพนักงานทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ระหว่างที่ทำการทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน นอกจากนี้ขอขอบคุณบริษัท Sumitomo Chemical Co., Ltd. (ประเทศญี่ปุ่น) ที่ให้ความอนุเคราะห์ ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) และเงินทุนสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณยายพันธ์ ดวงมณี คุณแม่ประเนียน จุลวรรณโณ น้องๆ และเพื่อนสนิทของข้าพเจ้า ที่ให้การสนับสนุนและคอยให้กำลังใจในการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ ตลอดจนคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอน รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ชาญวิทย์ แก้วตาปี

ตุลาคม 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (1)

สารบัญตาราง (2)

สารบัญภาพ (4)

คำนำ 1

วัตถุประสงค์ 3

การตรวจเอกสาร 4

อุปกรณ์และวิธีการ 26

- อุปกรณ์ 26
- วิธีการทดลอง 27

ผลและวิจารณ์การทดลอง 41

สรุปและข้อเสนอแนะ 73

- สรุป 73
- ข้อเสนอแนะ 74

เอกสารและสิ่งอ้างอิง 75

ภาคผนวก 98

ประวัติการศึกษา และการทำงาน 114

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดและคุณสมบัติของกรดอินทรีย์	13
2	ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย	15
3	ความต้องการสารอาหารต่อวันของสุกรน้ำหนัก 10 – 20 กิโลกรัม	16
4	แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นมาตรฐานสำหรับสุกรเพื่อใช้ในการบริโภค	24
5	ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 1	29
6	องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1 จากการคำนวณและการวิเคราะห์	30
7	ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานในการทดลองที่ 2	35
8	องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 2 จากการคำนวณและการวิเคราะห์	36
9	ค่าเฉลี่ยแบบลีสสแควร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน	44
10	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารและระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน	47
11	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อ *E. coli* ในอาหารและเชื้อ *Lactobacillus* spp., *E. coli* ในไส้ติ่งและไส้ตรงของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)	50
12	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ SCFAs ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน	54
13	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน	55
14	ค่าเฉลี่ยแบบลีสสแควร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน	59
15	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่ากรด-ด่าง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่ากรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน	66
17	ค่าเฉลี่ยและสวนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)	67
18	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ SCFAs ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน	69
19	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะสัณฐานวิทยาในลำไส้เล็กของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน	72

ตารางผนวกที่

1	อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 1	99
2	อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 2	101
3	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ำยาเคมีและระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Tissue processing)	105
4	ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining	108

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน	4
2	ผลของกรดอะมิโนไม่สมดุลต่อร่างกายสัตว์	6
3	เมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ	8
4	โครงสร้างของ LMA และ DLM	9
5	การดูดซึม LMA และ DLM เข้าสู่เซลล์	10
6	กลไกการเปลี่ยน LMA และ D-Met ไปเป็น L-Met	11
7	ประสิทธิภาพการใช้ LMA เปรียบเทียบกับ DLM	12
8	การแตกตัว (Ionization) ให้ไฮโดรเจนไอออนของ LMA	13
9	กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ในการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของแบคทีเรีย	15
10	ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวต่อปริมาณความต้องการกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบเทียบสัดส่วนกับไลซีนของสุกรที่เลี้ยงในประเทศกลุ่มยุโรป	17
11	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็ก	18

ภาพผนวกที่

1	แสดงความสูงวิลลัส (Villous height; A) และความลึกคริปท์ (Crypt depth; B) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กสุกรระยะอนุบาล	113

ผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล

Effects of Liquid DL-Methionine Hydroxy Analog Free Acid on Production Performance, Intestinal Ecology and Intestinal Morphology of Nursery Pigs

คำนำ

ปัจจุบันการประกอบสูตรอาหารในสุกรมีการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ เพื่อให้เกิดความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารและนำไปสู่การสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต การขาดกรดอะมิโนจำเป็นเพียงหนึ่งตัวก็จะทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนตัวที่เหลือลดลง ในสุกรสัดส่วนของกรดอะมิโนที่สมดุลในอาหารมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการย่อยและดูดซึม ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต เมื่อพิจารณาตามระดับความต้องการและข้อจำกัดของกรดอะมิโนในสูตรอาหารพบว่า ไลซีน (Lysine; Lys) จัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็นอันดับหนึ่งในสุกร (D'Mello, 2003) อย่างไรก็ตามสัดส่วนความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารถือว่ามีความสำคัญมากกว่าการเสริมกรดอะมิโนตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว เนื่องจากจะนำไปสู่การสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงควรมีการพิจารณากรดอะมิโนที่เป็นข้อจำกัดตัวอื่นๆ ร่วมด้วยในการประกอบสูตรอาหาร

เมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็นอันดับสองในสุกร (Peak, 2005) และมีสัดส่วนความต้องการในสุกรระยะอนุบาลสูงกว่าสุกรระยะรุ่นและขุน (NRC, 1998) การเสริมเมทไธโอนีนจะพิจารณาในรูปของปริมาณกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Met + Cys) เทียบสัดส่วนกับไลซีน โดยการเสริมในระดับที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกาย มีผลให้เกิดขบวนการสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในสุกรระยะอนุบาลเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การสะสมโปรตีนในเนื้อเยื่อต่างๆ จึงมีปริมาณสูง เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนตัวแรกของสายโพลีเปปไทด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนและเป็นสารสำคัญในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิด ขณะที่เมทไธโอนีนมีปริมาณจำกัดในธัญพืชและถั่วชนิดต่างๆ (Parathasarathy *et al.,* 1964) ดังนั้น การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารจึงมีผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาลดีขึ้น (Chung and Baker, 1992b; Knight *et al.,* 1998; Gaines *et al.*, 2005)

ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) เป็นสารตั้งต้นที่สามารถเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีนได้หลังจากถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Reifsnyder *et al.,* 1983; Dibner, 2003; Boebel and Baker, 1982; Chung and Baker, 1992a; Knight *et al.,* 1998; Gaines *et al.,* 2005) การเสริม LMA มีผลเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและพลังงานในร่างกาย อีกทั้งช่วยลดปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกสู่สิ่งแวดล้อม นอกจากนี้เนื่องจากการมีหมู่ไฮดรอกซีในโครงสร้างของ LMA จึงทำให้มีคุณสมบัติในการเป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถแตกตัวให้หมู่ไฮโดรเจนไอออน (H^+) ได้บางส่วน มีผลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogenic bacteria) ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารซึ่งเจริญได้ดีในสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง ดังนั้น การเสริม LMA ในอาหารนอกจากจะเป็นแหล่งของเมทไธโอนีนในร่างกายแล้ว ยังเป็นการเสริมกรดอินทรีย์ ซึ่งจะช่วยเพิ่มสมรรถภาพการผลิต (Knight *et al.*, 1998; Romer and Abel, 1999) ของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้นได้อีกด้วย

การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคโดยการเสริมในอาหารและน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสุกรต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่งและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรระยะอนุบาล

2. ศึกษาผลการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่งและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรระยะอนุบาล

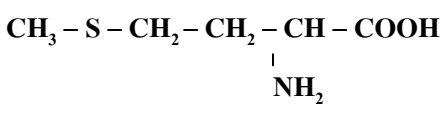
การตรวจเอกสาร

เมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็นอันดับสองในสุกร ระดับของเมทไธโอนีนในอาหารจึงมีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในสุกรระยะอนุบาลที่มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เนื่องจากเมทไธโอนีนมีปริมาณจำกัดในวัตถุดิบอาหารสัตว์ทำให้มีปริมาณไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ดังนั้นจึงต้องมีการเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ลงในอาหาร เนื่องจากเมทไธโอนีนมีบทบาทในการเป็นกรดอะมิโนเริ่มต้นของสายโพลีเปปไทด์ในขบวนสังเคราะห์โปรตีนและเป็นสารสำคัญในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิด

เมทไธโอนีน (Methionine)

เมทไธโอนีนจัดอยู่ในกลุ่มกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Sulfur amino acids) ซึ่งมีซีสเตอีน (Cysteine) และซีสตีน (Cystine) รวมอยู่ด้วย (บุญล้อม, 2546) และจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acid, EAA) ที่ร่างกายสัตว์สร้างไม่ได้หรือสร้างได้แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร

เมทไธโอนีนมีชื่อทางเคมีว่า (S)-2-amino-4-(methylsulfanyl) butyric acid ($C_5H_{11}NO_2S$) มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 149 จุดหลอมเหลว 281 องศาเซลเซียส มีค่า pI เท่ากับ 5.74 ค่า pK_1 (α-COOH) เท่ากับ 2.13 และค่า pK_2 (α-NH_3^+) เท่ากับ 9.28 (อาภัสสรา, 2543) โครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group, -COOH) หมู่อะมิโน (Amino group, -NH_2) อะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom, -H) และมีหมู่ R (Side chain) ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ โดยหมู่อะมิโนเกาะติดกับคาร์บอนที่ตำแหน่งแอลฟ่า เมทไธโอนีนจัดเป็น non polar methyl thioester group ที่ทำให้กรดอะมิโนมีคุณสมบัติเป็น hydrophobic amino acid (Dibner and Buttin, 2002; Brosnan and Brosnan, 2006) ดังภาพที่ 1



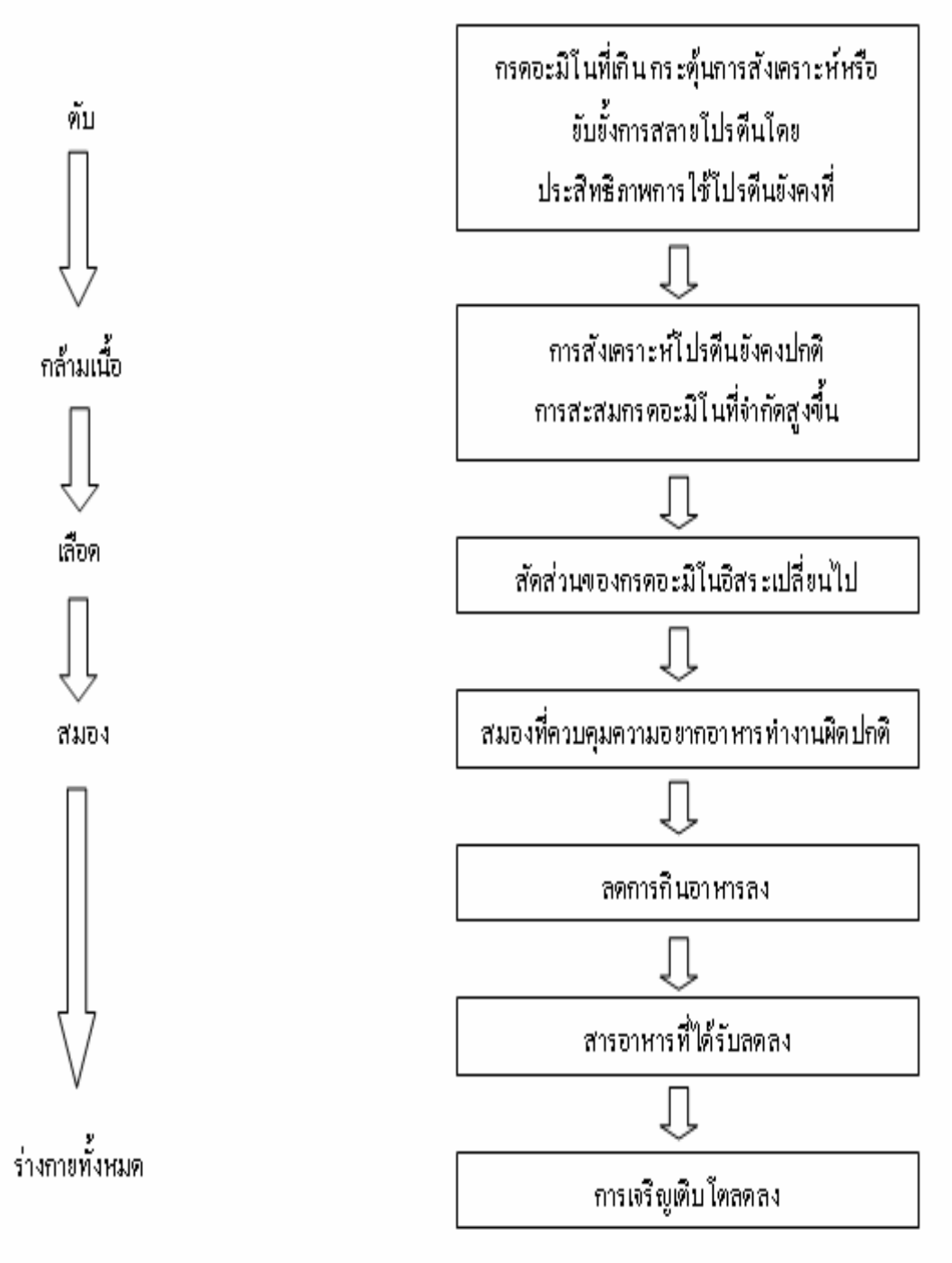
Methionine

ภาพที่ 1 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน
ที่มา: Brosnan and Brosnan (2006)

สัตว์ได้รับเมทไธโอนีนจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มาจากพืชซึ่งส่วนใหญ่เป็นพืชสกัดน้ำมัน เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากเมล็ดทานตะวัน เป็นต้น แต่ระดับของเมทไธโอนีนมีสัดส่วนค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบกับกรดอะมิโนจำเป็นชนิดอื่นๆ สำหรับกลุ่มที่ 2 มาจากสัตว์ เช่น ปลาป่น ผลิตภัณฑ์จากนม ผลพลอยได้จากโรงงานฆ่าสัตว์ เป็นต้น วัตถุดิบเหล่านี้ล้วนอุดมไปด้วยโปรตีน และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์ (นวลจันทร์และสินชัย, 2544) นอกจากนี้ยังได้รับโดยตรงจากเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่มีใช้อยู่ 2 ชนิดด้วยกัน คือ ชนิดผงหรือดีแอล-เมทไธโอนีน (DLM) และดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ซึ่งเป็นของเหลว โดยต่างกันที่ LMA มีหมู่ไฮดรอกซี (-OH) แทนหมู่อะมิโน ($-NH_2$) จึงทำให้ LMA มีความเป็นกรดสูง ($pH \leq 1.0$) ในสุกรสามารถเปลี่ยน LMA ไปเป็นเมทไธโอนีนได้หลังจากดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Boebel and Baker, 1982; Reifsnyder *et al.,* 1983; Chung and Baker, 1992a; Knight *et al.,* 1998; Dibner, 2003; Gaines *et al.,* 2005) เพื่อใช้ในขบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ต่อไป

บทบาทและความสำคัญของเมทไธโอนีนในสุกรระยะอนุบาล

เมทไธโอนีนมีความสำคัญต่อขบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายหลายอย่าง เช่น มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ระบบสืบพันธุ์ของสัตว์และมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต (Finkelstein, 1990) โดยเฉพาะในกระบวนการเริ่มต้นสังเคราะห์โปรตีน (Protein synthesis) เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนตัวแรกที่จับอยู่บน tRNA มีชื่อเรียกว่า N-formylmethionine (f-met) ซึ่งมีแอนติโคดอน (Anticodon) ที่เข้าคู่กับโคดอน (Codon) เริ่มต้น AUG บนสาย mRNA (Nelson and Michael, 2005) นอกจากนี้เมทไธโอนีนในรูป S-Adenosylmethionine (SAM) จะเป็นตัวให้หมู่เมทธิล ($-CH_3$) ในกระบวนการ transmethylation ต่างๆ และเป็นสารสำคัญในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น โฮโมซีสเตอีน (Homocysteine) ซีสเตอีน (Cysteine) ซีสตีน (Cystine) คาร์นิทีน (Carnitine) ทอรีน (Taurine) ครีเอติน (Creatine) โคลีน (Choline) เลซิติน (Lechitine) ฟอสฟาติดิลโคลีน (Phosphatidylcholine) และฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ชนิดอื่นๆ ดังนั้นหากเมทไธโอนีนในอาหารมีสัดส่วนไม่สมดุลกับความต้องการของร่างกาย ส่งผลให้สมองที่ควบคุมความอยากอาหารทำงานผิดปกติ ลดการกินอาหารลง สัตว์จึงได้รับสารอาหารลดลง มีผลกระทบต่อการลดการเจริญเติบโตของลูกสุกร ดังแสดงในภาพที่ 2 นอกจากนี้ยังพบอีกว่ากลุ่มกรด อะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบจะมีบทบาทสำคัญในการฆ่าเชื้อโรคในเลือด ป้องกันแบคทีเรีย กระตุ้นการหลั่งน้ำดีจากตับและต่อต้านการสร้างสารพิษต่างๆ ในร่างกาย (Baker and Czarnecki, 1985)



ภาพที่ 2 ผลของกรดอะมิโนไม่สมดุลต่อร่างกายสัตว์

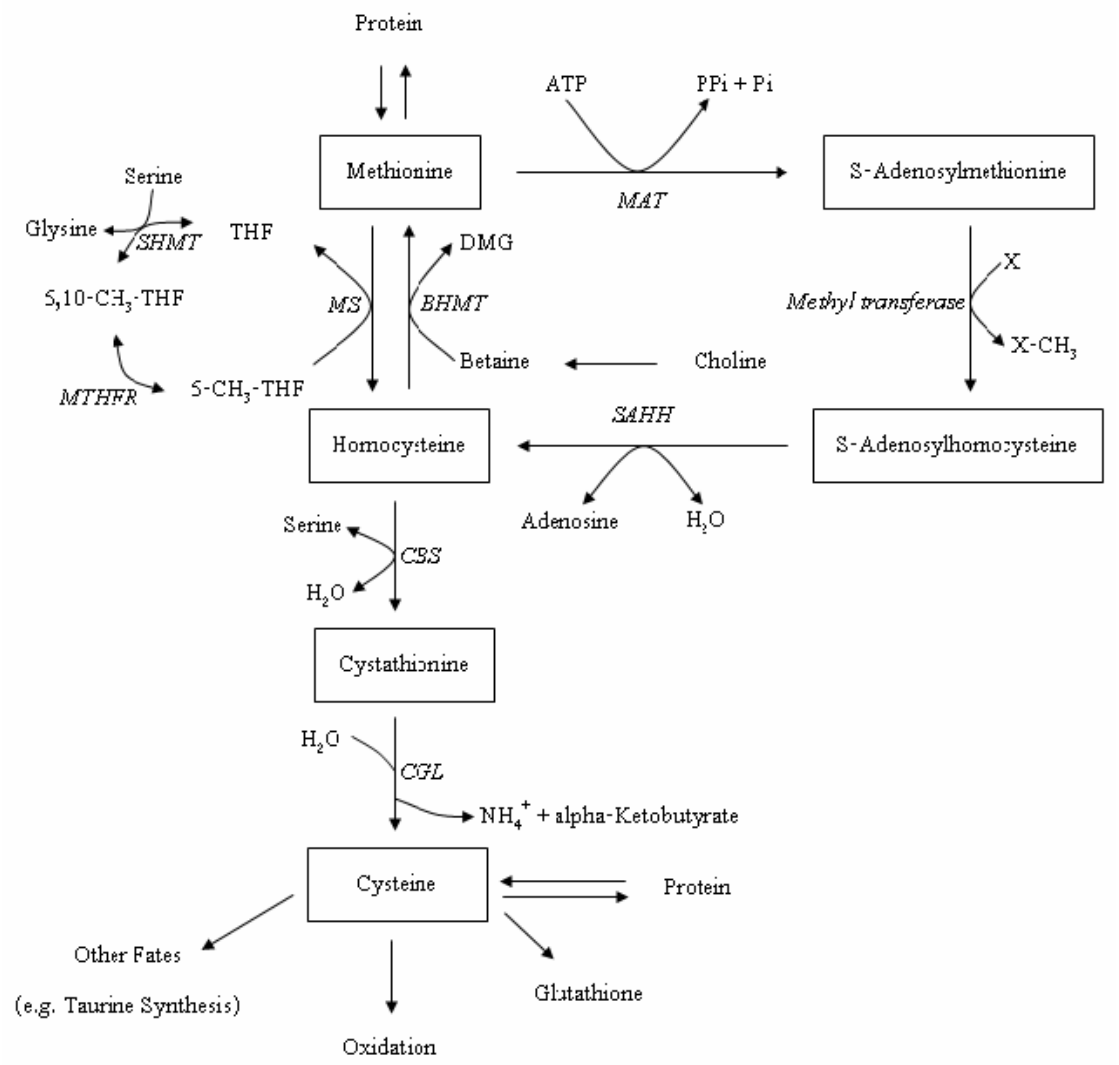
ที่มา: ชัยภูมิ (2548) ดัดแปลงจาก Harper and Rogers (1965)

ขบวนการเมแทบอลิซึมของเมทไธโอนีน

เมแทบอลิซึมของเมทไธโอนีนแบ่งออกเป็น 3 ขบวนการ คือ transmethylation remethylation และ transulfuration (Finkelstein, 2006) ดังแสดงในภาพที่ 3 โดย transmethylation เป็นขบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานในการกระตุ้นการเปลี่ยนเมทไธโอนีนไปเป็น S-Adenosylmethionine (SAM) โดยใช้เอนไซม์ methionine adenosyltransferase (MAT) จากนั้นหมู่เมทธิลที่อยู่บน SAM จะถูกขนส่งไปให้ตัวรับตัวอื่นโดยเอนไซม์ methyl transferase ขบวนการ transmethylation จะสิ้นสุดเมื่อ SAM ถูกเปลี่ยนไปเป็น adenosine และ homocysteine (John and Margaret, 2006)

remethylation เป็นขบวนการเปลี่ยน homocysteine กลับไปเป็นเมทไธโอนีน สามารถเกิดขึ้นได้ 2 แบบ ดังนี้ 1) เกิดจากเอนไซม์ methionine synthase (MS) โดยทำหน้าที่เคลื่อนย้ายหมู่เมทธิลจาก 5-methyltetrahydrofolate (5-CH_3-THF) มาให้กับ homocysteine 2) เกิดจากการเคลื่อนย้ายหมู่เมทธิลจากบีเทน (Betaine) โดยเอนไซม์ Betaine homocysteine methyltransferase (BHMT) ซึ่งบีเทนจัดเป็นสารที่ให้หมู่เมทธิลกับสารอื่น ปริมาณของบีเทนจะเพิ่มขึ้นหรือลดลงจะขึ้นอยู่กับการได้รับจากอาหารและขบวนการคาทาบอลิซึมของโคลีน (Mudd *et al.*, 2007)

สำหรับขบวนการ transsulfuration จะเกิดขึ้นเมื่อร่างกายต้องการ cysteine เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยามี 2 ชนิด คือ 1) เอนไซม์ cystathionine β-synthase (CBS) จะทำปฏิกิริยาร่วมกับ serine ในการเปลี่ยน homocysteine ไปเป็น cystathionine 2) เอนไซม์ cystathionine γ-lyase (CGL) ทำปฏิกิริยาร่วมกับน้ำในการเปลี่ยน cystathionine ไปเป็นซีสเตอีนขบวนการเปลี่ยนจาก homocysteine ไปเป็นซีสเตอีนเป็นปฏิกิริยาที่ย้อนกลับไม่ได้ ดังนั้นเมทไธโอนีนจึงเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ซีสเตอีนในร่างกาย (John *et al.*, 2007)



ภาพที่ 3 เมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ
ที่มา: John and Margaret (2006)

ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (Liquid DL-methionine hydroxy analog free acid; LMA)

LMA มีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid ($C_5H_{12}O_3S$) มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 149 ค่า pH น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ความหนาแน่นเท่ากับ 1.23 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับ DLM แต่ต่างกันที่มีหมู่ไฮดรอกซี (-OH) แทนที่หมู่อะมิโนของ DLM (Patrick and Schaible, 1980; ภาพที่ 4)

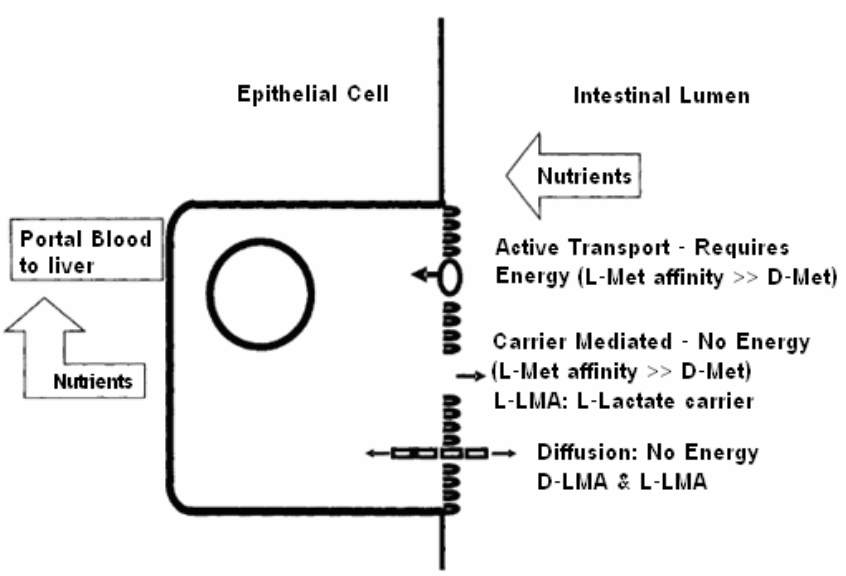
LMA **DLM**

ภาพที่ 4 โครงสร้างของ LMA และ DLM
ที่มา: ดัดแปลงจาก Patrick and Schaible (1980)

LMA เป็นสารสังเคราะห์ด้วยขบวนการทางเคมีจากผลิตภัณฑ์ของปิโตรเลียม มีกลิ่นเฉพาะตัว (Sumitomo Chemical Co., Ltd., 2007) โดยมี D- และ L-form ในอัตราส่วน 1 : 1 (Baker and Boebel, 1984) เป็นผลิตภัณฑ์หลักชนิดหนึ่งที่มีราคาถูกกว่าและใช้ทดแทน DLM ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ได้ โดยเสริมในระดับเมื่อคิดเป็นจำนวนโมลที่เท่ากันของ LMA และ DLM (Dibner and Knight, 1984) ซึ่งตัวที่สามารถใช้ได้อาจอยู่ในรูปของเกลือ calcium (มีค่า bioefficacy เท่ากับ 86% ของ DLM) หรืออยู่ในรูปกรดอิสระ (มีค่า bioefficacy เท่ากับ 88% ของ DLM) เมื่อนำมาเสริมในอาหาร ร่างกายจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นแอล-เมทไธโอนีน (L-Met) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (Dibner,2003)

ขบวนการดูดซึม LMA

LMA ส่วนใหญ่ถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ในขณะที่ L-Met ถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) (Dibner, 2003) โดยที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นซึ่งมีความเป็นกรด-ด่างต่ำ ทำให้ LMA มีแนวโน้มที่จะไม่เกิดการแตกตัวและแพร่ผ่าน (Diffusion) เยื่อหุ้มเซลล์ (Knight and Dibner, 1984; Mccollum *et al.,* 2000) LMA จะถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์ไปพร้อมกับโปรตอนซึ่งเป็นขบวนการไม่ใช้พลังงาน (Brachet and Puigserver, 1987) ดังแสดงในภาพที่ 5 การดูดซึม LMA อาจเหมือนกับกรดอินทรีย์สายสั้นทั่วไป โดยเฉพาะกรดแลกติก (Dibner, 2003)

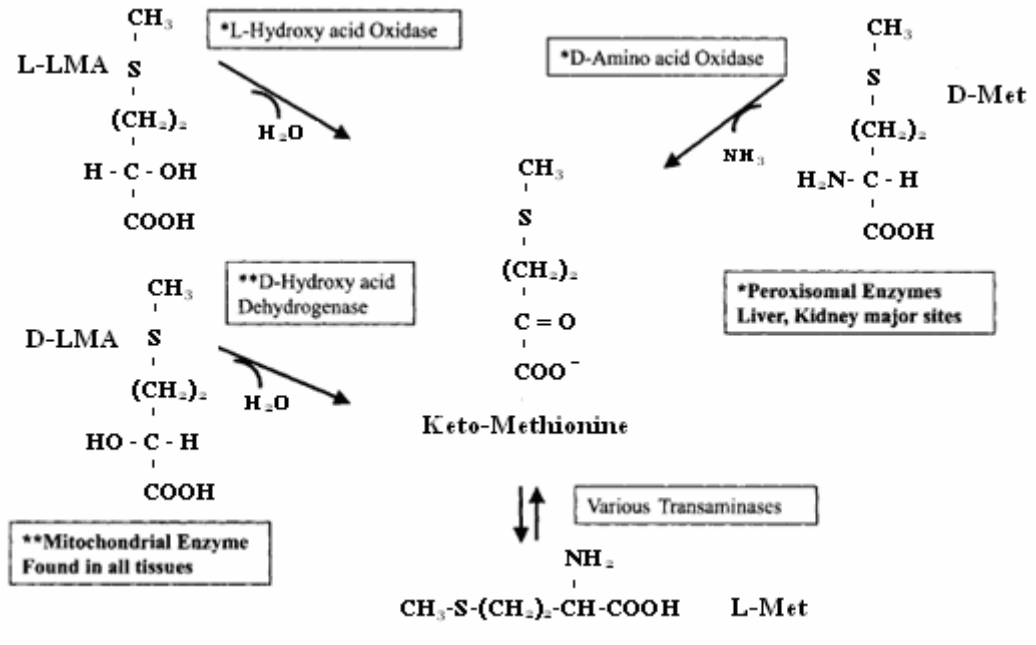


ภาพที่ 5 การดูดซึม LMA และ DLM เข้าสู่เซลล์
ที่มา: ดัดแปลงจาก Dibner (2003)

ขบวนการเมแทบอลิซึมของ LMA เปลี่ยนเป็นแอล-เมทไธโอนีน (L-Met)

ภายหลังจาก LMA ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายแล้ว เมแทบอลิซึมส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตับ การเปลี่ยนจาก LMA ไปเป็น L-Met มี 2 ขบวนการ ดังนี้

1. ขบวนการออกซิเดชั่น (Oxidation) คือ ขบวนการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซีของ D และ L ของ LMA ให้เป็น Keto-Methionine โดยมีเอนไซม์สองชนิดที่จำเป็นสำหรับปฏิกิริยา คือ D-Hydroxy acid Dehydrogenase สำหรับเปลี่ยน D-LMA ในไมโตคอนเดรีย พบปริมาณมากในตับ และ L-Hydroxy acid Oxidase สำหรับเปลี่ยนเป็น L-LMA ในเพอร์ออกซิโซม ซึ่งพบมากในตับ ไตและเนื้อเยื่ออื่นๆ (Dibner and Knight, 1984) นอกจากนี้ ดี-เมทไธโอนีน (D-Met) ต้องเปลี่ยนไปเป็น Keto-Methionine เช่นเดียวกัน โดยทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ D-Amino acid Oxidase ที่พบในเพอร์ออกซิโซมของตับและไต ดังนั้น การเปลี่ยน D-Met และ LMA ไปเป็น L-Met จะผ่านสารตัวกลางตัวเดียวกัน (Dibner, 2003) ดังแสดงในภาพที่ 6

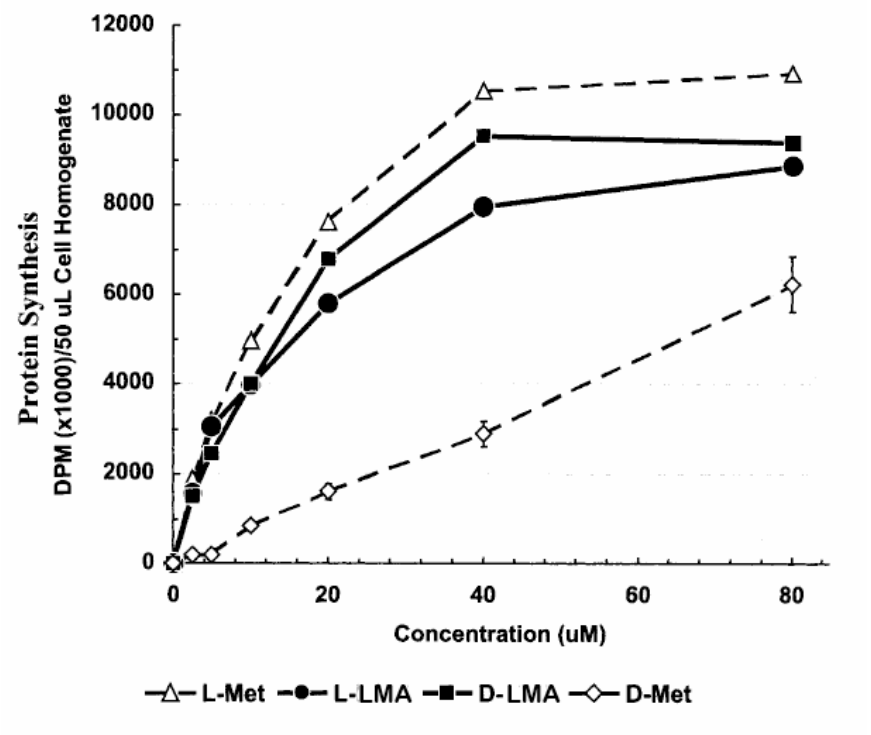


ภาพที่ 6 กลไกการเปลี่ยน LMA และ D-Met ไปเป็น L-Met
ที่มา: ดัดแปลงจาก Dibner (2003)

2. ทรานซามิเนชั่น (Transamination) เป็นปฏิกิริยาย้ายหมู่ไนโตรเจนจากอะมิโนส่วนเกินของร่างกายไปให้กับโครงร่างคาร์บอนเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายต้องการ โดยในสัตว์ปีกกรดอะมิโนกลุ่ม branched-chain (valine, isoleusine และ leusine) จะเป็นตัวให้หมู่อะมิโนกับ Keto-Methionine แต่ในหนู glutamine จะเป็นตัวให้หมู่อะมิโน (Austic and Nesheim, 1971) แล้วเปลี่ยนเป็น L-Met ในร่างกายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ประสิทธิภาพการใช้ LMA เปรียบเทียบกับ DLM

จากการศึกษาพบว่า D-LMA สามารถเปลี่ยนเป็น L-Met ได้ดีกว่า L-LMA แสดงดังแผนภาพที่ 7 ในทางทฤษฎี LMA อิสระมีประสิทธิภาพ (Bioefficacy) เท่ากับ 88% ของ L-Met (ชัยภูมิ, 2548) โดยน้ำหนักหรือความเข้มข้น ทำให้การใช้ DL-LMA มีประสิทธิภาพต่ำกว่า L-Met (Reifsnyder *et al.,* 1983; Dibner, 2003) แต่บางรายงานกลับพบว่าการใช้ DL-LMA ในสุกรมี bioefficacy เท่ากับ 100% เมื่อเปรียบเทียบกับ L-Met (Chung and Baker, 1992a; Knight *et al.,* 1998; Gaines *et al.,* 2005)

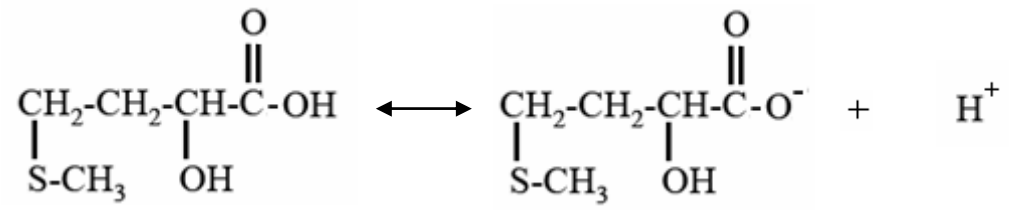


ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพการใช้ LMA เปรียบเทียบกับ DLM
ที่มา: Dibner (2003)

คุณสมบัติของ LMA ในการเป็นกรดอินทรีย์

เนื่องจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ LMA ที่มีหมู่ไฮดรอกซี (Hydroxy group, -OH) แทนที่หมู่อะมิโนตรงแอลฟ่าคาร์บอน LMA จึงมีคุณสมบัติเป็นกรดอินทรีย์จนกว่าร่างกายจะดูดซึมแล้วเปลี่ยนไปเป็นเมทไธโอนีน (Dibner and Buttin, 2002)

LMA เมื่อละลายในน้ำจะเกิดขบวนการไอออนไนเซชั่น (Ionization) แตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนได้บางส่วน แตกต่างจากการแตกตัวของกรดอนินทรีย์ เช่น ไฮโดรคลอริก (HCl) ที่แตกตัวได้ทั้งหมด ดังนั้น LMA จึงจัดเป็นกรดอ่อน (Weak acid) โดยการแตกตัวจะอยู่ในสมดุลระหว่าง LMA, LMA คาร์บอกซิเลทแอนไอออน ($LMA\text{-}COO^-$) และไฮโดรเจนไอออน (พงษ์ทิพย์และธนานิช, 2534; Dibner and Buttin, 2002) แสดงดังภาพที่ 8



LMA LMA คาร์บอกซิเลทแอนไอออน ไฮโดรเจนไอออน

ภาพที่ 8 การแตกตัว (Ionization) ให้ไฮโดรเจนไอออนของ LMA
ที่มา: ดัดแปลงจาก พงษ์ทิพย์และธนานิช (2534)

การแตกตัวของ LMA จะขึ้นกับสภาวะความเป็นบัฟเฟอร์ (Buffer capacity) ของอาหาร เช่นเดียวกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยมีค่ากำหนดความสามารถในการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน เรียกว่า pKa ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่กรดอินทรีย์แต่ละชนิดจะปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออนออกมาปริมาณครึ่งหนึ่ง (ถ้า pKa ของกรดอินทรีย์ที่แตกตัวมีค่าต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารจะแตกตัวได้สูง ถ้า pKa ของกรดอินทรีย์ที่แตกตัวมีค่าสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารจะแตกตัวได้ต่ำ) โดย LMA มีค่า pKa เท่ากับ 3.86 (พรพรรณ, 2540; Dibner and Buttin, 2002; ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชนิดและคุณสมบัติของกรดอินทรีย์

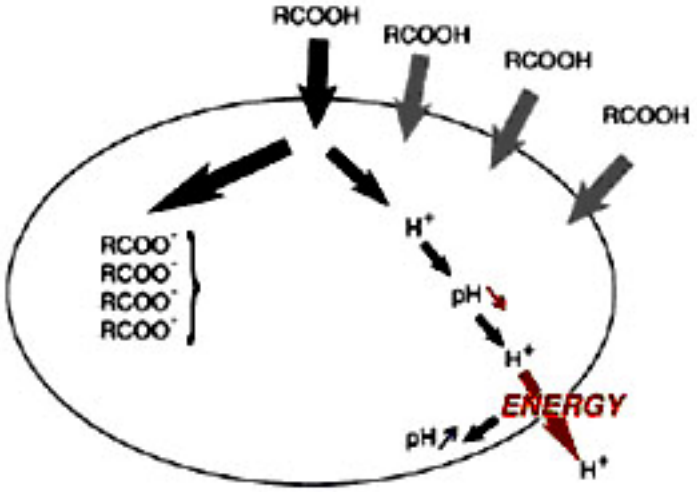
ชนิดกรด	สูตรทางเคมี	มวลโมเลกุล	pKa
Formic	HCOOH	46.03	3.75
Acetic	CH_3COOH	60.05	4.76
Propionic	CH_3CH_2COOH	74.08	4.88
Butyric	$CH_3CH_2CH_2COOH$	88.12	4.82
Lactic	$CH_2CH(OH)COOH$	90.08	3.83
LMA	$CH_3SCH_2CH_2CH(OH)COOH$	149.00	3.86
Fumaric	COOHCH:CHCOOH	116.07	3.02
Malic	$COOHCH_2CH(OH)COOH$	134.09	3.40
Citric	$COOHCH_2C(OH)(COOH)CH_2COOH$	192.14	3.13

ที่มา: ดัดแปลงจาก Dibner and Buttin (2002)

กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ในสุกรไม่แตกต่างจากการทำงานของกรดอินทรีย์ที่ใช้เพื่อถนอมและรักษาคุณภาพอาหาร (Gauthier, 2005) โดย Brul and Coote (1999) อธิบายกลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ว่า การซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียในสภาพที่กรดอินทรีย์ยังไม่มีการแตกตัว (Undissociate) จะไปทำลายหรือรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียและเนื่องจากภายในเซลล์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 7.0 ทำให้กรดอินทรีย์แตกตัวปล่อยไฮโดรเจนไอออน (H^+) และแอนไอออน ($RCOO^-$) ภายในเซลล์แบคทีเรียจึงมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ส่งผลต่อการทำงานของขบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ จนเซลล์ไม่สามารถทนอยู่ได้ เช่น ที่สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ decarboxylase และขบวนการไกลโคไลซิสของเซลล์แบคทีเรีย

นอกจากนั้นแอนไอออนที่เกิดขึ้นจะสะสมอยู่ภายในเซลล์ เกิดความเป็นพิษจากประจุลบ ทำให้ภายในเซลล์มีการสูญเสียพลังงานในการรักษาความสมดุลภายในเซลล์ แรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) ภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายในที่สุด แสดงดังภาพที่ 9 ประสิทธิภาพในการป้องกันการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นตามความยาวของโมเลกุล (จำนวน C อะตอม) ค่าคงที่การแตกตัวของกรด pK_a (Moharrery and Mohzonieh, 2005) ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง ส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เนื่องจากความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2 (Dhawale, 2005; Tan, 2006)

ดังนั้น การเสริมกรดอินทรีย์จึงมีผลช่วยในการกำจัดเชื้อก่อโรคต่างๆ (Phillip *et al.,* 1982) และปรับสภาวะที่เหมาะสมกับการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Byed *et al.,* 2001) นอกจากนี้ยังเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและดูดซึมสารอาหาร (Buttin, 1999) จากรายงานของ Morrow *et al.* (1995) ที่ศึกษาการเสริมกรดอินทรีย์ลงในน้ำดื่มของลูกสุกรหย่านม พบว่าปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Falkowski and Aherne (1984) ที่ศึกษาการเสริมกรดฟูมาริกและกรดซิตริกอย่างละ 2 ระดับ คือ 1.00 และ 2.00% ในอาหารสุกรอนุบาล พบว่า ช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตให้ดีขึ้น และ Radcliffe *et al.* (1998) ที่เสริมกรดซิตริกที่ระดับ 2.00% ลงในอาหารพบว่า อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น เนื่องจากกรดฟูมาริกและกรดซิตริกจัดเป็นกรดอ่อนเช่นเดียวกับ LMA (Dibner and Buttin, 2002)



ภาพที่ 9 กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ในการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของแบคทีเรีย
ที่มา: Gauthier (2005)

ตารางที่ 2 ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

ชนิด	ช่วงความเป็นกรด-ด่าง
E. coli	6.0-8.0
Salmonella spp.	6.0-7.5
Steptococcus spp.	6.0-7.5
Staphylococcus spp.	6.8-7.5
Clostridium spp.	6.0-7.5
Lactobacillus spp.	5.4-6.4

ที่มา: Dhawale (2005), Tan (2006)

ความต้องการเมทไธโอนีนในลูกสุกร

ความต้องการเมทไธโอนีนและซีสตีนในอาหารสุกร พิจารณารวมกันอยู่ในรูปของ Total sulfur amino acids (TSAA) เทียบกับไลซีน เพื่อแสดงสมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร (Gaines *et al*., 2005) แสดงดังตารางที่ 3

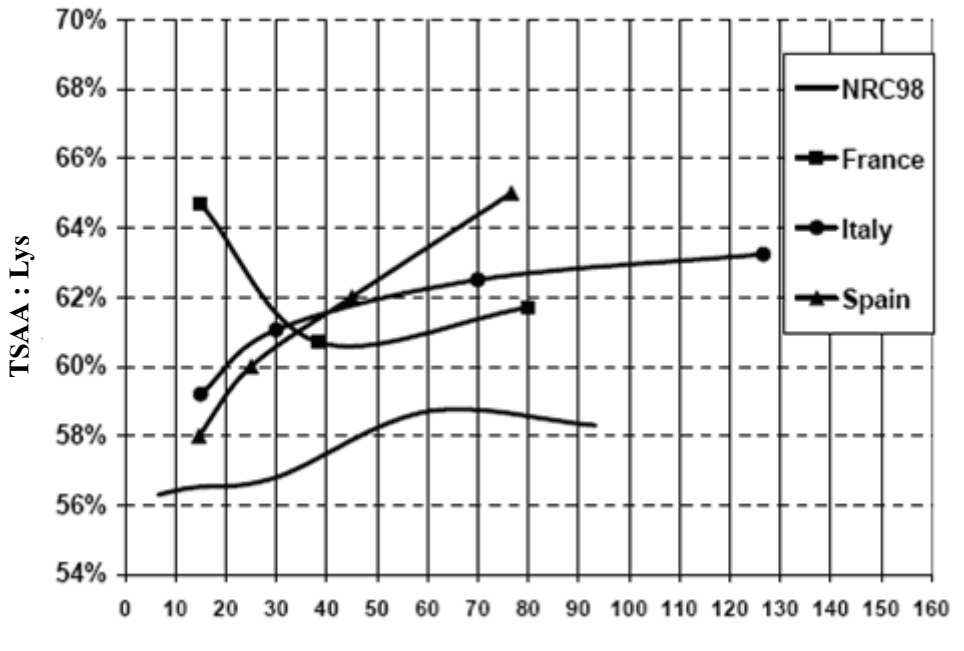
ตารางที่ 3 ความต้องการสารอาหารต่อวันของสุกรน้ำหนัก 10 – 20 กิโลกรัม

สารอาหาร	จำนวน
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/วัน)	1,000.00
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคล./กก.)	3,265.00
โปรตีน (%)	20.90
ไลซีน	1.15
เมทไธโอนีน	0.30
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	0.65
ทรีโอนีน	0.74
แคลเซียม (%)	0.70
ฟอสฟอรัสรวม (%)	0.60
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.32
สัดส่วนกำมะถันทั้งหมด : ไลซีน (%)	56.52

ที่มา: NRC (1998)

เนื่องจากไลซีนเป็นกรดอะมิโนจำกัดอันดับ 1 (First limiting amino acid) (ARC, 1981; NRC, 1998) ในสุกร จากรายงานพบว่าสัดส่วนของค่าการย่อยได้จริงที่ลำไส้เล็กส่วนท้าย (True ileal digestibility, TID) ของ TSSA : Lys ที่ตรงกับความต้องการของร่างกายในการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ระหว่าง 56 และ 65% แสดงดังแผนภาพที่ 10 โดยระดับความต้องการดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับเพศ พันธุ์ และอายุของสุกร อย่างไรก็ตามในระดับอุตสาหกรรมแนะนำสัดส่วนของ TID TSSA : Lys ในอาหารมีค่าอยู่ระหว่าง 60 ถึง 62% (Peak, 2005) สอดคล้องกับ Chung and Baker (1992b) และ Gaines *et al.* (2005) ที่รายงานว่า TID TSSA : Lys ในอาหารมีค่าเท่ากับ 60% ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้สุกรระยะอนุบาลตอบสนองต่อสมรรถภาพการผลิตดีที่สุด

เนื่องจากความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์ ทำให้สุกรสายพันธุ์ใหม่ๆ มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังนั้นระดับของ TID TSAA : Lys จึงมีค่าสูงกว่าที่ NRC (1998) ให้คำแนะนำเอาไว้ (Kendall *et al*., 2002; Gaines *et al*., 2003; Fu *et al*., 2004; Schneider *et al.,* 2004)



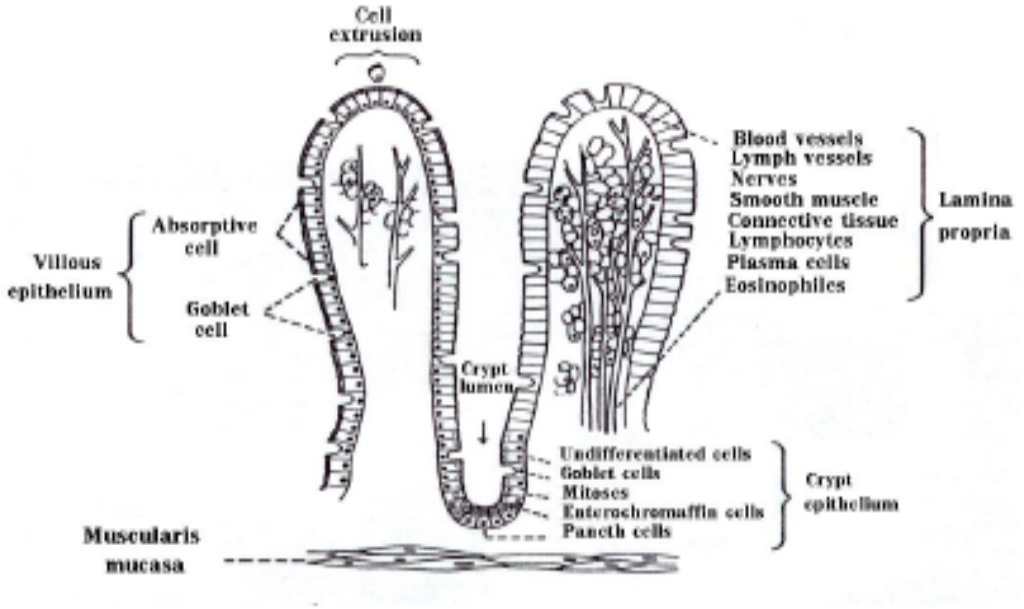
ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ต่อปริมาณความต้องการกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบเทียบสัดส่วนกับไลซีน (TSAA : Lys) ของสุกรที่เลี้ยงในประเทศกลุ่มยุโรป

ที่มา: Peak (2005)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ระบบทางเดินอาหารเป็นอวัยวะที่มีลักษณะเป็นท่อกลวง (Hollow organ) ติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก มีบทบาทสำคัญในขบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย อาหารที่สัตว์ได้รับจะผ่านอวัยวะต่างๆ ดังนี้ คือ ปาก (Mounth) หลอดอาหาร (Esophagus) กระเพาะอาหาร (Stomach) ลำไส้เล็ก (Small intestine) และลำไส้ใหญ่ (Large intestine)

ลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่มีขบวนการดูดซึมสารอาหารมากที่สุด เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทางเดินอาหารส่วนอื่นๆ เยื่อบุผิว (Mucosa) ของลำไส้ ประกอบด้วยเซลล์ 5 ชนิด คือ 1) columnar absorptive cells 2) goblet cells 3) enterochromaffin cells 4) Paneth cells และ 5) undifferentiated columnar cells แสดงดังภาพที่ 11 โดยเซลล์ทั้ง 4 ชนิดแรกจะเปลี่ยนแปลงมาจาก undifferentiated columnar cells ซึ่งอยู่บริเวณฐานของคริปท์ เซลล์ที่มีปริมาณมากที่สุด คือ columnar absorptive cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย (Argenzio, 1993)



ภาพที่ 11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็ก
ที่มา: Trier (1968)

ลำไส้เล็กแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ส่วนกลาง (Jejunum) และส่วนปลาย (Ileum) พื้นผิวภายในมีติ่ง เรียกว่า วิลลัส (Villous) ยื่นออกมามากมาย เรียกว่า วิลไล (Villi) มีหน้าที่ในการดูดซึมสารอาหาร แต่ละวิลลัสจะมีท่อน้ำเหลือง เส้นเลือดดำ-แดงมาเลี้ยงจำนวนมาก บนผิวของวิลลัสมีเซลล์ลักษณะคล้ายขนแปรง (Brush border) เรียกว่า ไมโครวิลไล (Microvilli) มีหน้าที่ในการหลั่งเอนไซม์และดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ที่ผนังลำไส้เล็ก (Enterocyte) นอกจากนี้ที่ฐานของวิลไลมีถุงรูปร่างคล้ายท่อ เรียกว่า คริปท์ (Crypt) มีต่อมขับสารที่เรียกว่าซัคคัสเอนเทอร์ริคัส (Succus entericus) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ย่อยทั้งคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เช่น sucrase, maltase, lactase, aminopeptidase และ dipeptidase (พันทิพา, 2547)

การเจริญเติบโตของวิลลัสมีผลควบคุมการแบ่งเซลล์ เพิ่มจำนวนและการทำหน้าที่ของคริปท์ผ่านทางกระบวนการควบคุมย้อนกลับ (Feedback mechanism) โดยมีสารชนิดหนึ่งเกิดขึ้น เรียกว่า ชาลอน (Chalones) ดังนั้นปริมาณชาลอนที่ลดลงจึงมีผลกระตุ้นการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของวิลลัส นอกจากนี้อาหาร สารคัดหลั่งและฮอร์โมนยังมีผลต่อกระบวนการควบคุมแบบย้อนกลับของคริปท์อีกด้วย (Argenzio, 1993) อัตราการสร้างและสลาย (Turnover rate) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กมีอัตราค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ชนิดอื่นๆ ภายในร่างกายและยังขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ โดยในลูกสุกรแรกเกิด

พบว่า การสร้างเซลล์วิลลัสใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์เดิมจะใช้ระยะเวลาประมาณ 7 - 10 วัน ขณะที่ลูกสุกรอายุ 3 สัปดาห์ ใช้เวลา 2 – 4 วัน

ลูกสุกรหลังหย่านมจะเกิดความเครียด เนื่องมาจากอาหารและการจัดการ มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก โดยพบว่า ความสูงของวิลลัลจะลดลง(Hampson and Kidder, 1986) และความลึกของคริปท์เพิ่มขึ้น (Cera *et a*l., 1988; Kelly *et al.,* 1991; Pluske *et al.,* 1996a, b) ทำให้ลดการดูดซึมสารอาหารที่บริเวณลำไส้เล็กและปริมาณกินอาหารของลูกสุกรลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า ความสูงของวิลไลบริเวณลำไส้เล็กสวนต้นที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มน้ำหนักตัวของลูกสุกรหลังหย่านม (Pluske *et al.,* 1996a, b)

การฝ่อของวิลลัสและการเพิ่มจำนวนของคริปท์ที่ลำไส้เล็กมีผลให้กระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารในสุกรระยะอนุบาลลดลง (Pluske *et al.*, 1997) เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์แล็กเทสและซูเครสที่หลั่งออกมาจากบริเวณของไมโครวิลไล (Pluske *et al.,* 1995) ความลึกของคริปท์ที่เพิ่มขึ้นมีผลเพิ่มเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างสารคัดหลั่ง (Secretory cells) ให้เพิ่มมากขึ้นจึงทำให้มีปริมาณสารคัดหลั่งเพิ่มมากขึ้นในบริเวณของลำไส้เล็ก (Nabuurs *et al.,* 1993) ปริมาณสารคัดหลั่งที่เพิ่มขึ้นจะช่วยป้องกันการถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาจากแบคทีเรียก่อโรคและป้องกันการเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ (Neutra and Forstner, 1987) ซึ่งจะส่งผลรบกวนการทำงานของเอนไซม์และการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ดังนั้นในสภาวะปกติ การลดปริมาณสารคัดหลั่งจึงช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรหลังหย่านมให้ดีขึ้น (Patience *et al.,* 1997)

การเสริมกรดอินทรีย์ลงในอาหารมีผลช่วยปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในลูกสุกรให้ดีขึ้น (Blank *et al.,* 1999) ซึ่งจากการศึกษาของ Sakata and Engelhardt (1983) พบว่า ปริมาณกรดบิวทีริกที่สูงขึ้นมีผลเพิ่มความสูงของวิลไล พื้นที่ผิวของวิลไลและความลึกของคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางและลำไส้ใหญ่ของหนูทดลอง สอดคล้องกับ Galfi and Bokori (1990) ที่ศึกษาการเสริมกรดบิวทีริกลงในอาหารสุกร พบว่า มีผลเพิ่มความสูงของวิลลัสและความลึกของคริปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย ทั้งนี้เนื่องจากกรดบิวทีริกจัดเป็นแหล่งพลังงานที่เซลล์สามารถนำไปใช้ได้ทันทีในขบวนการแบ่งเซลล์ (Lupton and Kurtz, 1993) ทำให้ความสูงและพื้นที่ผิวของวิลไลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่พบรายงานยืนยันแน่ชัดเกี่ยวกับขบวนการทำงานของ LMA ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

ในระบบทางเดินอาหารของสุกร ประกอบด้วยจุลิทรีย์หลายชนิด จากการศึกษาพบว่า ในสุกรแรกเกิดจะปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากนั้นจึงได้รับจุลินทรีย์เข้าสู่ร่างกายผ่านทางแม่สุกร อาหาร และสิ่งแวดล้อม (Maxwell and Stewart, 1995; Pluske *et al.*, 1997) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ (Kelly *et al.,* 1992)

จำนวนและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในกระเพาะและลำไส้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อาหาร ความเหมาะสมของระดับความเป็นกรด-ด่างภายในลำไส้ อัตราเร็วในการไหลผ่านของอาหาร ระบบสรีรวิทยาของสัตว์ การบีบตัวของกระเพาะและลำไส้ จากรายงานพบว่า ในลำไส้ใหญ่จะมีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก เนื่องจากมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ (Gibson and Collins, 1999)

จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. ประเภทที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) คือ จุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดความผิดปกติขึ้นในร่างกายทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Clostridium perfringen* เป็นต้น ซึ่งก่อให้เกิดอาการท้องเสียโดยทำให้มีของเหลวในลำไส้มากขึ้น (Kyriakis, 1983) ในลูกสุกรระยะหย่านมจะเกิดความเครียดสูง จากการเปลี่ยนอาหารและสภาพแวดล้อม ทำให้สุขภาพอ่อนแอ ระดับภูมิคุ้มกันต่ำและเกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวน *E. coli* จะมีปริมาณสูง (Kyriakis, 1983) และเป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสียในลูกสุกร (McLeese *et al*, 1992) เนื่องจากการเกาะจับของ *E. coli* กับผนังลำไส้และทำลายเนื้อเยื่อโดยการสร้างสารพิษ (Enterotoxin) แล้วหลั่งออกมาทำลายเซลล์เยื่อบุบิวของลำไส้ (Smith and Linggood, 1971)

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

(Colony) สีชมพูบน MacConkey agar ขณะที่ *Shigella* spp. ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลกโตสได้ (Lactose negative) และไม่ให้โคโลนีสีชมพูบน MacConkey agar (Delost, 1997)

2. ประเภทที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (Non-pathogenic bacteria) คือ จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย นอกจากนี้อาจมีประโยชน์ในหลายกรณี เช่น ช่วยควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อโรคไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อร่างกายสัตว์ จุลินทรีย์ประเภทนี้ ได้แก่ Lactobacillus, Bifidobacterium (John *et al.,* 1989), Bacillus, *Enterococcus faecium* และยีสต์ เป็นต้น (Simon, 2005)

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

นอกจากนี้ Lyons (1987) รายงานว่าในสัตว์ที่มีสุขภาพดี ระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่สมดุลซึ่งในสภาพดังกล่าวระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติคอยู่เป็นจำนวนมาก เช่น จุลินทรีย์พวก *Lactobacillus* spp. และ *Streptococcus* spp. ซึ่งในสภาพสมดุลนี้จะเสียไปเมื่อสัตว์เกิดความเครียด ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติคลดลง และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *E. coli* จะเพิ่มขึ้น

ผลของการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ คือ

1. ขบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้ได้ผลิตผลคือ กรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดโพรพิโอนิกและกรดแลกติก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในทางระบบเดินอาหารลดลง มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระบบทางเดินอาหาร (Mroz, 2005)

2. ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น *Lactobacillus plantarum* ผลิต lactolin และ *Lactobacillus acidophilus* ผลิต acidophilin, lactocidin, acidolin ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella* spp., *Strephilococci* spp., *Kerbsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli* และ *Clostridium perfringens* เป็นต้น (คะนึงนิจ, 2540)

3. ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้โดยการแข่งขันแย่งอาหารและพื้นที่ในการเกาะจับเยื่อบุผนังลำไส้ เป็นผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเกาะหรือก่อตัวในระบบทางเดินอาหารหรือป้องกันการเกาะตัวโดยตรงต่อเซลล์ ยับยั้งการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทำให้สัตว์มีสุขภาพดี (Fox, 1988; Stark and Wilkinson, 1989)

4. สร้างวิตามินบีในระบบทางเดินอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์ดีขึ้น เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอะมิโน นอกจากนี้การสร้างโปรตีนและยังเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (Stringer, 1985)

5. การสร้างเอนไซม์ เช่น แล็กเทส (Lactase) และอะมิเลส (Amylase) ทำให้ร่างกายได้รับเอนไซม์เพิ่มขึ้นเป็นผลให้การย่อยอาหารดีขึ้นโดยมีการทำงานเป็นแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Symbiosis) ของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารและกระบวนการย่อยอาหาร (Sen and Chakrabarty, 1984)

ตามปกติภายในลำไส้ของลูกสุกรที่เกิดใหม่ๆ นั้นปลอดจากเชื้อแบคทีเรียแต่หลังคลอดจะมีเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ปนเปื้อนเข้าไปอย่างรวดเร็ว โดยพบว่าในลำไส้ส่วนปลายมีเชื้อแบคทีเรียที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Faculatative anaerobic bacteria) โดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* มีมากถึง 10^7 CFU ต่อกรัม และพบเชื้อต่างๆ โดยรวมในไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ มากกว่า 10^{10}-10^{11} CFU ต่อกรัมของสิ่งบรรจุในลำไส้ (Intestinal content) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรค เช่น *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp. และ *Peptostreptococci* spp. เป็นต้น (คะนึงนิจ, 2540; Lyons, 1987; Pluske *et al*., 1997)

เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เหล่านี้จะอยู่ในสภาพที่สมดุลกัน เมื่อใดก็ตามถ้าภาวะความสมดุลของปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆ เหล่านี้เกิดสูญเสียไป ซึ่งภาวะการณ์ดังกล่าวอาจเกิดขึ้นจากสาเหตุต่อไปนี้ เช่น ลูกสุกรมีความเครียดจากอุณหภูมิสูงหรือต่ำผิดปกติ ถูกเลี้ยงอย่างแออัด (Intensive husbandry) การเคลื่อนย้าย ภาวะอดอาหารหรือปริมาณนมไม่พอ การเปลี่ยนอาหารอย่างกะทันหันหรือการใช้ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ได้กว้างขวาง (Broad spectrum antibiotics) ทั้งหมดนี้อาจมีผลรบกวนสภาวะความสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal flora) ที่มีในลำไส้ซึ่งอาจทำให้เชื้อโรคหรือเชื้อ *E. coli* เพิ่มจำนวนขึ้นได้ (Lyons, 1987)

ความต้องการน้ำในลูกสุกร

ในลูกสัตว์ที่เกิดใหม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ 3 ใน 4 ของร่างกาย ส่วนสัตว์ที่โตเต็มที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่ในร่างกาย 50% ของน้ำหนักตัว (พันทิพา, 2547) ดังนั้น น้ำจึงมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์โดยมีหน้าที่สำคัญต่อขบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย สัตว์ได้รับน้ำดื่มจาก 3 ทาง คือ 1) จากการดื่มน้ำโดยตรง 2) จากน้ำที่ติดไปกับอาหารซึ่งปกติมีอยู่ประมาณ 12 – 13% ของอาหาร 3) จากปฏิกิริยาเคมีในร่างกาย เรียกว่า metabolic water ซึ่งความต้องการน้ำในแต่ละวันของสุกรมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ความแตกต่างของสัตว์แต่ละตัว ขนาดของร่างกาย ความเครียด อุณหภูมิภายในโรงเรือน ปริมาณอาหารที่กิน สารเสริม สารเคมีรวมถึงยาหรือสารมีกลิ่นที่เสริมลงไปในอาหาร (Elwyn *et al.*, 1991) บทบาทที่สำคัญอีกอย่างของน้ำคือ ช่วยในการระบายความร้อนและรักษาอุณหภูมิของร่างกายให้เป็นปกติ (สาโรช, 2547) ทั้งนี้เนื่องจากต่อมเหงื่อสุกรถูกอุดโดยสารจำพวกเคราติน (ชาญวิทย์, 2539) ในสุกรรุ่น-ขุน (20-90 กิโลกรัม) ที่ได้รับอาหารเต็มที่ต้องการน้ำดื่มประมาณ 2.5 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร (English, 1988) และถ้าสัดส่วนการดื่มน้ำเพิ่มขึ้นถึง 3.5 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร จะมีผลต่อสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้น เนื่องจากน้ำมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสรีรวิทยาของร่างกายสัตว์ (Brooks *et al*., 1986) ได้แก่ การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์และการขนส่งของเสียออกนอกเซลล์ การเป็นสื่อกลางในการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ในร่างกาย เช่น ปฏิกิริยา hydration และ hydrolysis นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบของสารหล่อลื่นที่อยู่ตามข้อต่อต่างๆ (Synovial fluid) และป้องกันการกระทบกระเทือนของเส้นใยในระบบประสาท (Thacker, 2001) ซึ่งปริมาณการกินน้ำในลูกสุกรอายุ 3 ถึง 7 สัปดาห์จะเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามปริมาณอาหารที่กิน (Brooks *et al*., 1984)

นอกจากนี้คุณภาพของน้ำดื่มก็มีความสำคัญต่อการแสดงออกทางด้านสมรรถภาพการผลิต การปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำดื่มยังเป็นปัญหาสำคัญทั้งในคนและสัตว์เลี้ยง แบคทีเรียที่มักพบ ได้แก่ *E. coli, Salmonella* spp., *Cryptosporidium* spp. และ *Leptospira* spp. (Meek, 1996; NRC, 1998; Thacker, 2001) การปนเปื้อนของเชื้อเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการเจริญเติบโตของลูกสุกร น้ำที่คุณภาพไม่ดีจึงเป็นสาเหตุสำคัญของอาการท้องร่วงในลูกสุกร (McLeese *et al.,* 1992) ทำให้เกิดการสูญเสียจำนวนมากในฟาร์ม

มาตรฐานทางจุลชีววิทยากำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำดื่มสำหรับสุกรเพื่อใช้ในการบริโภค แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นมาตรฐานสำหรับสุกรเพื่อใช้ในการบริโภค

รายการ	เกณฑ์กำหนดที่เหมาะสม
Total count	ไม่เกิน 2.70 $\log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร
Coliform	ไม่เกิน 1.70 $\log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร
E. coli	ไม่เกิน 0.78 $\log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร

ที่มา: ณัฐวุฒิ (2545), NRC (1998), Meek (1996)

เนื่องจากโคลิฟอร์ม และ *E. coli* เป็นจุลินทรีย์ที่มีแหล่งอาศัยปกติอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์และมักพบการปนเปื้อนอยู่ในธรรมชาติ จึงเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการกำหนดมาตรฐาน โดยโคลิฟอร์ม เป็นกลุ่มแบคทีเรียรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เป็น aerobe หรือ facultative anaerobe แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ได้แก่ *E. coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดท้องร่วงในลูกสุกร (Smith and Gyles, 1970) ดังนั้น การตรวจพบ *E. coli* จึงเป็นดัชนีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำดื่ม

ผลของเมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

เนื่องจากการเสริม DLM ในอาหารมีผลเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล (Chung and Baker, 1992b; Knight *et al.,* 1998; Gaines *et al.*, 2005) และ LMA สามารถใช้แทน DLM ในสูตรอาหารได้ ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ทั้งสองและพบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน (Chung and Baker, 1992a) จากรายงานของ Knight *et al.* (1998) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพการใช้ LMA และ DLM ในลูกสุกรพบว่า มีผลทำให้น้ำหนักตัวเฉลี่ยต่อวัน น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ LMA กับกลุ่มที่ได้รับ DLM ก็พบว่าสมรรถภาพทางการผลิตไม่มีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับ David *et al.* (1984) ที่ศึกษาการเสริม LMA ในสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำกับลูกสุกรอายุ 3 สัปดาห์ พบว่า การเสริม LMA ทำให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้น นอกจากนี้การเสริม LMA เพิ่มปริมาณเมทไธโอนีนในพลาสมาและลดปริมาณยูเรียในเลือด เนื่องจาก LMA มีลักษณะของโครงสร้างทางเคมีที่ไม่มีหมู่อะมิโนเป็นส่วนประกอบและมีลักษณะคล้ายโครงคาร์บอน จึงเป็นอีกแนวทางที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้ LMA โดยการจับกับไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนียที่อยู่ในร่างกายเพื่อสร้างเป็นกรดอะมิโน จากการศึกษาของ Romer and Abel (1999) พบว่า

การเสริม LMA จะมีผลต่อการสะสมไนโตรเจนในร่างกาย (Nitrogen retention) เพิ่มขึ้น 10% ในสุกรระยะอนุบาล และ LMA มีผลต่อการสะสมไนโตรเจนไม่ต่างจาก DLM

เนื่องจากคุณสมบัติการเป็นกรดอินทรีย์ การเสริม LMA ในอาหารสุกรระยะอนุบาล จึงเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและดูดซึมสารอาหาร (Buttin, 1999) เพราะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารต่ำลง (Cranwell and Titchen, 1974) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์เปปซิน (Schnabel *et al.,* 1982) อีกทั้งมีผลต่อแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในทางเดินอาหาร (Partanen, 2001) โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยเฉพาะ *E. coli* ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญในการเกิดท้องเสียในลูกสุกรเนื่องจากแบคทีเรียก่อโรค (Pathogenic bacteria) เหล่านี้เจริญได้ดีในสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง (Dibner and Buttin, 2002) ซึ่งในไก่กระทงที่ได้รับการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มระดับ 0.025 0.05 และ 0.10% ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มลดลงตามลำดับ ซึ่งมีผลต่อ *E. coli* ในระบบทางเดินอาหารที่มีแนวโน้มลดจำนวนลง (Poosuwan *et al.*, 2007)โดยการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำดื่มโดยเฉพาะ *E. coli* และ Salmonella จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการเจริญเติบโตของลูกสุกรในอนาคต (Thacker, 2001) นอกจากนี้ LMA ยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์อีกด้วย (Doerr *et al.*, 1995; Partanen and Mroz, 1999) อย่างไรก็ตามเนื่องจาก LMA จัดเป็นกรดไฮดรอกซีจึงอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร โดยจากรายงานของ Westermarck *et al.* (2001) พบว่า ระดับการเสริมกรดไฮดรอกซีลงในอาหารสัตว์เพื่อให้เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.01 ถึง 0.10% สอดคล้องกับ Poowsuwan *et al.* (2007) ที่เสริม LMA ลงในน้ำดื่ม พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร

ดังนั้นการเสริม LMA ในอาหารและน้ำดื่มมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นแหล่งของเมทไธโอนีนและกรดอินทรีย์ จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่อาจช่วยเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับผสมอาหารสัตว์ ได้แก่ เครื่องบดวัตถุดิบอาหารสัตว์ เครื่องผสมอาหารสัตว์ชนิดถังนอนความจุ 1,500 กิโลกรัม เพื่อใช้ผสมอาหารพื้นฐาน และเครื่องผสมอาหารชนิดถังนอนความจุ 200 กิโลกรัม เพื่อใช้ผสมอาหารทดลอง และเครื่องชั่งน้ำหนักวัตถุดิบอาหารสัตว์

2. เครื่องชั่งน้ำหนักตัวสัตว์ ขนาด 200 กิโลกรัมและเครื่องชั่งน้ำหนักอาหารภายในคอกขนาด 60 กิโลกรัม

3. โรงเรือนเลี้ยงสุกรใช้โรงเรือนระบบปิด ขนาดกว้าง 12 เมตร ยาว 120 เมตร ควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ติดตั้งอยู่ด้านท้ายโรงเรือน ระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) ด้านข้างโรงเรือนติดผ้าม่านพลาสติกสีทึบ เพื่อลดรังสีความร้อนจากภายนอกเข้าสู่โรงเรือน

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์และวัดค่าที่ศึกษาประกอบด้วย

4.1 อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองตามวิธีการของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532)

4.2 เครื่อง pH meter รุ่น IQ150 ซึ่งมีหัววัดเป็น micro probe รุ่น PH17-SS แสตนเลต เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.8 มิลลิเมตร (IQ Scientific Instruments, Inc., Carlsbad, CA, USA)

5. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ประกอบด้วย MacConkey agar (Britania Laboratories, Argentina), De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Difco™, Becton, Dickinson and Company, USA), Plate count agar (Difco™, Becton, Dickinson and Company, USA) และ Peptone water (Oxoid Ltd., UK)

6. อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วยเครื่อง Microwave, Incubator, Autoclave และ Anaerobic jar สำหรับบ่มเชื้อและอุปกรณ์จำเป็นอื่น ๆ สำหรับตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์

7. เครื่อง Larminar flow (Heal Force,HF safe, Class II, Type A2 manual, Shanghai Lisken Scientific Equipment Co., Ltd., Shanghai, People's Republic of China) และเครื่อง Centrifuge (TOMY model MX-301, TOMY Kogyo Co., Ltd., Japan) เพื่อเตรียมตัวอย่างอาหารจากไส้ติ่ง (Caecum) เครื่อง Gas Chromatography (Shimadzu Model GC-2010 High-end, Shimadzu Co. Ltd., Kyoto, Japan) เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short chain fatty acids, SCFAs) ในตัวอย่างอาหารจากไส้ติ่ง

8. อุปกรณ์ผ่าตัด สารละลาย Phosphate buffer formalin และสารละลาย Phosphate buffer solution เพื่อเก็บและเตรียมตัวอย่างลำไส้ อุปกรณ์ สารเคมี กล้องจุลทรรศน์ คอมพิวเตอร์และโปรแกรมสำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่งและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล

สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสม (ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) เพศผู้ตอน อายุ 6 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 12.48 ± 0.33 กิโลกรัม จำนวน 180 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 6 ตัว

การจัดการเลี้ยงดู

สุกรถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิด ขนาดกว้าง 12 เมตร ยาว 120 เมตร ที่มีพื้นเป็นสแลทคอนกรีตและติดตั้งคอกทดลองจำนวน 30 คอก ขนาดกว้าง 2.00 เมตร ยาว 2.00 เมตร สูง 1.00 เมตร ความหนาแน่นของสุกรเท่ากับ 0.67 ลูกบาศก์เมตรต่อตัว สุกรได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยใช้ถังอาหารที่มีขนาดความกว้าง 30 เซนติเมตร ยาว 31 เซนติเมตร สูง 14 เซนติเมตรต่อช่อง มีที่ให้น้ำแบบปากกัดอัตโนมัติ (Nipple) 2 ตัวต่อคอก ใช้ระบบควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบน้ำไหลผ่าน cooling pad แบบ negative pressure system และมีการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) โดยใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ตั้งอุณหภูมิเพื่อควบคุมการทำงานของปั๊มน้ำที่ 27 ถึง 29 °C และตั้งค่าความชื้นเพื่อควบคุมการเปิดปั๊มน้ำที่ 75 ถึง 80%RH และควบคุมการปิด

ปั๊มน้ำที่ 85 ถึง 90% RH โดยอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 1 แสดงในตารางภาคผนวกที่ 1

อาหาร

สุกรแต่ละกลุ่มได้รับ LMA (bioefficacy ของ LMA เท่ากับ 88% ของเมทไธโอนีน) เสริมในอาหารแตกต่างกัน 3 ระดับ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ไม่เสริม LMA (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม LMA 0.15% และกลุ่มที่ 3 เสริม LMA 0.24% อาหารทดลองพื้นฐานใช้วัตถุดิบ ดังตารางที่ 5 และคำนวณปริมาณโภชนะอ้างอิงตามบริษัท ซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด โดยมีระดับโปรตีน เท่ากับ 20% ไลซีน เท่ากับ 1.35% และเมทไธโอนีน เท่ากับ 37% มีพลังงานที่สุกรใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 3,350 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม และมีสัดส่วนของซัลเฟอร์ทั้งหมด (Total sulfur amino acids, TSAA) ต่อไลซีนเท่ากับ 50, 60 และ 66% และเมื่อคำนวณเป็นค่าการย่อยได้จริง (True ileal digestibility, TID) ของ TSAA ต่อไลซีน มีค่าเท่ากับ 49, 61 และ 69% ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ สุกรได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลอง ทำการผสม LMA 3 ระดับ ลงในอาหารพื้นฐาน (Basal diet) คือ 0.00 0.15 และ 0.24% ตามลำดับด้วยเครื่องผสมชนิดถังนอนความจุ 1,500 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่างอาหารจำนวน 6 ตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของโภชนะด้วยวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 1

ลำดับ	วัตถุดิบอาหาร	จำนวน (%)
1	ปลายข้าว	43.08
2	ข้าวโพด	5.00
3	รำละเอียด	8.15
4	กากถั่วเหลือง (48% โปรตีน)	4.00
5	ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	27.41
6	ปลาป่น (60% โปรตีน)	2.00
7	น้ำมันถั่วเหลือง	1.29
8	หางนมผง (33% โปรตีน)	5.00
9	แอล-ไลซีน	0.35
10	แอล-ทรีโอนีน	0.10
11	โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต (21% ฟอสฟอรัส)	1.83
12	แคลเซียมคาร์บอเนต	1.09
13	เกลือ	0.21
14	พรีมิกซ์[1]	0.50
	รวม	100.00
	ราคาต่อกิโลกรัม (บาท)	14.49

หมายเหตุ [1] พรีมิกซ์ประกอบด้วยวิตามินเอ 4 MIU วิตามินดี 0.64 MIU วิตามินอี 24,000 IU วิตามินเค 1.4 กรัม วิตามินบี1 0.6 กรัม วิตามินบี2 0.3 กรัม วิตามินบี6 0.75 กรัม วิตามินบี12 14 มิลลิกรัม กรดนิโคตินิก 20 กรัม กรดแพนโธทีนิก 10 กรัม กรดโฟลิก 0.44 กรัม ไบโอติน 0.04 กรัม โคลีน 60 กรัม เหล็ก 45 กรัม คอปเปอร์ 40 กรัม แมงกานีส 15 กรัม สังกะสี 40 กรัม โคบอลต์ 0.2 กรัม ไอโอดีน 0.4 กรัม ซีลีเนียม 0.06 กรัม เติมสื่อให้ครบ 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1 จากการคำนวณและการวิเคราะห์

องค์ประกอบ	คำนวณ[1]	วิเคราะห์[2]
พลังงานทั้งหมด (แคลอรี/กิโลกรัม)	-	3,809.55
พลังงานที่สุกรใช้ประโยชน์ได้ (แคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00	-
โปรตีน (%)	20.00	20.22
เถ้า (%)	2.19	2.41
ความชื้น (%)	10.41	10.16
เยื่อใย (%)	3.00	4.00
ไขมัน (%)	7.53	5.39
แคลเซียม (%)	1.00	1.12
ฟอสฟอรัส (%)	0.89	0.92
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.49	-
ไลซีน (%)	1.35	-
เมทไธโอนีน (%)	0.37	-
เมทไธโอนีน + ซีสตีน (%)	0.68	-
ทรีโอนีน (%)	0.85	-
TSAA : ไลซีน (%)	50.00	-

หมายเหตุ [1] ค่าโภชนะที่ใช้ในการคำนวณอ้างอิงตามบริษัท ซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

[2] วิเคราะห์โภชนะ คือ ความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532)

การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

1. บันทึกสมรรถภาพการผลิตโดยแบ่งออกเป็น

1.1. บันทึกปริมาณอาหารที่กินทุกวันและบันทึกน้ำหนักตัวของสุกรเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดช่วงการทดลอง

1.2. คำนวณอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว

1.3. บันทึกอัตราการตาย อุณหภูมิและความชื้นสัมพันธ์ภายในโรงเรือนทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

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

3. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารโดยสุ่มตัวอย่างอาหารในแต่ละสูตรๆ ละ 2 ซ้ำ จำนวน 10 กรัม ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการนับเชื้อ *E. coli* โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้ใน McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37.8 ˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Biagi *et al.* (2006)

4. ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารโดย สุ่มตัวอย่างอาหารจำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งให้ตกตะกอนวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในสารละลายใสด้านบน (Supernatant) โดยเครื่อง pH meter ตามวิธีของ Roth and Kirchgessner (1998)

5. เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มสุกรในแต่ซ้ำๆ ละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 30 ตัว มาทำการ การุณฆาต (Euthanasia) เพื่อศึกษาความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร (Stomach) ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ส่วนกลาง (Jejunum) ส่วนปลาย (Ileum) ไส้ติ่ง (Caecum) ลำไส้ใหญ่ (Colon) และไส้ตรง (Rectum) ตามลำดับ โดยเครื่อง pH meter

6. วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (SCFAs) โดยใช้ตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง ด้วยเครื่อง gas chromatography ดัดแปลงตามวิธีของ Biagi *et al*. (2006) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก

7. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

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

7.2 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil.* โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อในincubator ที่อุณหภูมิ 37.8 ˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลาภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Franklin *et al*. (2002)

8. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลาย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของวิลลัสและคริบท์ โดยทำการเก็บเนื้อเยื่อล้างใน Phosphate buffer solution จากนั้นรีบใส่ลงใน fixative โดยใช้ Phosphate buffer formalin 10 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปฏิบัติตามขั้นตอนทาง histology technique โดยตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin ตามวิธีของ ศุภลักษณ์ (2545) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวของทางเดินอาหาร โดยวัดความสูงวิลลัส (Villous height) ความลึกคริบท์ (Crypt depth) และหาสัดส่วนของความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริบท์ ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1996) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Covariance (ANCOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Least significant different สำหรับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยมีตัวแบบทางสถิติ คือ

$$y_{ij} = \mu + \beta (X_{ij} + \bar{X}_{..}) + A_i + e_{ij}$$

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในอาหาร i

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

β = สัมประสิทธิ์การถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษากับน้ำหนักเริ่มต้น

X_{ij} = น้ำหนักเริ่มต้นของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในอาหาร i

$\bar{X}_{..}$ = น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย

A_i = อิทธิพลของระดับ LMA ที่เสริมในอาหาร i โดย i = 1 ไม่ได้เสริม LMA, i = 2 เสริม LMA ในอาหารระดับ 0.15% และ i = 3 เสริม LMA ในอาหารระดับ 0.24%

e_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA ในอาหารที่ i โดย $e_{ij} \sim NID(0,\sigma^2)$

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's multiple range test สำหรับลักษณะที่ศึกษาอื่นๆ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยมีตัวแบบทางสถิติ คือ

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

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในอาหาร i

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

A_i = อิทธิพลของระดับ LMA ที่เสริมในอาหาร i โดย i = 1 ไม่ได้เสริม LMA, i = 2 เสริม LMA ในอาหารระดับ 0.15% และ i = 3 เสริม LMA ในอาหารระดับ 0.24%

e_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA ในอาหารที่ i โดย $e_{ij} \sim NID(0,\sigma^2)$

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายในไส้ติ่ง และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล

สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสม(ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) เพศเมีย อายุ 7 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 18.92 ± 1.80 กิโลกรัม จำนวน 24 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 2 ตัว

การจัดการเลี้ยงดู

สุกรถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิด ขนาดกว้าง 12 เมตร ยาว 120 เมตร บนคอกยกพื้นสแลตพลาสติกสูงจากพื้น 0.60 เมตร ขนาดกว้าง 1.00 เมตร ยาว 2.50 เมตร สูง 0.70 เมตร ความหนาแน่นของสุกรเท่ากับ 1.25 ลูกบาศก์เมตรต่อตัว รางอาหารแบ่งออกเป็น 2 ช่อง แต่ละช่องกว้าง 0.15 เมตร ยาว 0.27 เมตร แต่ละคอกมีถังขนาด 70 ลิตร ติดตั้งที่ให้น้ำอัตโนมัติ (Nipple) จำนวน 1 จุดต่อคอก สูงจากพื้นคอก 0.30 เมตร และมีมิเตอร์เพื่อวัดปริมาณน้ำกินและมีภาชนะรองรับน้ำที่สูญเสียระหว่างที่สุกรกินน้ำ ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบน้ำไหลผ่าน cooling pad แบบ negative pressure system และมีการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) โดยใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ตั้งอุณหภูมิเพื่อควบคุมการทำงานของปั๊มน้ำที่ 27 ถึง 29 °C และตั้งค่าความชื้นเพื่อควบคุมการเปิดปั๊มน้ำที่ 75 ถึง 80%RH และควบคุมการปิดปั๊มน้ำที่ 85 ถึง 90% RH โดยอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 2 แสดงในตารางภาคผนวกที่ 2

อาหารและน้ำ

สุกรแต่ละกลุ่มได้รับ LMA (bioefficacy ของ LMA เท่ากับ 88% ของเมทไธโอนีน) เสริมในน้ำดื่มแตกต่างกัน 3 ระดับ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ไม่เสริม LMA (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม LMA 0.05% และกลุ่มที่ 3 เสริม LMA 0.10% อาหารทดลองพื้นฐานใช้วัตถุดิบ ดังตารางที่ 7 และคำนวณปริมาณโภชนะอ้างอิงตามบริษัท ซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด โดยมีระดับโปรตีน เท่ากับ 20% ไลซีน เท่ากับ 1.35% และเมทไธโอนีน เท่ากับ 50% มีพลังงานที่สุกรใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 3,350 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (ระดับที่ใช้ในอุตสาหกรรม) และมีสัดส่วนของซัลเฟอร์ทั้งหมด (Total sulfur amino acids, TSAA) ต่อไลซีนเท่ากับ 60% สุกรได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลองและสุ่มตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์

องค์ประกอบของโภชนะด้วยวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานในการทดลองที่ 2

ลำดับ	ส่วนประกอบ	จำนวน (%)
1	ปลายข้าว	43.02
2	ข้าวโพด	4.99
3	รำละเอียด	8.14
4	กากถั่วเหลือง (48% โปรตีน)	3.99
5	ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	27.37
6	ปลาป่น (60% โปรตีน)	2.00
7	น้ำมันถั่วเหลือง	1.29
8	หางนมผง (33% โปรตีน)	4.99
9	แอล-ไลซีน	0.35
10	ทรีโอนีน	0.10
11	ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.13
12	โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต (21% ฟอสฟอรัส)	1.82
13	แคลเซียมคาร์บอเนต	1.08
14	เกลือ	0.21
15	พรีมิกซ์[1]	0.50
	รวม	100.00
	ราคาต่อกิโลกรัม (บาท)	14.80

หมายเหตุ [1] พรีมิกซ์ประกอบด้วยวิตามินเอ 4 MIU วิตามินดี 0.64 MIU วิตามินอี 24,000 IU วิตามินเค 1.4 กรัม วิตามินบี1 0.6 กรัม วิตามินบี2 0.3 กรัม วิตามินบี6 0.75 กรัม วิตามินบี12 14 มิลลิกรัม กรดนิโคตินิก 20 กรัม กรดแพนโธทีนิก 10 กรัม กรดโฟลิก 0.44 กรัม ไบโอติน 0.04 กรัม โคลีน 60 กรัม เหล็ก 45 กรัม คอปเปอร์ 40 กรัม แมงกานีส 15 กรัม สังกะสี 40 กรัม โคบอลต์ 0.2 กรัม ไอโอดีน 0.4 กรัม ซีลีเนียม 0.06 กรัม เติมสื่อให้ครบ 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 2 จากการคำนวณและการวิเคราะห์

องค์ประกอบ	คำนวณ	วิเคราะห์[1]
พลังงานทั้งหมด (แคลอรี/กิโลกรัม)	-	3,809.55
พลังงานที่สุกรใช้ประโยชน์ได้ (แคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00	-
โปรตีน (%)	20.00	20.22
เถ้า (%)	2.19	2.41
ความชื้น (%)	10.41	10.16
เยื่อใย (%)	3.00	4.00
ไขมัน (%)	7.53	5.39
แคลเซียม (%)	1.00	1.12
ฟอสฟอรัส (%)	0.89	0.92
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.49	-
ไลซีน (%)	1.35	-
เมทไธโอนีน (%)	0.50	-
เมทไธโอนีน + ซีสตีน (%)	0.81	-
ทรีโอนีน (%)	0.85	-
TSAA : ไลซีน (%)	60.00	-

หมายเหตุ [1] ค่าโภชนะที่ใช้ในการคำนวณอ้างอิงตามบริษัท ซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

[2] วิเคราะห์โภชนะ คือ ความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (2000) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2532)

การบันทึกผลการทดลอง การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ทางเคมี

1. บันทึกสมรรถภาพการผลิต โดยแบ่งออกเป็น

   1.1 บันทึกน้ำหนักตัวเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง

   1.2 บันทึกปริมาณอาหารที่กินทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

1.3 คำนวณอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว

1.4 บันทึกปริมาณน้ำดื่มผ่านทางมิเตอร์และปริมาณน้ำที่สูญเสียในภาชนะรองรับใต้พื้นคอก เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำดื่ม และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

1.5 บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

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

3. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารโดยสุ่มตัวอย่างอาหารจำนวน 10 กรัม ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการนับเชื้อ *E. coli* โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้ใน McConkey agar ทำการบ่มเชื้อในincubator ที่อุณหภูมิ 37.8 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Baigi *et al.* (2006)

4. ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารโดย สุ่มตัวอย่างอาหารจำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งให้ตกตะกอนวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในสารละลายใสด้านบน (Supernatant) โดยเครื่อง pH ตามวิธีของ Roth and Kirchgessner (1998)

5. เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มสุกรในแต่ซ้ำๆ ละ 1 ตัว รวมทั้งหมด 12 ตัว มาทำการการุณฆาต (Euthanasia) เพื่อศึกษาความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร (Stomach) ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ส่วนกลาง (Jejunum) ส่วนปลาย (Ileum) ไส้ติ่ง (Caecum) ลำไส้ใหญ่ (Colon) และไส้ตรง (Rectum) ตามลำดับ โดยเครื่อง pH meter

6. วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (SCFAs) โดยใช้ตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง ด้วยเครื่อง gas chromatography ดัดแปลงตามวิธีของ Biagi *et al.* (2006) ดังแสดงในภาคผนวก

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

7.1 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *Lactobacillus* spp. ด้วย MRS agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 39 ˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน Anaerobic Jar ตามวิธีของ De Man *et al.* (1960)

7.2 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil.* โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37.8 ˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลาภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Franklin *et al*. (2002)

8. บันทึกปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมลงในสารละลาย peptone 1% จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย peptone 1% ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

8.1 วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ด้วย Standard Plate Count agar ตามวิธีของ อาสูตรและคณะ (2550)

8.2 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ กลุ่ม *E. coil.* โดย McConkey agar ทำการบ่มเชื้อใน incubator ที่อุณหภูมิ 37.8 ˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลาภายใต้สภาวะ aerobe ตามวิธีของ Franklin *et al*. (2002)

9. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลาย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของวิลลัสและคริบท์ โดยทำการเก็บเนื้อเยื่อล้างใน Phosphate buffer solution จากนั้นรีบใส่ลงใน fixative โดยใช้ Phosphate buffer formalin 10 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปฏิบัติตามขั้นตอนทาง histology technique โดยตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร มาย้อมด้วยสี haematoxylin และ eosin ตามวิธีของ ศุภลักษณ์ (2545) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวของทางเดินอาหาร โดยวัดความสูงวิลลัส (Villous height) ความลึกคริบท์ (Crypt depth) และหาสัดส่วนของความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริบท์ ตามวิธีของ Nunez *et al.* (1996) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของบริษัท ไทยจุลทรรศน์ จำกัด

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Covariance (ANCOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Least significant different สำหรับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยมีตัวแบบทางสถิติ คือ

$$y_{ij} = \mu + \beta (X_{ij} + \overline{X}_{..}) + A_i + e_{ij}$$

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในน้ำดื่ม i

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

β = สัมประสิทธิ์การถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษากับน้ำหนักเริ่มต้น

X_{ij} = น้ำหนักเริ่มต้นของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในน้ำดื่ม i

$\overline{X}_{..}$ = น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย

A_i = อิทธิพลของระดับ LMA ที่เสริมในน้ำดื่ม i โดย i = 1 ไม่ได้ เสริม LMA, i = 2 เสริม LMA ในน้ำดื่มระดับ 0.05% และ i = 3 เสริม LMA ในน้ำดื่มระดับ 0.10%

e_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA ในน้ำดื่มที่ i โดย $e_{ij} \sim NID(0,\sigma^2)$

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's multiple range test สำหรับลักษณะสำหรับลักษณะที่ศึกษาอื่นๆ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยมีตัวแบบทางสถิติ คือ

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

y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาของสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA เสริมในน้ำดื่ม i

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

A_i = อิทธิพลของระดับ LMA ที่เสริมในน้ำดื่ม i โดย i = 1 ไม่ได้ เสริม LMA, i = 2 เสริม LMA ในน้ำดื่มระดับ 0.05% และ i = 3 เสริม LMA ในน้ำดื่มระดับ 0.10%

e_{ij} = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากสัตว์ตัวที่ j ที่ได้รับระดับ LMA ในน้ำดื่มที่ i โดย $e_{ij} \sim NID(0,\sigma^2)$

ระยะเวลาในการทดลอง

มกราคม 2551 – พฤษภาคม 2551

สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

2. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

3. บริษัท ซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด หนองแค สระบุรี

4. ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม

5. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การทดลองที่ 1

การเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ลงในอาหารมีผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้นจาก 14.49 บาท เป็น 14.77 และ 14.94 บาท ในกลุ่มที่เสริมระดับ 0.15% และ 0.24% ตามลำดับ และจากผลการศึกษาพบว่า การเสริมในระดับที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกายมีผลปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น โดยผลการเสริม LMA ลงในอาหารต่อลักษณะที่ทำการศึกษาอธิบายได้ดังต่อไปนี้

1. ผลการเสริม LMA ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต

อิทธิพลการเสริม LMA ต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล แสดงดังตารางที่ 9 พบว่าจากน้ำหนักเริ่มต้นที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.87) การเสริม LMA ระดับ 0.15% มีผลเพิ่มน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุม (P=0.03) แต่แตกต่างจากกลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.24% อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การเสริม LMA ลงในอาหารยังช่วยปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (P=0.22) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวให้ดีขึ้น (P=0.22) และเมื่อพิจารณาต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่า แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.35) อย่างไรก็ตามแม้ว่าปริมาณการกินอาหาร ปริมาณโปรตีนและไลซีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.56) แต่การเสริม LMA ในอาหารมีผลเพิ่มปริมาณ LMA และเมทไธโอนีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันตามระดับ LMA ที่เสริมลงไปอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ผลการทดลองนี้อาจเกิดจากการเสริม LMA ระดับที่เหมาะสม มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของร่างกาย โดย LMA สามารถเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน (Dibner, 2003) ซึ่งจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็นอันดับสองในสุกร (Peak, 2005) ระดับเมทไธโอนีนที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกายจึงมีผลเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล (Chung and Baker, 1992a; Knight *et al.,* 1998; Gaines *et al.,* 2005; Peak, 2005) เช่นเดียวกับ David *et al.* (1984) และ Knight *et al,* (1998) ที่ศึกษาผลการเสริม LMA ลงในอาหาร ทำให้สุกรระยะอนุบาลมีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่การเสริม LMA ระดับ 0.15% ทำให้สุกรระยะอนุบาลมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้จากการศึกษาของ Roth *et al.* (2006) ที่ทำการเสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีนลงในอาหารโดยให้ลูกสุกรมีอิสระในการเลือกกิน (Choice feeding) พบว่า สุกรเลือกกิน

อาหารที่เสริมเมทไธโอนีนมากกว่าและมีสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาลที่ดีกว่า โดย Blevins *et al.* (2003) อธิบายว่า เนื่องจากสมองมีความสามารถในการรับรู้สมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร และจากการพัฒนาของต่อมรับรส (Fungiform tast buds) ในลูกสุกรที่มีประมาณ 5,000 ต่อม จึงส่งผลให้สุกรเลือกกินอาหารที่มีความสมดุลของกรดอะมิโนที่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต สอดคล้องกับกฎของ Liebig อ้างโดย ชัยภูมิ (2548) ซึ่งอธิบายถึง “Law of Minimums” ว่า การขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นเพียงหนึ่งตัวก็ทำให้การใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนตัวที่เหลือลดลงและอาหารที่มีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่สมดุลจะทำให้การสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นอกจากความต้องการเมทไธโอนีนในรูปของเปอร์เซ็นต์แล้ว ยังพิจารณาระดับความต้องการเมทไธโอนีนอ้างอิงในรูปของ TSAA ร่วมกับไลซีน โดย Peak (2005) ได้รวบรวมสัดส่วน TSAA : Lys ในแต่ละประเทศพบว่า มีค่าระหว่าง 56 – 65% จากผลการทดลองนี้พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.15% มีผลให้สัดส่วนของ TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 60% เมื่อคำนวณเป็นค่าการย่อยได้จริงที่ลำไส้เล็กสัดส่วนของ TID TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 61% ซึ่งเป็นระดับที่ช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น ใกล้เคียงกับ Gaines *et al.* (2005) ที่รายงานว่า สัดส่วนของ TID TSAA : Lys ที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกายของสุกรระยะอนุบาลมีค่าเท่ากับ 60% อย่างไรก็ตามระดับที่ได้มีค่าสูงกว่า NRC (1998) กำหนดซึ่งมีค่าเท่ากับ 57% นอกจากนี้การได้รับเมทไธโอนีนมากเกินไปยังส่งผลเสียต่อสัตว์ ดังจะเห็นจากการเสริม LMA ระดับ 0.24% ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ มีผลให้สัดส่วนของ TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 64% เมื่อคำนวณเป็นค่าการย่อยได้จริงที่ลำไส้เล็กสัดส่วนของ TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 69% ซึ่งมีค่าสูงเกินระดับความต้องการ (Peak, 2005) จึงลดปริมาณการกินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของสุกร สอดคล้องกับการศึกษาของ Yi *et al.* (2006) ที่พบว่า สัดส่วนของ TID TSAA : Lys ที่เพิ่มขึ้นจาก 45 – 64% ทำให้ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวันลดลง ซึ่งอาจเกิดจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร (D’Mello, 2003)

การพิจารณาระดับความต้องการสารอาหารนอกจากคำนึงถึงในแง่ของเปอร์เซ็นต์ในอาหารและสัดส่วน TSAA : Lys แล้ว ยังพิจารณาในแง่ของปริมาณสารอาหารที่สุกรได้รับต่อวัน โดย NRC (1998) กำหนดปริมาณความต้องการโปรตีนเท่ากับ 180 – 209 กรัมต่อวัน ไลซีนเท่ากับ 11.5 – 17.5 กรัมต่อวัน และเมทไธโอนีนเท่ากับ 3.00 - 4.60 กรัมต่อวัน สำหรับสุกรหนัก 10 – 50 กิโลกรัม จากการทดลอง พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.15% มีผลให้สุกรได้รับปริมาณโปรตีน ไลซีนและเมทไธโอนีนเฉลี่ยเท่ากับ 198.09, 13.37 และ 4.95 กรัมต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าสุกรได้รับปริมาณโปรตีนและไลซีนอยู่ในช่วงที่กำหนด ยกเว้นเมทไธโอนีนที่มีระดับสูงกว่า แต่มีผลช่วยให้น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น แสดงให้เห็นว่า สุกรระยะนี้ต้องการเมทไธโอนีน

สูงกว่า NRC (1998) กำหนด อย่างไรก็ตามการได้รับในปริมาณที่มากเกินไปกลับมีผลเสียต่ออัตราการเจริญเติบโต ดังจะเห็นได้จากการที่สุกรได้รับปริมาณเมทไธโอนีนเพิ่มขึ้น (5.69 กรัมต่อวัน) ในกลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.24% แม้ว่าสุกรจะได้รับโปรตีนและไลซีนอยู่ในช่วงที่กำหนดก็ตาม สอดคล้องกับ Edmonds and Baker (1987) ที่รายงานว่า ปริมาณเมทไธโอนีนในอาหารที่สูงเกินไปมีผลลดปริมาณการกินอาหารและการเพิ่มน้ำหนักตัวของสุกร จึงอาจสรุปได้ว่า การเสริม LMA ระดับ 0.15% ทำให้สัดส่วน TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 60% และได้รับเมทไธโอนีนเฉลี่ย 4.95 กรัมต่อวัน มีผลให้สุกรระยะอนุบาลมีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้น เนื่องจากเมทไธโอนีนเกี่ยวข้องกับกระบวนการการสังเคราะห์โปรตีนและเป็นสารตั้งต้นของสารประกอบที่สำคัญอื่นๆ อีกหลายชนิดในร่างกาย (Brosnan *et al*., 2007)

นอกจากจะเป็นแหล่งของเมทไธโอนีนแล้ว Dibner (2003) ยังรายงานว่า LMA มีคุณสมบัติในการเป็นกรดอินทรีย์เหมือนกับกรดแลกติก ดังนั้น การเสริม LMA ลงในอาหารยังมีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารซึ่งมีความสัมพันธ์ต่อการเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล สอดคล้องกับรายงานผลการเสริมกรดอินทรีย์ลงในอาหารซึ่งพบว่า มีผลเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตของสุกร (อาวุธและคณะ, 2540; กรรณิการ์, 2545; Kirchgessner and Roth, 1976, 1978; Falkowski and Aherne, 1984; Giesting *et al*., 1991; Radcliffe *et al*., 1998; Walsh *et al*., 2007)

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยแบบลีสสแควร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.15%	LMA 0.24%	P-value[1]	SEM[2]
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม)	12.53 ± 0.11	12.50 ± 0.11	12.45 ± 0.11	0.8725	0.06
น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง (กิโลกรัม)	29.02 ± 0.44^{b}	30.72 ± 0.42^{a}	30.02 ± 0.42^{ab}	0.0337	0.41
น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)	16.52 ± 0.44^{b}	18.22 ± 0.42^{a}	17.53 ± 0.42^{ab}	0.0337	0.37
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	406.77 ± 15.70	445.50 ± 14.90	423.19 ± 14.90	0.2163	8.94
ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	1043.27 ± 44.05	990.43 ± 41.79	981.45 ± 41.79	0.5586	24.18
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	2.60 ± 0.15	2.26 ± 0.14	2.34 ± 0.14	0.2229	0.08
ต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (บาท)	37.68 ± 2.14	33.34 ± 2.03	34.91 ± 2.03	0.3459	1.94
ปริมาณโปรตีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	208.65 ± 8.81	198.09 ± 8.36	196.29 ± 8.36	0.5586	4.84
ปริมาณไลซีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	14.08 ± 0.59	13.37 ± 0.56	13.25 ± 0.56	0.5585	0.33
ปริมาณ LMA ที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	0.00 ± 0.00^{C}	1.39 ± 0.07^{B}	2.36 ± 0.07^{A}	<0.0001	0.18
ปริมาณเมทไธโอนีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	3.86 ± 0.22^{C}	4.95 ± 0.21^{B}	5.69 ± 0.21^{A}	<0.0001	0.18

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[A, B และ C] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

[a และ b] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2. ผลการเสริม LMA ในอาหารต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารและระบบทางเดินอาหาร

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารและระบบทางเดินอาหาร (ตารางที่ 10) พบว่า การเสริม LMA มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารตามระดับ LMA ที่เสริมลงไปอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลายและไส้ตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ใหญ่ลดลง ($P<0.01$) นอกจากนี้การเสริมระดับ 0.24% ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เสริมระดับ 0.15%

Straw *et al.* (1991) รายงานว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารที่มีค่าเท่ากับหรือต่ำกว่า 6.0 มีผลเพิ่มปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกร สอดคล้องกับการศึกษาของ Kornegay *et al.* (1994) ซึ่งพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารที่มีค่าเท่ากับ 5.50 มีผลเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลได้ดีที่สุด ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่า การเสริมกรดอินทรีย์เพื่อลดค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารจะมีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดก็ต่อเมื่อระดับที่เสริมลงในอาหารไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินอาหาร (Falkowski and Aherne, 1984; Giesting and Easter, 1985; Risley *et al.*, 1991) เนื่องจากระดับกรดอินทรีย์ที่สูงขึ้นมีผลให้อาหารมีกลิ่นฉุน (Patience *et al.*, 1987; Mroz, 2005) และเกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อบุผิวทำให้สุกรกินอาหารลดลง (Kirchgessner and Roth, 1976; Falkowski and Aherne, 1984; Radecki *et al*., 1988; Walsh *et al*., 2004; Walsh *et al*., 2007) จนกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาล (Yen *et al.,* 1981; Patience *et al.,* 1987; Patience and Wolynetz, 1990) จากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของกลุ่มที่ได้รับ LMA ระดับ 0.15 และ 0.24% มีค่าเท่ากับ 5.68 และ 5.58 ตามลำดับ (ไม่ต่ำกว่า 5.50) ซึ่งมีแนวโน้มลดปริมาณการกินอาหาร แต่จากคุณสมบัติของ LMA ที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบทำให้มีกลิ่นเฉพาะแตกต่างจากกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ดังนั้น การกินอาหารที่ลดลงจึงอาจเกิดเนื่องมาจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหารมากกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง

ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารและกระเพาะอาหารที่ลดลงมีความสัมพันธ์ต่อการย่อยและใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (Blank *et al*., 1999) โดยกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนเปปซิโนเจนไปเป็น เปปซิน (Manners and Steven, 1972; Schnabel *et al*., 1982; Cranwell, 1985) และทำให้อาหารอยู่ในระบบทางเดินอาหารนานขึ้น เพิ่มระยะเวลาดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย (Ravindran and Kornegay, 1993; Walsh *et al*., 2004) ซึ่งในสุกรระยะอนุบาลระบบทางเดินอาหารยังเจริญและพัฒนาไม่เต็มที่ (Kirchgessner and Roth

1982) การเสริมกรดอินทรีย์ลงในอาหารจึงมีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร (Risley *et al.*, 1992; Radcliffe *et al.*, 1998; Thaela *et al.*, 1998) เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารและปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น (Kirchgessner and Roth, 1976, 1978; Scipioni *et al.*, 1978; Falkowski and Aherne, 1984; Burnell *et al.*, 1988; Radecki *et al.*, 1988; Giesting *et al.*, 1991; Risley *et al.*, 1992; Radcliffe *et al.*, 1998; Walsh *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามจากบางรายงานพบว่า การเสริมกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารสุกร (Scipioni *et al.*, 1978; Burnell *et al.*, 1988; Weakland *et al.*, 1990; Straw *et al.*, 1991; Risley *et al.*, 1992) แม้สมรรถภาพการผลิตจะดีขึ้น เช่นเดียวกับผลการศึกษาในสัตว์ปีก พบว่า การเสริมกรดอินทรีย์ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ (Izat *et al.*, 1990; Mathew *et al.*, 1991; Hernandez *et al.*, 2006) สอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่า LMA ไม่มีผลต่อการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากคุณสมบัติความเป็นบัฟเฟอร์ของอาหาร (Jung and Bolduan, 1986; Bolduan *et al.*, 1988a; Bolduan *et al.*, 1988b) และการปรับตัวทางสรีระวิทยา ซึ่งมีผลต้านการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร ซึ่ง Krause *et al.* (1994) ได้อธิบายไว้ว่า ความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหารที่เพิ่มขึ้นกระตุ้นการหลั่งไบคาร์บอเนต (HCO^-_3) ที่บริเวณลำไส้เล็กและเกิดการย้อนกลับ (Anti-peristalsis) สู่กระเพาะอาหาร ทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตามแม้การเสริม LMA จะไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่ในไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลง เนื่องจาก LMA ที่ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กอาจเคลื่อนมาที่ไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์โดยเฉพาะในกลุ่มที่ผลิตกรดแลกติก นอกจากนี้จุลินทรีย์อาจใช้ LMA เป็นสารตั้งต้นในขบวนการหมักย่อย (Roderick *et al.*, 1997) ทำให้ได้ SCFAs เพิ่มขึ้น (Lewis and Southern, 2001) มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่ง และลำไส้ใหญ่ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่ากรด-ด่างในอาหารและระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.15%	LMA 0.24%	P-value[1]	SEM[2]
อาหาร	5.81 ± 0.09^{A}	5.68 ± 0.13^{B}	5.58 ± 0.15^{B}	0.0013	0.03
กระเพาะอาหาร	3.33 ± 1.69	3.70 ± 1.76	3.55 ± 1.84	0.8950	0.31
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.32 ± 1.11	5.14 ± 1.17	5.47 ± 0.76	0.7744	0.18
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.14 ± 0.38	6.08 ± 0.41	6.27 ± 0.59	0.6668	0.09
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	6.70 ± 0.28	6.57 ± 0.32	6.41 ± 0.45	0.2124	0.07
ไส้ติ่ง	6.20 ± 0.17^{A}	6.07 ± 0.23^{AB}	5.86 ± 0.22^{B}	0.0078	0.05
ลำไส้ใหญ่	6.14 ± 0.15^{A}	5.82 ± 0.20^{B}	5.92 ± 0.14^{B}	0.0006	0.04
ไส้ตรง	6.22 ± 0.23	6.20 ± 0.33	6.17 ± 0.25	0.9182	0.05

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

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

3. ผลการเสริม LMA ในอาหารต่อปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหาร และเชื้อ *Lactobacillus* spp., *E. coli* ใน ไส้ติ่ง และไส้ตรง

ตารางที่ 11 แสดงผลการเสริม LMA ในอาหารต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* พบว่า การเสริม LMA ในอาหารลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหารลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.02) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในบริเวณของไส้ติ่งและไส้ตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหารที่หาได้จากกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 3.97 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร และการเสริม LMA ระดับ 0.15 และ 0.24% มีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ลงเท่ากับ 3.50 และ 3.66 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในอาหารอาจมีสาเหตุมาจากการใช้ปลาป่นในการประกอบสูตรอาหาร เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่มักตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* มากที่สุด (วิเชียร, 2548) Lynn *et al*. (1997) รายงานว่า ปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารมีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 4.7 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร เนื่องจาก *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบการปนเปื้อนได้ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยเฉพาะวัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่ได้มาจากสัตว์ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบได้ในธัญพืชต่างๆ ซึ่งปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหารและน้ำดื่มจะเป็นปัจจัยสำคัญของการปนเปื้อนในระบบทางเดินอาหารและมีผลให้สุกรระยะอนุบาลเสี่ยงต่อการเกิดอาการท้องร่วง (Soderlind *et al.,* 1988) ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต ซึ่งจากรายงานพบว่า อาหารที่มีความเป็นกรดสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และลดการตายเนื่องจากอาการท้องเสียของสุกรระยะอนุบาลได้ (White *et al.,* 1969; Cole *et al.*, 1968; Thomlinson and Lawrence, 1981; Easter, 1988a; Mathew *et al.,* 1991) การเสริม LMA ลงในอาหารมีผลยับยั้งการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค รวมถึงเชื้อ *E. coli* (Doerr *et al.*, 1995; Partanen and Mroz, 1999; Dibner and Buttin, 2002) สอดคล้องกับ Poosuwan *et al.* (2007) ที่รายงานว่าความเข้มข้นของ LMA ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum inhibitory concentration, MIC) ของเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 0.24% ปริมาตรต่อปริมาตร

นอกจากนี้การเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารยังมีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในระบบทางเดินอาหาร (Cole *et al.*, 1968; Thomlinson and Lawrence, 1981; Easter, 1988a; Davidson, 1997; Maribo *et al.*, 2000; Øverland *et al*., 2008) และมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตาม Risley *et al.* (1992) และ Walsh *et al.* (2007) รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ไม่มีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในระบบทางเดินอาหาร สอดคล้องกับผลการทดลองที่เกิดขึ้นในครั้งนี้ซึ่งพบว่า การเสริม LMA ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ

Lactobacillus spp. และเชื้อ *E. coli* ในไส้ติ่งและไส้ตรง เนื่องจากร่างกายมีความสามารถในการรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ อยู่ตลอดเวลา จึงไม่ส่งผลกระทบต่อชนิดและกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Varel and Pond, 1985) นอกจากนี้อาจมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ อายุของสัตว์ ปริมาณอาหารที่ได้รับ สภาพแวดล้อม ตำแหน่งของอวัยวะที่นำมาศึกษา วิธีการตรวจนับและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีผลต่อความแตกต่างของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาได้เช่นเดียวกัน (Gibson and Collins, 1999; Hartemink and Rombouts, 1999)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อ *E. coli* ในอาหารและเชื้อ *Lactobacillus* spp., *E. coli* ในไส้ติ่ง และไส้ตรงของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)

รายการ	บริเวณ	LMA 0.00%	LMA 0.15%	LMA 0.24%	P-value[1]	SEM[2]
E. coli	อาหาร	3.97 ± 0.05 [a]	3.50 ± 0.03 [b]	3.66 ± 0.12 [b]	0.0198	0.09
Lactobacillus spp.	ไส้ติ่ง	9.47 ± 0.57	9.54 ± 0.43	9.39 ± 0.43	0.7797	0.09
	ไส้ตรง	9.46 ± 0.35	9.62 ± 0.33	9.37 ± 0.22	0.2060	0.06
E. coli	ไส้ติ่ง	10.43 ± 0.36	10.62 ± 0.33	10.57 ± 0.46	0.5220	0.07
	ไส้ตรง	9.30 ± 0.49	9.12 ± 0.56	9.27 ± 0.56	0.7079	0.10

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[a และ b] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4. อิทธิพลการเสริม LMA ในอาหารต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short Chain Fatty Acids; SCFAs) ในไส้ติ่ง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่ง แสดงดังตารางที่ 12 พบว่า การเสริม LMA ในอาหารเพิ่มปริมาณกรดอะซิติก (P=0.04) และการเสริม LMA ระดับ 0.15% มีผลเพิ่มปริมาณกรดวาเลอริกเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.02) แต่แตกต่างกับกลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.24% อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามปริมาณกรดโปรปีโอนิกและกรดบิวทีริก พบว่า แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เนื่องจาก SCFAs เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากขบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ ซึ่งพบปริมาณมากที่สุดบริเวณไส้ติ่ง (Jensen and Jøgensen, 1994) โดยมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1 – 62 มิลลิโมลต่อลิตร (อรอนงค์, 2549; van Beer-Schreurs *et al.*, 1998) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ปริมาณ SCFAs อยู่ในระดับที่กำหนดและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับการเสริม LMA (ตารางที่ 12) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระดับความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นในไส้ติ่ง เมื่อพิจารณาสัดส่วนของกรดที่เป็นองค์ประกอบของ SCFAs จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่า สอดคล้องกับ Stevens (1988) ที่รายงานว่า สัดส่วนของกรดอะซิติกมีสูงกว่าโปรปีโอนิกและบิวทีริก ตามลำดับ กลไกการทำงานของ LMA ต่อการเพิ่มปริมาณ SCFAs นั้นอาจเนื่องมาจาก LMA ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์นอกเหนือจาก *Lcatobacillus* spp. เช่น *Megasphaera elsdenii* และ Bifidobacterium ในการผลิต SCFAs เพิ่มขึ้น (Asano *et al*., 1994; Tsukahara *et al*., 2002; Hashizume *et al.,* 2003; Biagi *et al*., 2006) โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจใช้ LMA เป็นสารตั้งต้นโดยตรงในการผลิต SCFAs ในไส้ติ่ง ซึ่งแตกต่างจากการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารที่ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ SCFAs ในระบบทางเดินอาหาร (Varel and Pond, 1985; Risley *et al.*, 1992; Øverland *et al.*, 2008)

นอกจาก SCFAs มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารแล้ว ปริมาณและความเข้มข้นของ SCFAs ที่เพิ่มขึ้นยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากเซลล์เหล่านี้สามารถใช้ SCFAs เป็นแหล่งพลังงานและเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนไม่จำเป็น ดีเอ็นเอและไขมันซึ่งมีความสำคัญกับการพัฒนาและการเจริญของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้ (Mroz, 2005) SCFAs ที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง (Hintz *et al*., 1978; Buguat, 1987) สามารถเคลื่อนที่ย้อนกลับ (Anti-peristalsis) มาที่บริเวณของลำไส้เล็กส่วนปลาย (Hume, 1995) ทำให้เซลล์เยื่อบุผิวบริเวณนั้นมีการแบ่งตัว ขยายขนาดและเพิ่มจำนวนมากขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารบริเวณลำไส้เล็ก นอกจากนี้ SCFAs อีกส่วนยังสามารถเคลื่อนที่มาที่ลำไส้ใหญ่และสามารถแพร่ผ่านผนังลำไส้ (Gädeken *et al*., 1989; Breves *et al*., 1993) มีผลเพิ่มการดูดซึมโซเดียมและน้ำ

กลับเข้าสู่ร่างกาย ช่วยลดการเกิดอาการท้องเสียในสุกรระยะอนุบาล (Argenzio, 1981) อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษากลไกการทำงานของ LMA ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ SCFAs ในระบบทางเดินอาหารเพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจนต่อไป

5. ผลการเสริม LMA ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ผลการเสริม LMA ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ดังตารางที่ 13 พบว่า การเสริม LMA ในอาหารไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความยาววิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.33) และส่วนปลาย (P=0.15) แต่การเสริม LMA ระดับ 0.15% มีผลเพิ่มความยาววิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ในอาหารไม่มีผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความลึกของคริปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.35) และส่วนกลาง (P=0.29) แต่การเสริมLMA ที่ระดับ 0.24% ลดความลึกของคริปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลายลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) และการเสริม LMA ในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.80) และส่วนกลาง (P=0.35) ขณะที่การเสริมLMA ระดับ 0.24% เพิ่มสัดส่วนความสูงบริเวณลำไส้เล็กส่วนปลายอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ความสูงของวิลลัสที่เพิ่มขึ้นและความลึกของคริปท์ที่ลดลงของสุกรระยะอนุบาลมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย (Pluske *et al.*, 1995) ส่งผลปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรให้ดีขึ้น (Patience and Chaplin, 1997) เซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหารสามารถใช้กรดอินทรีย์และ SCFAs เป็นแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนและซ่อมแซมเซลล์ที่ถูกทำลาย (Blank *et al.*, 1999; Mroz,2005) ซึ่งมักพบในสุกรระยะอนุบาล (Pluske *et al*., 1996a) ปริมาณ SCFAs ที่เพิ่มขึ้นจึงช่วยปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหารให้ดีขึ้น (Sakata and Engelhardt, 1983; Mroz, 2005) Galfi and Bokori (1990) และ Frankel *et al.* (1994) รายงานว่า การเสริมกรดบิวทีริกมีผลเพิ่มความสูงวิลลัสในลำไส้เล็ก สอดคล้องกับ Sakata *et al.* (1995) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำไส้ของสุกรในสารละลายที่มีกรดบิวทีริก พบว่า เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.15% มีแนวโน้มเพิ่มความสูงของวิลลัสและความลึกของคริปท์จึงทำให้สัดส่วนของความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปท์เพิ่มขึ้น สาเหตุเนื่องจากปริมาณ SCFAs ที่เพิ่มสูงขึ้นในไส้ติ่ง อาจมีการเคลื่อนที่ย้อนกลับ (Hume, 1995) มายังบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางและส่วนปลายหรือเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้อาจใช้ LMA เป็นแหล่งของพลังงานในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ เนื่องจาก LMA สามารถเคลื่อนที่ซึมผ่าน (Diffusion) เข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง (Dibner and Buttin,

2002) เพราะหากระดับพลังงานที่ไม่เพียงพอภายในเซลล์จะมีผลทำให้เกิดการฝ่อของวิลลัส (van Beers-Schreurs *et al*., 1995) นอกจากนี้สารอนุพันธ์ที่ได้มาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเมทไธโอนีน เช่น ทอรีนและกลูตาไธโอน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ยังมีผลช่วยป้องกันการถูกทำลายและปรับปรุงเซลล์ในระบบทางเดินอาหารให้ดีขึ้นได้อีกด้วย (Lambert, 2004; Roig-Pérez *et al.,* 2005; Shoveller *et al.,* 2005)

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ SCFAsในไส้ติ่ง ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน (มิลลิโมลต่อลิตร)

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.15%	LMA 0.24%	P-value[1]	SEM[2]
กรดอะซิติก	4.83 ± 2.58[b]	10.97 ± 3.62[a]	10.26 ± 6.52[a]	0.0418	1.13
กรดโปรปิโอนิก	4.03 ± 2.33	6.86 ± 2.27	5.92 ± 3.60	0.1850	0.64
กรดบิวทีริก	2.74 ± 1.32	3.70 ± 2.34	2.90 ± 2.33	0.6489	0.43
กรดวาเลอริก	0.04 ± 0.02[b]	0.11 ± 0.02[a]	0.07 ± 0.02[ab]	0.0248	0.01

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[a และ b] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.15%	LMA 0.24%	P-value[1]	SEM[2]
ความสูงวิลลัส (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	438.45 ± 136.42	460.29 ± 140.37	434.60 ± 116.27	0.3308	7.59
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	376.47 ± 102.19^{B}	407.07 ± 84.50^{A}	369.01 ± 82.09^{B}	0.0072	5.27
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	294.92 ± 100.47	317.78 ± 88.42	316.12 ± 86.56	0.1487	5.33
ความลึกของคริปท์ (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	437.90 ± 113.07	462.44 ± 117.38	444.05 ± 141.24	0.3507	7.19
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	291.72 ± 73.00	305.27 ± 67.22	293.15 ± 60.07	0.2920	3.87
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	321.98 ± 93.16^{A}	331.72 ± 78.13^{A}	291.12 ± 76.79^{B}	0.0017	4.88
ความสูงวิลลัส : ความลึกของคริปท์					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1.06 ± 0.42	1.04 ± 0.34	1.07 ± 0.45	0.8021	0.02
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.35 ± 0.48	1.39 ± 0.40	1.31 ± 0.38	0.3479	0.02
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	0.97 ± 0.36^{B}	1.01 ± 0.36^{B}	1.17 ± 0.45^{A}	0.0010	0.02

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[A, B และ C] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

การทดลองที่ 2

การเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ลงในน้ำดื่ม มีผลให้ได้รับเมทไธโอนีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากในอาหารมีระดับเมทไธโอนีนเพียงพอสอดคล้องกับความต้องการของสุกรระยะอนุบาล (จากผลการทดลองที่ 1) ดังนั้น กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ LMA ในการเสริมลงในน้ำดื่มจึงแตกต่างจากการเสริมในอาหาร โดยเฉพาะบทบาทในการเป็นกรดอินทรีย์ ดังจะเห็นได้จากสุกรระยะอนุบาลในกลุ่มที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มมีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์แตกต่างกันอย่างชัดเจนกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มมีผลเพิ่มต้นทุนการผลิต ซึ่งหากพิจารณาจากปริมาณ LMA ในน้ำดื่มเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน พบว่า มีต้นทุนเพิ่มขึ้น 0.37 และ 0.70 บาท ในกลุ่มที่เสริมระดับ 0.05 และ 0.10% ตามลำดับ โดยผลการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มต่อลักษณะที่ทำการศึกษา อธิบายได้ดังต่อไปนี้

1. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิต

การศึกษาผลการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลแสดงในตารางที่ 14 พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.10% มีผลเพิ่มน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (P=0.04) และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (P=0.02) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.05% อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเสริม LMA ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P=0.20) และต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (P=0.20) แต่มีผลเพิ่มปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) ทำให้สุกรได้รับโปรตีน ไลซีนและเมทไธโอนีนจากอาหารเพิ่มขึ้น (P<0.01) และแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการเสริม LMA ทั้ง 2 ระดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำดื่มที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน พบว่า การเสริม LMA มีผลเพิ่มปริมาณน้ำดื่ม (P<0.01) ทำให้สุกรได้รับ LMA และเมทไธโอนีนผ่านทางน้ำดื่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) ตามระดับของ LMA ที่เสริมลงไป

ปริมาณเมทไธโอนีนที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกายเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลสูงสุด เนื่องจากเมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและสามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนทอรีนและกลูตาไธโอนซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Lambert, 2004; Roig-Pérez *et al.,* 2005; Shoveller *et al.,* 2005) การเสริม LMA จึงปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น (Knight *et al.,* 1998; Kim *et al.,* 2006) Yi *et al.* (2006) รายงานว่า ระดับ TSAA สำหรับสุกรน้ำหนัก 11 – 26 กิโลกรัม เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตมีค่าระหว่าง 0.73 – 0.77% และระดับที่ปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าระหว่าง 0.80 – 0.83% ซึ่งมีระดับสูงกว่า NRC (1998) แนะนำไว้ โดยจากการทดลองนี้กำหนดให้ในอาหาร

พื้นฐานมีระดับ TSAA เท่ากับ 0.81% ซึ่งเป็นระดับที่เพียงพอกับความต้องการและมีผลเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลได้ดีที่สุดจากผลการทดลองที่ 1 โดยเมื่อคำนวณเป็นสัดส่วนของ TID TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 61% ดังนั้นการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มจึงมีผลให้สุกรได้รับเมทไธโอนีนเพิ่มขึ้นมีสัดส่วนสูงกว่าที่กำหนดในอาหารแต่มีสัดส่วนไม่เกิน 63% สอดคล้องกับ Wang and Fuller (1989), Gaines *et al.* (2005) และ Peak (2005) ซึ่งรายงานว่า สัดส่วนของ TIDTSAA:Lys สำหรับสุกรระยะอนุบาลมีค่าระหว่าง 60 – 63% นอกจากนี้เนื่องจากLMA มีคุณสมบัติของความเป็นกรดอินทรีย์ จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย (Dibner and Buttin, 2002) การเสริม LMA ในน้ำดื่มจึงอาจทำให้สุกรมีสมรรถภาพการผลิตเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาปริมาณสารอาหารที่สุกรได้รับเฉลี่ยต่อวันพบว่า การเสริม LMAในน้ำดื่มมีผลให้สุกรระยะอนุบาลได้รับโปรตีนและไลซีนจากอาหารเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 14) และอยู่ในระดับที่ NRC (1998) กำหนด เช่นเดียวกับปริมาณเมทไธโอนีน แม้ว่าการเสริม LMA ระดับ 0.15% เพิ่มปริมาณเมทไธโอนีนที่ได้รับจากอาหารเท่ากับ 4.64 กรัมต่อวัน สูงกว่าระดับที่กำหนด (4.60 กรัมต่อวัน) ก็ตาม ซึ่งการที่สุกรได้รับ LMA ผ่านทางน้ำดื่มและกลไกการเกิดปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์สามารถเปลี่ยนไปเป็นเมทไธโอนีนได้ (ชัยภูมิ, 2548) ทำให้สุกรมีสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้น แต่ระดับที่สูงเกินไปย่อมมีผลกระทบต่อสมดุลของกรดอะมิโนและกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ดังนั้น จึงมี LMA ส่วนหนึ่งเท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีนได้ เพื่อตอบสนองตามความต้องการของร่างกาย ส่วนที่เหลือจึงอาจมีบทบาทในการเป็นกรดอินทรีย์เช่นเดียวกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของสุกรในระยะนี้ยังเจริญและพัฒนาไม่เต็มที่ (Easter, 1988b) รวมถึง LMA ยังยับยั้งการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารทำให้สุกรมีสุขภาพดีขึ้น

เมื่อคำนวณปริมาณน้ำดื่มต่ออาหารที่กินของสุกรกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 3.13 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร โดยสูงกว่า English *et al.* (1988) ที่รายงานว่าสุกรรุ่น-ขุน (20-90 กิโลกรัม) ที่ได้รับอาหารเต็มที่จะดื่มน้ำเฉลี่ย 2.5 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับในกลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.05 และ 0.10% นั้น ดื่มน้ำสูงขึ้นและมีสัดส่วนเท่ากับ 4.00 และ 3.84 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ ซึ่งมีรายงานว่า ถ้าสัดส่วนการดื่มน้ำเพิ่มขึ้นถึง 3.5 ลิตรต่อกิโลกรัมอาหารจะมีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Brooks *et al.*, 1986) ซึ่งความต้องการน้ำในแต่ละวันของสุกรมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ความแตกต่างของสัตว์แต่ละตัว ขนาดของร่างกาย ปริมาณอาหารที่กิน สารเสริม สารเคมี รวมถึงยาหรือสารแต่งกลิ่นที่เสริมลงไปในอาหาร โรค สิ่งแวดล้อม ความเครียด ความเป็นกรดในอาหารและชนิดของสัตว์ (Elwyn *et al.*, 1991; Walsh *et al.*, 2007)

จากผลการทดลองพบว่า การเสริม LMA มีผลต่อความเป็นกรดในน้ำดื่มทำให้สุกรมีปริมาณการกินอาหารและดื่มน้ำเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากการมีกลิ่นเฉพาะตัวของ LMA ซึ่งแตกต่างจากกรดอินทรีย์ชนิดอื่นและความเปรี้ยวของกรดจากการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) มีผลกระตุ้นต่อมรับกลิ่น (Olfactory lop) ในโพรงจมูกและตุ่มรับรส (Taste buds) ที่อยู่บริเวณขอบลิ้น (Jensen and Eskilstrup, 1991) ส่งสัญญาณไปสมองส่วนไฮโปทาลามัส ซึ่งเป็นศูนย์ควบคุมการกินอาหาร ทำให้สามารถกระตุ้นการกินอาหารของสุกรได้และส่งผลให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (John, 1976; Forbes, 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ Walsh *et al.* (2007) ที่พบว่า การเสริมกรดอินทรีย์รวมซึ่งประกอบด้วย กรดอะซิติก กรดโปรปิโอนิกและกรดเบนโซอิกในน้ำดื่มมีผลเพิ่มปริมาณการดื่มน้ำและปริมาณการกินอาหารของสุกรระยะอนุบาล นอกจากนี้ความเป็นกรดในอาหารก็มีผลต่อการเพิ่มปริมาณการดื่มน้ำเฉลี่ยต่อวันส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันและน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Patience and Chaplin, 1997) แม้มีรายงานเช่นกันว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มทำให้ปริมาณการกินน้ำของสัตว์ลดลง (Morrow *et al.*, 1995)

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยแบบลีสสแควร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม)	18.60 ± 0.75	18.56 ± 0.69	19.54 ± 0.69	0.5424	0.40
น้ำหนักสิ้นสุดทดลอง (กิโลกรัม)	31.85 ± 1.06^{b}	34.58 ± 0.99^{ab}	35.92 ± 1.00^{a}	0.0409	0.95
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)	12.94 ± 1.06^{b}	15.66 ± 0.99^{ab}	17.01 ± 1.00^{a}	0.0409	0.71
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	311.38 ± 26.90^{b}	377.35 ± 24.90^{ab}	423.00 ± 24.90^{a}	0.0244	17.33
ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)	800.19 ± 27.92^{B}	928.57 ± 25.85^{A}	911.43 ± 25.85^{A}	0.0078	19.25
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	2.70 ± 0.22	2.57 ± 0.21	2.16 ± 0.21	0.2008	0.13
ต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (บาท)	39.96 ± 3.30	38.02 ± 3.05	31.99 ± 3.05	0.2006	1.88

ตารางที่ 14 (ต่อ)

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
ปริมาณโปรตีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากอาหาร (กรัม)	160.04 ± 5.58^{B}	185.71 ± 5.17^{A}	182.29 ± 5.17^{A}	0.0078	3.85
ปริมาณไลซีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากอาหาร (กรัม)	10.80 ± 0.38^{B}	12.54 ± 0.35^{A}	12.30 ± 0.35^{A}	0.0076	0.26
ปริมาณเมทไธโอนีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากอาหาร (กรัม)	4.00 ± 0.14^{B}	4.64 ± 0.13^{A}	4.56 ± 0.13^{A}	0.0081	0.10
ปริมาณน้ำดื่มที่ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (ลิตร)	2.50 ± 0.22^{B}	3.72 ± 0.21^{A}	3.49 ± 0.21^{A}	0.0026	0.17
ปริมาณ LMA ที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากน้ำดื่ม (มิลลิลิตร)	0.00 ± 0.00^{C}	1.86 ± 0.17^{B}	3.49 ± 0.17^{A}	<0.0001	0.34
ปริมาณเมทไธโอนีนที่ได้รับเฉลี่ยต่อวันจากน้ำ (กรัม)	0.00 ± 0.00^{C}	1.64 ± 0.15^{B}	3.07 ± 0.15^{A}	<0.0001	0.30

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

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

$^{a \text{ และ } b}$ อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และเชื้อ *E. coli* ในอาหารและน้ำดื่ม และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำดื่ม

ผลการเสริม LMA ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม แสดงดังตารางที่ 15 พบว่า การเสริม LMA มีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่มลงตามระดับ LMA ที่เสริมลงไปอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) นอกจากนี้การเสริม LMA มีผลลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ($P=0.04$) และจำนวนของเชื้อ *E. coli* อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการเสริมทั้ง 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารมีค่าเท่ากับ 5.89 ± 0.01 และมีปริมาณเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 3.70 ± 0.14 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร อยู่ในระดับที่ Lynn *et al.* (1997) รายงานไว้ ซึ่งพบการปนเปื้อนของ *E. coli* อยู่ระหว่าง 0–4.7 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร ณัฐวุฒิ (2545) รายงานว่าปริมาณเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มเพื่อใช้ในฟาร์มสุกรควรมีค่าไม่เกิน 0.78 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 2.70 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร (NRC, 1998; Meek, 1996) เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในกลุ่มควบคุม พบว่า มีปริมาณเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 2.05 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร สูงกว่าระดับมาตรฐานที่กำหนด แม้ว่าจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมดมีระดับอยู่ต่ำกว่ามาตรฐาน เท่ากับ 2.07 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร เนื่องจาก *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงในน้ำดื่มที่ใช้เลี้ยงสุกร (วิเชียร, 2548) โดยสภาพความเป็นกรด-ด่างในน้ำเท่ากับ 6.0–8.0 จะเหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อ *E. coli* (Tan, 2006) สอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำของกลุ่มควบคุมซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.81 อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มจะมีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ต่ำกว่าระดับที่กำหนด ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำดื่ม (ตารางที่ 15) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Farrell (2004) พบว่า ความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่มที่ระดับ 4.0–5.0 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ เนื่องจากเกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Tan, 2006; Dhawale, 2005) นอกจากนี้ Poosuwan *et al.* (2007) รายงานว่า LMA มีฤทธิ์ในการทำลาย (Bacteriolysis) และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคโดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างหรือมีความเป็นกรด-ด่างสูง (Farrell, 2004) รวมถึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์อีกด้วย (Doerr *et al.,* 1995; Partanen and Mroz, 1999; Enthoven *et al.,* 2002) เนื่องจาก LMA จัดเป็นกรดอินทรีย์สามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนได้บางส่วน (Dibner and Buttin, 2002) โดย LMA ในรูปที่ยังไม่แตกตัวจะสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย แตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนมีผลให้ไซโตซอลมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ระดับของไฮโดรเจนไอออนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ที่อยู่ในไซโตซอล (Lueck, 1980) กลไกการทำงานภายในเซลล์จึงมีการใช้พลังงานเพิ่ม

มากขึ้นเพื่อใช้ในการนำไฮโดรเจนไอออนออกสู่ภายนอกเซลล์เกิดสภาวะพลังงานไม่สมดุล (Energy imbalance) ขึ้นภายในเซลล์ เป็นสาเหตุสำคัญของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Brul and Coote, 1999) ดังนั้น สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ดีขึ้น อาจมาจากการลดลงของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนมากับน้ำดื่มซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียในลูกสุกร (วิเชียร, 2548) สอดคล้องกับการศึกษาของ Adams (2000) ที่รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ลงในน้ำดื่มสามารถลดการเกิดอาการท้องเสียในลูกสุกรได้ ดังนั้นการเติมกรดอินทรีย์จึงช่วยควบคุมและลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มให้ลดลงได้ (Kershaw *et al*., 1966; Thomlinson and Lawrence, 1981; Campbell, 1991) เช่นเดียวกับการเสริม LMA ในน้ำดื่มที่มีผลลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มซึ่งเป็นดัชนีบ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำดื่มที่ดีขึ้นและลดการเกิดอาการท้องร่วงในสุกรระยะอนุบาล

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเป็นกรด-ด่าง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *E. coli* ในน้ำดื่มของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.81 ± 0.03 ^{A}	3.68 ± 0.04 ^{B}	3.37 ± 0.02 ^{C}	<0.0001	0.47
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)	2.08 ± 0.43 ^{a}	0.86 ± 0.67 ^{b}	1.06 ± 0.70 ^{b}	0.0412	0.23
E. coli (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)	2.05 ± 0.63 ^{A}	0.10 ± 0.20 ^{B}	0.30 ± 0.59 ^{B}	0.0008	0.30

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

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

$^{a \text{ และ } b}$ อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 16 แสดงผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร พบว่า มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) อย่างไรก็ตามที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเล็กน้อย (P=0.26)

การเสริมกรดอินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการลดความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร (Radcliffe *et al*., 1998) มีผลให้อาหารอยู่ในกระเพาะอาหารนานขึ้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร (Walsh *et al*., 2004) แตกต่างจากผลการศึกษาในครั้งนี้ที่การเสริม LMA ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งอาจเนื่องมาจากช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ชนิดของอาหาร (Walsh *et al*., 2004) การปรับตัวทางสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหาร (Izat *et al*., 1990; Mathew *et al*., 1991; Hernandez *et al*., 2006) และความเป็นบัฟเฟอร์ในอาหาร (Prohaszka and Baron, 1980; Jung and Bolduan, 1986; Bolduan *et al*., 1988a; Bolduan *et al*., 1988b; Roth and Kirchgessner, 1989) ทำให้ต้านการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร เช่นเดียวกับการศึกษาของ Risley *et al.* (1992) ที่เสริมกรดอินทรีย์ลงในอาหารของสุกรหลังหย่านมแล้วไม่พบการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

อย่างไรก็ตามยังไม่พบการศึกษาผลการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล ดังนั้นจึงยังไม่มีการอธิบายกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ LMA ในน้ำดื่มต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล แต่จากผลการทดลองพบว่า การเสริม LMA ลงในน้ำให้ผลเช่นเดียวกันกับการเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มสุกรระยะอนุบาล โดย Cole *et al.* (1968) รายงานว่า การเสริมกรดแลกติกลงในน้ำดื่มมีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันและปรับปรุงประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวให้ดีขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Daniels (1983) ที่ทำการเสริมกรดโปรปิโอนิกลงในน้ำดื่มแล้วพบว่า สุกรระยะอนุบาลมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 2 กิโลกรัม ต่อมาได้มีการศึกษาผลการเสริมกรดอินทรีย์รวมหลายชนิดเนื่องจากการมีคุณสมบัติในการแตกตัวที่ต่างกันลงในน้ำดื่ม โดยการศึกษาของ Morrow *et al.* (1995) และ Walsh *et al.* (2007) พบว่า การเสริมกรดอินทรีย์รวมในน้ำดื่มมีผลกระตุ้นให้ลูกสุกรมีแนวโน้มกินอาหารเพิ่มมากขึ้น ทำให้เพิ่มอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันและปรับปรุงประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวให้ดีขึ้น ตามลำดับ แต่การเสริมกรดอินทรีย์ลงในอาหารและน้ำดื่มร่วมกันกลับมีผลให้สุกรระยะอนุบาลมีปริมาณการดื่มน้ำและการกินอาหารลดลง เนื่องจากความเป็นกรดที่สูงจนเกินไปส่งผลต่อความน่ากินของอาหารลดลง จากการทดลองนี้จึงอาจกล่าวได้ว่าการเสริม LMA ระดับ 0.10% ในน้ำดื่มมีผลช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น

4. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในไส้ติ่ง

ตารางที่ 17 แสดงผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาล พบว่า การเสริม LMA ในน้ำดื่มมีผลต่อความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. (P=0.35) และ *E. coli* (P=0.80) ในไส้ติ่ง

ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาล (ตารางที่ 17) มีค่าใกล้เคียงกับ Risley (1992) ที่รายงานว่า ในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลมีจำนวนเชื้อ *Lactobacillus* spp. ระหว่าง 7.0 - 9.0 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร และจำนวนเชื้อ *E. coli* ระหว่าง 5.0 -7.0 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารขึ้นอยู่กับอายุและอาหารที่สัตว์กินเข้าไป นอกจากนี้ปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารยังมีมากในบริเวณระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย การทดลองครั้งนี้พบว่า แม้การเสริม LMA ในน้ำดื่มสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ แต่กลับไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp., *E. coli* และค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งให้เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายผลการศึกษาในครั้งนี้ได้อย่างแน่ชัด สอดคล้องกับการศึกษาของ Risley *et al.* (1992) และ Walsh *et al.* (2007) ซึ่งพบว่า การเสริมกรดอินทรีย์รวมในน้ำดื่มไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp., *E. coli* และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในมูลของสุกรระยะอนุบาล เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์มีความสามารถรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างให้คงที่อยู่ตลอดเวลา การเสริมกรดอินทรีย์จึงไม่มีผลกระทบต่อปริมาณและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Varel and Pond, 1985)

อย่างไรก็ตามนอกจากเชื้อ *Lactobacillus* spp. แล้วยังมีเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์อื่นๆ อีกหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เช่น Bifidobacterium, Bacillus, Streptococcus และยีสต์ เป็นต้น (Macfarlane and Gibson, 1995; Franklin *et al.*, 2002) ซึ่งสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่เพิ่มขึ้น อาจเกิดเนื่องมาจากกิจกรรมและผลผลิตที่จุลินทรีย์เหล่านี้สร้างขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาผลของ LMA ต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ชนิดอื่นๆ ต่อไป

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
กระเพาะอาหาร	4.60 ± 0.35	3.83 ± 1.41	4.58 ± 0.43	0.4550	0.27
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.70 ± 0.35	5.50 ± 0.18	5.50 ± 0.32	0.5997	0.08
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.75 ± 0.26	6.28 ± 0.53	6.35 ± 0.39	0.2626	0.12
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	6.80 ± 0.08	6.90 ± 0.08	6.80 ± 0.36	0.7580	0.06
ไส้ติ่ง	5.98 ± 0.10	6.13 ± 0.15	5.88 ± 0.17	0.1171	0.05
ลำไส้ใหญ่	6.08 ± 0.22	6.13 ± 0.15	6.05 ± 0.06	0.7965	0.04
ไส้ตรง	6.13 ± 0.31	6.03 ± 0.30	6.00 ± 0.16	0.7855	0.07

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยและสวนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *E. coli* ในไส้ติ่ง ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน (Log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร)

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
Lactobacillus spp.	8.39 ± 0.40	8.65 ± 0.29	8.36 ± 0.10	0.3535	0.09
E. coli	6.84 ± 0.68	7.26 ± 1.15	6.88 ± 1.05	0.8023	0.26

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

5. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่ง

ตารางที่ 18 แสดงผลการเสริม LMA ต่อปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่ง พบว่า การเสริม LMA ในน้ำดื่มมีผลลดปริมาณกรดอะซิติกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และลดปริมาณกรดโปรปิโอนิก ($P=0.18$) กรดบิวทีริก ($P=0.51$) และกรดวาเลอริก ($P=0.69$) ในไส้ติ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเล็กน้อย

การเปลี่ยนแปลงปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่ง เกิดขึ้นเนื่องจากขบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ โดยใช้สารอาหารที่ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กเป็นสารตั้งต้น (Hintz *et al*., 1978; Buguat, 1987) Etheridge *et al*. (1984) กล่าวว่า อาหารที่มีการย่อยได้ต่ำมีผลเพิ่มกิจกรรมการทำงานของจุลินทรีย์ในการหมักย่อยและทำให้ได้ SCFAs มากขึ้น นอกจากนี้การที่วิลลัสในบริเวณลำไส้เล็กถูกทำลายก็มีผลทำให้สารอาหารผ่านมาถึงบริเวณไส้ติ่งมากขึ้นและสร้าง SCFAs เพิ่มขึ้น (Bergman, 1990) โดยความเครียดจากการเปลี่ยนอาหารและจัดกลุ่มใหม่มักเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการฝ่อของวิลลัสในสุกรระยะอนุบาล (Pluske *et al.*, 1997) ทำให้ดูดซึมสารอาหารได้ลดลง จากการทดลองพบว่า การเสริม LMA ในน้ำดื่มมีผลลดปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่งลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาร่วมกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กพบว่า LMA เพิ่มความสูงวิลลัสทำให้สามารถย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น จึงมีสารตั้งต้นเพื่อใช้สำหรับขบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ลดลง ดังนั้นการเสริม LMA ลงในน้ำดื่มจึงมีผลลดปริมาณ SCFAs ในไส้ติ่ง

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ SCFAs ในไส้ติ่งของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน (มิลลิโมลต่อลิตร)

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
กรดอะซิติก	58.91 ± 5.07[A]	38.11 ± 8.44[B]	44.31 ± 6.98[B]	0.0063	3.20
กรดโปรปิโอนิก	38.72 ± 7.01	27.95 ± 10.47	27.98 ± 8.07	0.1825	2.72
กรดบิวทีริก	19.48 ± 6.83	14.47 ± 7.79	13.44 ± 8.03	0.5083	2.13
กรดวาเลอริก	1.60 ± 0.47	1.59 ± 1.17	1.14 ± 0.73	0.6857	0.23

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

6. ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก แสดงดังตารางที่ 19 พบว่า การเสริม LMA เพิ่มความสูงวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.02) และส่วนปลาย (P=0.01) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลาง พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.10% เพิ่มความสูงวิลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.04) อย่างไรก็ตามการเสริม LMA มีผลต่อความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติของความลึกของคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.36) ส่วนกลาง (P=0.29) และส่วนท้าย (P=0.28) และสัดส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (P=0.19) แต่การเสริม LMA ระดับ 0.10% มีผลให้สัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกคริปท์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.03) และการเสริม LMA ระดับ 0.05% เพิ่มสัดส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลายสูงกว่ากลุ่มที่เสริม LMA ระดับ 0.10% และกลุ่มควบคุมตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

กรดอินทรีย์และ SCFAs มีผลปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกร (Sakata and Engelhardt, 1983; Galfi and Bokori, 1990; Frankel *et al.*, 1994; Sakata *et al.*, 1995; Blank, 1999) เนื่องจากเซลล์เยื่อบุผิวสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในขบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ (Blank *et al.*, 1999; Mroz, 2005) สอดคล้องกับ Xia *et al.* (2004) และ Pelicano *et al.* (2005) ที่รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์มีผลเพิ่มความสูงวิลลัสของลำไส้เล็ก นอกจากนี้ McCracken (1984) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารอาหารที่ถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์มากกว่าอิทธิพลของตัวกระตุ้นอื่นๆ แต่ถ้าวิลลัสถูกทำลายก็ทำให้ประสิทธิภาพการดูดซึม SCFAs ไปใช้ประโยชน์ได้ลดลง จากการทดลองพบว่า การเสริม LMA เพิ่มความสูงวิลลัสในลำไส้เล็กทำให้ย่อยและดูดซึมสารอาหารได้เพิ่มขึ้น เนื่องจาก LMA สามารถแพร่ผ่านเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหารได้ (Dibner and Buttin, 2002) จึงเป็นแหล่งพลังงาน สารตั้งต้นของเมทไธโอนีนและสารสำคัญอื่นๆ อีกหลายชนิดภายในเซลล์ (Brosnan *et al.*, 2007) ซึ่งอาจมีผลต่อการแบ่งตัว เพิ่มจำนวนและขยายขนาดของเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้เล็ก จึงอาจสรุปได้ว่า การเสริม LMA ในน้ำดื่มมีผลช่วยปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น

จากผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้น อาจสรุปได้ว่า 1) LMA มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุผิวเนื่องจากเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน 2) สารอนุพันธ์ที่ได้มาจาก LMA เช่น ทอรีนและกลูตาไธโอน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในลำไส้ (Lambert, 2004; Roig-Pérez *et al.,* 2005; Shoveller *et al.,*

2005) และ 3) เนื่องจาก LMA มีคุณสมบัติในการเป็นกรดอินทรีย์ ดังนั้นการเสริม LMA จึงอาจมีแนวโน้มลดค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยและดูดซึม นอกจากนี้ยังช่วยปรับสภาวะให้เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลกติกให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะสามารถผลิต SCFAs (Asano *et al*., 1994; Biagi *et al*., 2006) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหารต่อไป (Mroz, 2005) ส่งผลให้สุกรระยะอนุบาลมีสมรรถภาพการผลิตเพิ่มขึ้น ดังนั้น การเสริม LMA ลงในน้ำดื่ม จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลได้

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะสัณฐานวิทยาในลำไส้เล็กของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับ LMA เสริมในน้ำดื่มที่ระดับแตกต่างกัน

รายการ	LMA 0.00%	LMA 0.05%	LMA 0.10%	P-value[1]	SEM[2]
ความสูงวิลลัส (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	364.80 ± 23.09[b]	434.30 ± 35.87[a]	433.08 ± 36.68[a]	0.0221	12.96
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	437.29 ± 50.25[b]	452.38 ± 48.67[b]	576.91 ± 80.42[a]	0.0433	26.14
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	240.59 ± 13.27[b]	389.92 ± 73.99[a]	357.91 ± 39.40[a]	0.0140	23.79
ความลึกของคริปท์ (ไมโครเมตร)					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	463.98 ± 46.83	389.92 ± 79.16	488.35 ± 137.58	0.3587	27.96
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	366.65 ± 48.31	368.44 ± 24.18	330.49 ± 16.04	0.2935	10.46
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	299.91 ± 72.05	229.58 ± 56.45	271.07 ± 34.82	0.2809	17.16
ความสูงวิลลัส : ความลึกของคริปท์					
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.82 ± 0.16	1.22 ± 0.23	1.00 ± 0.39	0.1910	0.09
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.25 ± 0.20[b]	1.27 ± 0.20[b]	1.81 ± 0.31[a]	0.0362	0.11
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	0.86 ± 0.20[C]	1.80 ± 0.21[A]	1.38 ± 0.09[B]	0.0003	0.13

หมายเหตุ [1] P-value เป็นค่า P ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ในการทดลอง

[2] SEM คือ Standard error of mean

[A, B และ C] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

[a และ b] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ต่อสมรรถภาพกาผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาล โดยการเสริมลงในอาหารและน้ำดื่ม พบว่า การเสริม LMA ระดับ 0.15% ลงในอาหารมีผลให้สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลดีขึ้น เนื่องจาก ทำให้ระดับของเมทไธโอนีนในอาหารในรูปสัดส่วนของ TSAA : Lys มีค่าเท่ากับ 60% สอดคล้องกับ ความต้องการของร่างกาย ขณะที่การเสริม LMA ระดับ 0.10% เพิ่มลงในน้ำดื่มมีผลปรับปรุงสมรรถภาพ การผลิตของสุกรระยะอนุบาลให้ดีขึ้น โดยมีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างจากการเสริมในอาหาร และการ เสริม LMA ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารและน้ำดื่มลดลงมีผลลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ใน อาหารและน้ำดื่ม นอกจากนี้การเสริมในอาหารมีผลลดค่าความเป็นกรด-ด่างในไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ เนื่องจากจุลินทรีย์อาจใช้ LMA ในการหมักย่อยให้ได้ SCFAs เพิ่มขึ้น ขณะที่การเสริมในน้ำดื่มไม่มีผลลด ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ไม่มีผลต่อความแตกต่างของ ปริมาณเชื้อในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากสัตว์จะรักษาสมดุลของกรด-ด่างให้คงที่อยู่ตลอดเวลา เพื่อให้ เอนไซม์สามารถทำงานได้ปกติ ดังนั้นจึงไม่ส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

การเสริม LMA ในอาหารมีผลทำให้ความเข้มข้นของ SCFAs ในไส้ติ่งเพิ่มขึ้น เนื่องจากแบคทีเรีย ที่มีประโยชน์อาจใช้ LMA เป็นสารตั้งต้นในการผลิต SCFAs นอกจากนี้ความเป็นกรดในอาหารยังอาจทำ ให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ แต่การเสริมในน้ำดื่มกลับมีผลลด ความเข้มข้นของ SCFAs ในไส้ติ่ง เนื่องจากการความสูงวิลลัสที่เพิ่มขึ้นมีผลเพิ่มการย่อยและดูดซึม สารอาหารเข้าสู่เซลล์ ทำให้ลดปริมาณสารตั้งต้นเพื่อใช้ในขบวนการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง อย่างไรก็ตามการเสริม LMA ในอาหารและน้ำดื่มมีผลเพิ่มความสูงวิลลัส เนื่องจากเซลล์สามารถใช้ LMA เป็นแหล่งพลังงานภายในเซลล์โดยตรงหรืออาจเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีนและสารสำคัญอื่นๆ ซึ่งมีผลต่อ การแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวในระบบทางเดินอาหาร

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอค (LMA) ต่อสมรรถภาพการผลิต นิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรระยะอนุบาลในครั้งนี้มีข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. การเสริม LMA ในอาหารสุกรระยะอนุบาลเพื่อให้มีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้นควรพิจารณาในรูปสัดส่วนของ TSAA : Lys ที่สอดคล้องกับความต้องการของร่างกาย

2. การเสริม LMA ในน้ำดื่มระดับที่สูงขึ้นทำให้สุกรระยะอนุบาลมีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้น แต่เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาผลการศึกษาผลการเสริม LMA ในน้ำดื่มสุกรระยะอนุบาลมาก่อน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาหาระดับที่เหมาะสมในการเสริม LMA ในน้ำดื่มต่อไป

3. การเสริม LMA ในอาหารและน้ำดื่มมีผลเพิ่มความสูงวิลลัสในบริเวณต่างๆ ของลำไส้เล็ก จึงเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาค่าการย่อยได้จริงที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย (True ileal digestibility) และกลไกการทำงานของ LMA ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก รวมถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ SCFAs ในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาล เพื่อหาข้อสรุปต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

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

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

ชาญวิทย์ วัชรพุกก์. 2539. **สรีรวิทยาสภาพแวดล้อมของสัตว์เลี้ยงในเขตร้อน.** โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรงเทพฯ.

ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2548. **การใช้โปรตีนและกรดอะมิโนในสัตว์กระเพาะเดี่ยว.** สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรงเทพฯ.

ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์. 2545. การศึกษา : ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ อี โคไล ในน้ำดื่มสุกรแม่พันธุ์, น. 57-77. *ใน* ปริวรรต พูลเพิ่ม, ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์, สมเกียรติ พันธ์ธรรม, อลงกต บุญสูงเนิน, วิเชียร นวสกุลจินดา และ ชลลดา อานันท์รัตนกุล, บรรณาธิการ. **ทันโรคทันเหตุการณ์กับการเลี้ยงสุกร ครั้งที่ 4.** บริษัท ดาต้า เปเปอร์ แอนด์ พริ้นท์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

นวลจันทร์ พารักษา และ สินชัย พารักษา. 2544. **เทคนิคการผลิตอาหารสัตว์ชั้นสูง.** โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2546. **โภชนะศาสตร์สัตว์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. หจก. ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่.

พงษ์ทิพย์ โกเมศโสภา และ ธนานิช เสือวรรณศรี. 2534. **เคมีพื้นฐาน**. สำนักพิมพ์ยูไนเต็ดท์บุ๊คส, กรุงเทพฯ.

พรพรรณ รัตนนาคินทร์. 2540. **อินทรีย์เคมี.** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาสษสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

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

วิเชียร นวสกุลจินดา. 2548. อีโคไล ตัวซ้ำเติมเพิ่มความรุนแรงของปัญหา, น. 29-47. *ใน* ปริวรรต พูลเพิ่ม, ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์, สมเกียรติ พันธ์ธรรม, อลงกต บุญสูงเนิน, วิเชียร นวสกุลจินดา และ ชลลดา อานันท์รัตนกุล, บรรณาธิการ. **ทันโรคทันเหตุการณ์กับการเลี้ยงสุกร ครั้งที่ 4.** บริษัท ดาต้า เปเปอร์ แอนด์ พริ้นท์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

สาโรช ค้าเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง.** หจก. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.

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

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

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

อาภัสสรา ชมิดท์. 2543. **ชีวเคมี.** พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

อาวุธ ตันโช, นภาพันธ์ ปิยะเสถียร และ รุจริน ลิ้มศุภวานิช. 2540. ผลการเสริมกรดฮิวมิกต่อลักษณะการเจริญเติบโตของสุกรในระยะรุ่น และระยะขุน, น. 64-70. *ใน* **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 (สาขาสัตว์).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อาสูตร สงวนเกียรติ, ประพฤกษ์ ตั้งมั่นคง, ธวัชชัย ศักดิ์ภู่อร่าม และ สุวิชา เกษมสุวรรณ. 2550. **คู่มือปฏิบัติการสุขศาสตร์อาหารและน้ำนม.** โครงการตำรา งานบริการการศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรงเทพฯ.

อรอนงค์ มูลธง. 2549. **ผลของการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อการหมักย่อยในลำไส้ กลูตาไธโอน และภูมิคุ้มกันในสุกรระยะรุ่น.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

Adams, A.C. 2000. **Acidifiers Important Components of Pig Feeds.** Kemin Industries (Asia) Pte Limited, Inc., USA.

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

ARC. 1981. **The Nutrient Requirements of Pigs.** Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, UK.

Argenzio, R.A. 1981. Short-chain fatty acids and the colon. **Dig. Dis. Sci.** 26: 97-99.

_____. 1993. Digestion and absorption of carbohydrate, fat, and protein, pp. 362-374. *In* M.J. Swenson and W.O. Reece, eds. **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 11th ed. Comstock, Ithaca, New York.

Asano, T., K. Yuasa, K. Kunugita, T. Teraji and T. Mitsuoka. 1994. Effects of gluconic acid on human faecal bacteria. **Microb. Ecol. Health Dis**. 7: 247–256.

Austic, R.E. and M.C. Nesheim. 1971. Arginine, ornithine and proline metabolism of chicks: Influence of diet and heredity. **J. Nutr.** 101: 1403-1413.

Baker, D.H. and G.L. Czarnecki. 1985. Transmethylation of homocysteine to methionine efficiency in the rat and chick. **Poult. Sci**. 115: 1291-1299.

Baker, D.H. and K.P. Boebel. 1984. Utilization of the D-isomers of arginine and histidine by chicks and rats. **J. Anim. Sci.** 53: 125-129.

Bergman, E.N. 1990. Energy contribution of volatile fatty acid from the gastrointestinal tract in various species. **Physiol. Rev**. 70: 567-590.

Biagi G., A. Piva, M. Moschini, E. Vezzali and F. X. Roth. 2006. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. **J. Anim. Sci.** 84: 370-378.

Blank, R., R. Mosenthin, W.C. Sauer and S. Huang. 1999. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. **J. Anim. Sci.** 77: 2974-2984.

Blevins, J.E., P.S. The, C.X. Wang and D.W. Gietzen. 2003. Effects of amino acid deficiency on monoamines in the lateral hypothalamus (LH) in rats. **Nutr. Neurosci.** 6: 291-299.

Boebel, K.P. and D.H. Baker. 1982. Efficacy of calcium salt and free acid forms of methionine hydroxyl analog for chicks. **Poult. Sci.** 61: 1167-1175.

Bolduan, G., H. Jung and R. Schneider. 1988a. Rye and wheat in piglet rations supplemented by bisergon. **Arch. Tierernahr.** 38: 183–191.

_____, H. Jung, E. Schnabel and R. Schneider. 1988b. Recent advances in the nutrition of weaner pigs. **Pig News Inf.** 9: 383-385.

Brachet, P. and A. Puigserver. 1987. Transport of methionine hydroxy analog across the brush border membrane of rat jejunum**. J. Nutr.** 117: 1241-1246.

Breves, G., E. Schulz, H. P. Sallmann and D. Gädeken. 1993. The application of ^{13}C-labelled short chain fatty acids to measure acetate and propionate production rates in the large intestines. Studies in a pig model. **Zeitschrift für Gastroenterigie**. 31: 179-182.

Brooks,P.H, S.J. Russel, and J.L. Carpenter. 1984. Dealing with water concerns for pork production. **Vet. Rec**. 115: 513.

_____, _____ and _____. 1986. **Diss and Caythrope Pig Conference.** Meat and Livestock Commission, London.

Brosnan, J.T. and M.E. Brosnan. 2006. The sulfur-containing amino acids: an overview. **J. Nutr.** 136: 1636S-1640S.

_____, _____, R.F.P. Bertolo and J.A. Brunton. 2007. Methionine: A metabolically unique amino acid. **Live. Sci.** 112: 2-7.

Brul, S. and P. Coote. 1999. Preservative agents in foods, mode of action and microbial resistance mechanisms. **Intl. J. Food Micro.** 50: 1-17.

Buguat, M. 1987. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. **Com. Bio. Physio.** 86(B): 439-472.

Burnell, T.W., G.L. Gromwell and T.S. Stahly. 1988. Effects of dried whey and copper sulfate on the growth responses to organic acid in diets for weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 66: 1100-1108.

Buttin, P. 1999. Acidification advantage of analogue methionine. **Int. Pig Topcs.** 14(7): 27.

Byed, J.A., B.M. Hargis, D.J. Caldwell, R.H. Bailey, K.L. Herron, J.L. Mc RayNolds, R.L., Brewer, R.C. Anderson, K.M. Bischoff, T.R. Callaway and L.F. Kubena. 2001. Effect of lactic acid administration in drinking water during preslaughter feed withdrawal on Salmonella and Campylobacter contamination of broilers. **Poul. Sci.** 80: 278-283.

Campbell, R.G. 1991. Digestive constraints in the young pig : implications on postweaning performance and health, pp. 189-197. *In*: T.P. Lyons, ed. **Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's Seventh Annual Symposium.** Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky.

Cera, K. R., D. C. Mahan, R. F. Cross, G. A. Reinhart and R. E. Whitmoyer. 1988. Effect of age,weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **J. Anim. Sci.** 66: 574-584.

Chung, T.K. and D.H. Baker. 1992a. Utilization of methionine isomers and analogs by the pig. **Can. J. Anim. Sci.** 72: 185-188.

_____ and D. H. Baker. 1992b. Methionine requirement of pigs between 5 and 20 kilograms body weight. **J. Anim. Sci.** 70: 1857–1863

Cole, B.J.A., R.M. Beal and J.R. Luscombe. 1968. The effect on performance and bacterial flora of lactic acid, propionic acid, calcium propionate and calcium acrylate in the drinking water of weaned pigs. **Vet. Rec.** 83: 459-464.

Cranwell, P.D., and D. A. Titchen. 1974. Gastric secretion in newly born pigs. **Res. Vet. Sci.** 16: 105–107.

_____. 1985. The development of acid and pepsin (EC 3.4.23.1) secretory capacity in the pig : The effect of age and weaning 1. Study inn anaesthetized pigs. **Br. J. Nutr.** 54: 305-320.

Daniels, C.N. 1983. Control of post-weaning diarrhea in pigs by water acidification. **Modern Veterinary Practice.** p. 1004.

David, H.R., T.Y. Clyde and E.J. Evan. 1984. The use of low protein liquid diets to determine the methionine requirement and the efficacy of methionine hydroxy analog for the three-week-old-pig. **J. Nutr.** 114: 1705-1715.

Davidson, P.M. 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, pp. 520–556. *In* M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T.J. Montville, eds. **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers.** Am. Soc. Microbiol., Washington, DC.

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

D'Mello, J.P.F. 2003. **Amino Acids in Animal Nutrition.** 2nd ed. CABI Publishing, London.

Delost, M.D. 1997. **Introduction to Diagnostic Microbiology A Text Ad Workbook.** Mosby-Year Book, Inc, Ohio, USA.

Dhawale, A. 2005. Better eggshell quality with gut acidifier. **Poult. Int.** 44 (4): 18-21.

Dibner, J.J. and C.D. Knight. 1984. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid to L-methionine in the chick: a stereospecific pathway. **J. Nutr.** 114: 1716-1723.

_____ and Buttin, P. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **J. Appl. Poult. Res.** 11: 453-463.

_____. 2003. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid. **World. Poul. Sci.** 59: 99-110.

Doerr, J.A., F.A. Attard, E.A. Doerr, and W.W. Robey. 1995. Possible anti-fungal effects of hydroxy-methylthio-butanoic acid (HMB). **Poult. Sci.** 74(Suppl. 1): 23.

Easter, E.A. 1988a. Biochemical acid in gastrointestinal development, pp. 256-266. *In* J.P. Lyone, ed. **Biotechnology in Feed Industry.** Alltech Publication, Urbana, lllinois.

_____. 1988b. Acidification of diets for pigs. *In* W. Haresign and D.J.A. Cole, eds. **Recent Advances in Animal Nutrition.** Butterworths, London.

Edmonds, M.S. and D.H. Baker. 1987. Amino acid excesses for young pigs: Effects of excess methionine, tryptophan, threonine or leucine. **J. Anim. Sci.** 64: 1664-1671.

Elwyn, R.M., E.U. Duane and J.L. Austin. 1991. **Swine Nutrition**. Butterworth-Heinemann, United States.

English, P.R., V.R. Fowler, S. Baxter and B. smith. 1988. **The Growing and Finishing Pig: Improving Efficiency**. Farming Press, UK.

Enthoven, P., S. van den Hoven and A. van Dijk. 2002. Antibacterial properties of 2-hydroxy-4-(methylthio) butyric acid (HMB, Alimet). *In* **Proceeding of The European Association for Animal Production (EAAP)**. El Cairo, Roma, Itary.

Etheridge, R.D., R.W. Seerley and T.L. Huber. 1984. The effects of diet on faecal moisture, osmolarity of faecal extracts, products of bacterial fermentation and loss of minerals in feces of weaned pigs. **J. Anim. Sci.** 58: 1403–1411.

Falkowski, J.F. and F.X. Aherne. 1984. Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition. **J. Anim. Sci.** 58: 935-938.

Farrell, C. 2004. Controlling *E. coli* in the weaned pig, pp. 137-140. *In* J.M. Murphy, T.M. Kane, C.F.M. de Lange, eds. **London Swine Conference.** London, Ontario.

Finkelstein, J.D. 1990. Methionine metabolism in mammals. **J. Nutr. Biochem.** 1: 228-237.

_____. 2006. Inborn errors of sulfur-containing amino acid metabolism. **J. Nutr.** 136: 1750S-1754S.

Forbes, J.M. 2000. Physiological and metabolic aspects of feed intake control, pp. 319-333. *In* J.P.E. Mello, ed. **Farm Animal Metabolism and Nutrition.** CABI Publishing, New York.

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

Frankel, W.L., W. Zhang, A. Singh, D.M. Klurfeld, S. Don, T. Sakata, I. Modlin, and J.L. Rombeau. 1994. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. **Gastro**. 106: 375–380.

Franklin, M.A., A.G. Mathe, J.R. Vickers and R.A. Clift. 2002. Characterization of microbial population and volatile fatty acid concentrations in jejunum ileum, and caecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. **J. Anim. Sci.** 80: 2904-2910.

Fu, S.X., A.M. Gaines, B.W. Ratliff, P. Srichana, G.L. Allee, and J.L. Usry. 2004. Evaluation of the true ileal digestible (TID) lysine requirement for 11 to 29 kg pigs. **J. Anim. Sci.** 82(Suppl. 1): 294 (Abstr.).

Gädeken, D., G. Breves and H.J. Oslage. 1989. Efficiency of energy utilization of intracaecally infused volatile fatty acids in pigs, pp. 115-118. *In* **Energy Metabolism of Farm Animals.** Pudoc Publication No. 43, Wageningen: EAAP, Roma, Itary.

Gaines, A.M., D.C. Kendall, G.L. Allee, M.D. Tokach, S.S. Dritz, and J.L. Usry. 2003. Evaluation of the true ileal digestible (TID) lysine requirement for 7 to 14 kg pigs**. J. Anim. Sci.** 81(Suppl. 1): 549 (Abstr.).

_____, G.F. Yi, B.W. Ratliff, P. Srichana, D.C. Kendall, G.L. Allee, C.D. Knight and K.R. Perryman. 2005. Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible sulfur amino acids:lysine in 8- to 26-kg nursery pigs. **J. Anim. Sci.** 83: 2527-2534.

Galfi, P., and J. Bokori. 1990. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. **Acta Vet. Hungarica.** 38: 3-17.

Gauthier, R. 2005. Organic acid and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoter in poultry. **Forum International The Agriculture 17-19 August 2005.** Foz do lguacu PR, Brazil.

Gibson, G.R. and M.D. Collins. 1999. Concept of balance colonic microbiota, prebiotics and synbiotics, pp. 139-153. *In* L.A. Hanson and H. Robert, eds. **Probiotic Other Nutrition Factor and Intestinal Microflora.** Lippincott-Raven Publisher, Philadelphai.

Giesting, D.W. and R.A. Easter. 1985. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. **J. Anim. Sci.** 60: 1288-1294.

_____, M.A. Roos and R.A. Easter. 1991. Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition on performance of starter pigs fed diets of different types. **J. Anim. Sci.** 69: 2489-2496.

Hampson, D.J. and D.E. Kidder. 1986. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine. **Res. Vet.Sci.** 40(1): 24-31.

Harper, A.E. and Q.R. Rogers. 1965. Amino acid diets and maximal growth in the rat. **J. Nutr**. 87: 267-73.

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

Hashizume, K., T. Tsukahara, K. Yamada, H. Koyama and K. Ushida. 2003. *Megasphaera elsdenii* JCM1772T normalizes hyper lactate production in the large intestine of fructooligosaccharide-fed rats by stimulating butyrate production. **J. Nutr.** 133: 3187–3190.

Hernandez, F., V. Garcia, J. Madrid, J. Orengo, P. Catala and M.D. Megias. 2006. Effect of formic acid on performance, digestibility, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chicken. **Br. Poult. Sci.** 47: 50-67.

Hintz, H.F., H.F. Schryver and C.E. Stevens. 1978. Digestion and absorption in the hindgut of nonruminant herbivores. **J. Anim. Sci.** 46: 1803-1807.

Hume, I.D. 1995. Flow dynamic of digesta and colonic fermentation, pp. 119-132. *In* J.H. Cummings, J.L. Rombeau and T. Sakata, eds. **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids.** Cambridge University Press, British, United Kingdom.

Izat, A.L., N.M. Tidwell, R.A. Thomas, M.A. Reiber, M.H. Adams, M. Colberg, and P.W. Waldroup. 1990. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on the microflora of the intestine and carcass. **Poult. Sci.** 96: 818-826.

Jensen, S.N. and K.R. Eskilstrup. 1991. Feed quality and aroma of feed. **Feed Magazine.** Spring 1(91): 14-18.

Jensen, B.B. and H. Jørgensen. 1994. Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs. **Appl. Env. Microb.** 60: 1897-1904.

John, M.B., D.S. Lus, D. Gerald, E. Brad, H. Howard and H.L.William. 1989. ***Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium.*** Available Source: http://www.arthritist.org/topics/friend. html, September 18, 2001.

John, M.D. 1976. **Principles of Feed Chemistry.** The Avi Publishing, Connecticut.

John, T.B., and E.B. Margaret. 2006. The Sulfur-Containing Amino Acids: An Overview. **J. Nutr.** 136(6): 1636-1640.

_____, _____, F.P.B. Robert and A.B. Janet. 2007. Methionine: A metabolically unique amino acid. **Live. Sci.** 112: 2-7.

Jung, H., and G. Bolduan. 1986. ZurWirkung unterschiedlicher Mineralstoffanteile in der Ration des Absetzferkels. **Mh. Vet. Med.** 41: 50–52.

Kelly, D., J.A. Smyth and K.J. McCracken. 1991. Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of feed intake on digestive enzyme activity during the immediate post-weaning period. **Br. J. Nutr.** 65: 181-188.

_____, R. Begbie and T.P. King. 1992. Postnatal intestinal development, pp. 63-79. *In* M.A. Varley, P.E.V. Williams, T.L.J. Lawrence, eds. **Neonatal Survival and Growth. Occasional Publication No. 15.** British Society of Animal Production, Edinburgh, UK.

Kendall, D.C., G.F. Yi, A.M. Gaines, G.L. Allee, J.L. Usry, M. Steidinger, and W. Cast. 2002. Evaluation of the lysine requirement for 11 to 25 kg barrows**. J. Anim. Sci.** 80(Suppl. 2): 141.

Kershaw, G.F., J.R. Luscombe and D.J.A. Cole. 1966. Lactic acid and sodium acrylate: Effect on growth rate and bacterial flora in the intestines of weaned pigs. **The Veterinary Record.** 79: 296-297.

Kim, B. G., M.D. Lindemann, M.J. Rademacher, J. Brennan and G.L. Cromwell. 2006. Efficacy of DL-methionine hydroxy analog free acid and DL-methionine as methionine sources for pig. **J. Anim. Sci.** 84: 104-111.

Kirchgessner, M. and F.X. Roth. 1976. The use of fumaric acid in rearing piglets. **Züchtungskunde**. 48: 402 (Abstract).

_____ and _____. 1978. Fumaric acid as a feed additive for piglets and growing pigs. **Züchtungskunde**. 50: 17 (Abstract).

_____ and F.X. Roth. 1982. Fumaric acid as a feed additive in pig nutrition. **Pig News Info.** 3: 259-264.

Knight, C.D. and J.J. Dibner. 1984. Comparative absorption of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick**. J. Nutr.** 114: 2179-2186.

_____, C.A. Atwell, C.W. Wuelling, F.J. Ivey and J.J. Dibner. 1998. The relative effectiveness of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and dl-methionine in young swine. **J. Anim. Sci.** 76: 781-787.

Kornegay, E.T., J.L, Evans and V. Ravindran. 1994. Effects of diet acidity and protein level or source of calcium on the performance, gastrointestinal content measurements, bone measurements, and carcass composition of gilt and barrow weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 72: 2670-2680.

Krause, D.O., P.C. Harrison and R.A. Easter. 1994. Characterization of the nutritional interactions between organic acids and inorganic bases in the pig and chick. **J. Anim. Sci.** 72: 1257-1262.

Kyriakis, S.C. 1983. Post weaning diarrhea syndrome (PNDS) of piglets: A new therapeutic approach with the supporting therapy (STH). **Pig News and Inf.** 4: 23-27.

Lambert, I.H. 2004. Regulation of the cellular content of the organic osmolyte taurine in mammalian cells. **Neurochem. Res.** 29: 27-63.

Lewis, A.J. and L.L. Southern. 2001 **Swine Nutrition.** 2nd ed. CRC Press LLC, USA.

Lueck, E. 1980. **Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects.** Springer-verlag, Germany.

Lupton, J.R. and P.P. Kurtz. 1993. Relationship of colonic luminal short-chain fatty acids and pH to *in vivo* cell proliferation in rats. **J. Nutr**. 123: 1522-1530.

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

Lynn, T.V., D.D. Hancock, T.E. Besser, J.H. Harrison, D.H. Rice, N.T. Stewart and L.L. Rowan. 1997. The occurance and replication of *Escherichia coli* in cattle feeds. **J. Dairy. Sci.** 81: 1102-1108.

Macfarlane, G.T. and G.R. Gibson. 1995. Microbiological aspects of the production of short-chain fatty acids in the large bowel, pp. 87-105. *In* J.H. Cummings, J.L. Rombeau and T. Sakata, eds. **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids.** Cambridge University Press, British, UK.

Manners, M.J. and J.A. Stevens. 1972. Changes from birth to maturity in the pattern of distribution of lactase and sucrase activity in the mucosa of the small intestine of pigs. **Br. J. Nutr.** 28: 113-127.

Maribo, H., L.E. Olsen, B.B. Jensen and N. Miquel. 2000. Different doses of organic acids to piglets. **Danish Bacon and Meat Council,** no. 469 (In Danish).

Mathew, A.G., A.L. Sutton, A.B. Scheidt, D.M. Forsyth, J.A. Patterson and D.T. Kelly. 1991. Effects of a propionic acid containing feed additive on performance and intestinal microbial fermentation of the weanling pig, pp. 464-469. *In* **Proc. 5th Int. Symp. Digest. Physiol. in The Pig. EAAP Publication No 54**. Wageningen (Doorwerth), The Netherlands.

Maxwell, F.J. and C.S. Stewart. 1995. The microbiology of the gut and the role of probiotics, pp. 115-186. *In* M.A. Varley, ed. **The Neonatal Pig Development and Survival.** CAB International, Wallingford.

Mccollum, M.Q., M. Vazquez-anon, J.J. Dibner and K.E. Webb. 2000. Absorption of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid by isolated sheep ruminal and omasal epithelia. **J. Anim. Sci.** 78: 1078-1083.

McCracken, K.J. 1984. Effect of diet composition on digestive development of early-weaned pigs. **Proc. Nutr. Sot.** 43: 109A.

McLeese, J.M., M.L. Tremblay, J.F. Patience, and G.I. Christison. 1992. Water intake patterns in the weanling pig: effect of water quality, antibiotics and probiotics. **Anim. Prod.** 54: 135-142.

Meek, A.J. 1996. Water quality concerns for swine. **Small Farm Today.** 13: 51 (Abstract).

Moharrery, A. and M. Mahzonieh. 2005. Effect of malic acid on visceral characteristics and coliform counts in small intestine in the broiler and layer chickens. **Inter. J. Poult. Sci.** 4: 761-764.

Morrow, W.E.M., A.H. Jeffery, O'Q. Patrick and C. Nelson. 1995. Efffect of the water acidifier BIOSAVOR on post weaning pig performance. **Swine. Healt. Prod.** 3: 151-154.

Mroz, Z. 2000. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. *In* **Annual Conference on Phytase in Animal Nutrition, June 8-9.2000.** Lublin, Poland.

_____. 2005. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Adv. Pork. Prod.** 16: 169-182.

Mudd, S.H., J.T. Brosnan, M.E. Brosnan, R.L. Jacobs, S.P. Stabler, R.H. Allen, D.E. Vance and C. Wagner. 2007. Methyl balance and transmethylation fluxes in humans. **Am. J. Clin. Nutr.** 85: 19–25.

NRC. 1998. **Nutrient Requirements of Swine.** 10th ed. National Academy Press, Washington, DC.

Nabuurs, M.J.A., F.G. van Zijderveld and P.W. De Leeuw. 1993. Clinical and microbiological field studies in the Netherlands of diarrhoea in pigs at weaning. **Res. Vet. Sci**. 55: 70-77.

Nelson, D.L. and M.C. Michael. 2005. **Lehninger Principles of Biochemistry.** 4th ed. W. H. Freeman and Company, New York.

Neutra, M.R. and J.F. Forstner. 1987. Gastrointestinal mucus: Synthesis, secretion, and function, p. 975. *In* L. R. Johnson, ed. **Physiology of The Gastrointestinal Tract**. 2nd ed. Raven Press, New York.

Nunez M. C., J. D. Bueno, M. V. Ayudarte, A. Almendros, A. Rios, M. D. Suarez and A.Gil. 1996. Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursery piglets. **J. Nutr.** 126: 933-944.

Øverland, M., N.P. Kjos, M. Borg, E. Skjerve and H. Sørum. 2008. Organic acids in diets for entire male pigs: Effect on skatole level, microbiota in digesta, and growth performance. **Livest. Sci.** 115: 169-178.

Partanen, K.H., and Z. Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutr. Res. Rev.** 12: 117–145.

_____. 2001. **Organic acids—Their Efficacy and Modes of Action in Pigs. Page 201 in Gut Environment of Pigs.** Nottingham University, Nottingham, UK.

Patience, J.F., R.E. Austic and R.D. Boyd. 1987. Effect of dietary electrolyte balance on growth and acid-base status in swine. **J. Anim. Sci**. 64: 457-466.

_____ and M.S. Wolynetz. 1990. Influence of dietary undetermined anion on acid-base status and performance in pigs. **J. Nutr.** 120: 579-587.

_____ and R.K. Chaplin. 1997. The relationship among dietary undetermined anion,acid-base balance and nutrient metabolism in swine. **J. Anim. Sci.** 75: 2445-2452.

_____ H.W. Gonyou, D.L. Whittington, E. Beltranena, C.S. Rhodes and A.G. Van Kessel. 1997. **Evaluation of site and Age of Weaning on Piglet Growth Performance and Postweaning Behavior and On Sow Productivity**. Prairie Swine Centre Inc., Saskatoon, SK, Canada.

Patrick, H. and P.J. Schaible. 1980. **Poultry Feed Nutrition.** AVI Publishing company, Westport Conneeticut.

Parathasarathy, H.N., K. Joseph, M.N. Rao, M. Swaminathan, A.N. Sarkara, A. Sreenivasan and V. Subrahman. 1964. The effect of supplementing processed soybean meal with DL-methionine hydroxy analogue (MHA) or DL-methionine on protein efficiency ratio and net protein utilization**. J. Nutr. Diet India** 1: 14-18.

Peak, S. 2005. TSAA Requirements for Nursery and Growing Pigs. **Adv. Pork Prod.** 16: 101.

Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boiago, S.R. Carvalho and V.F. Bordon. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chicken fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola.** 7(4): 221-229.

Phillip, A.S., S.N. Talmadge, K.K. Linda, B.J. Zelpha and N.B. Joseph. 1982. Influence of temperature moisture and propionic acid on mold growth and toxin production on corn. **Poult. Sci.** 62: 491-423.

Pluske, J.R. I.H. Williams and F.X. Aheme. 1995. Nutrition of the neonatal pig, pp. 187-235. *In* M.A. Varley, ed. **The Neonatal Pig: Development and Survival**. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

_____, _____ and _____. 1996a. Maintenance of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Anim. Sci.** 62: 131-144.

_____, _____ and _____. 1996b. Villous height and crypt depth in piglets in response to increases in the intake of cows' milk after weaning. **Anim. Sci.** 62: 145-158.

_____, _____ and _____. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Live. Prod. Sci.** 51: 215-236.

Poosuwan, K., C. Bunchasak, K. Markvichitr, J. Thiengtham and T. Poeikhampha. 2007. Effects of adding methionine hydroxy analog free acid to drinking water on growth performance and gastrointestinal ecology. *In* **The Proceeding of Inernational Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology.** King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok.

Prohaszka, Z., and F. Baron. 1980. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. **Zentralbl. Veterinaermed. Reihe B.** 27: 222 (Abstract).

Radcliffe, J.S., Z. Zhang and E.T. Kornegay. 1998. The effects of microbial phytase, citric acid and their interactions in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 76: 1880-1886.

Radecki, S.V., M.R. Juhl, and E.R. Miller. 1988. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: Effect on performance and nutrient balance. **J. Anim. Sci.** 66: 2598-2605.

Ravindran, V. and E.T. Kornegay. 1993. Acidification of weaner pig diets : a review. **J. Sci. Food Agric.** 62: 313-322.

Reifsnyder, D.H., C.L. Schreiner, and E.E. Jones. 1983. Utilization of a methionine hydroxy analogue-free acid by isolated pig hepatocytes. **Fed. Proc.** 42: 2236A.

Risley, C.R., E.T. Kornegay, M.D. Lindemann and S.M. Weakland. 1991. Effects of organic acids with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 35: 259-270.

_____, E.T. Kornegay, M.D. Lindemann, C.M.Wood and W.N. Eigel. 1992. Effects of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. **J. Anim. Sci.** 70: 196-206.

Roderick, I.M., A.W. Bryan and E.I. Richard. 1997. **Gastrointestinal Microbiology.** Chapman & Hall, New York.

Roig-Pérez, S., M. Moretó, and R. Ferrer. 2005. Transepithelial taurine transport in caco-2 cell monolayers. **J. Membr. Biol.** 204: 85-92.

Romer, A., and H. Abel. 1999. Effects of DL-methionine hydroxy analogue (MHA) or DL-methionine (DL-Met) on N retention in broiler chickens and pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 81: 193–203.

Roth, F.X., and M. Kirchgessner. 1989. Bedeutung von pH-Wert und Pufferkapazita¨ t des Futters fu¨ r die Ferkelfu¨ tterung. 1. Mitteilung: pH-Wert und Pufferkapazita¨ t von Futtermischungen bei Einsatz von organischen Sa¨uren. **Landwirtsch. Forsch.** 42:157–167.

_____ and _____. 1998. Organic acids as feed additives for young pigs: nutritional and gastrointestinal. **J. Anim. Feed Sci.** 7: 25-33.

_____,C. Meindl and T. Ettle. 2006. Evidence of a dietary selection for methionine by the piglet. **J. Anim. Sci.** 84: 379-386.

Sakata, T. and W. von Engelhardt. 1983. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat small intestine. **Comp. Biochem. Physiol.** 74: 459-462.

_____, M. Adachi, M. Hashida, N. Sato, and T. Kojima. 1995. Effect of n-butyric acid on epithelial cell proliferation of pig colonic mucosa in short-term culture. **Dtsch. Tierarztl. Wschr.** 102: 163–164.

Schneider, J.D., M.D. Tokach, S.S. Dritz, R.D. Goodband, J.L.Nelssen, J.M. DeRouchey, C.W. Hastad, N.A. Lenehan, N.Z.Frantz, B.W. James, K.R. Lawrence, C.N. Groesbeck, R.O. Gottlob, and M.G. Young. 2004. The optimal true ileal digestible lysine and total sulfur amino acid requirement for nursery pigs between 10 and 20 kg. **J. Anim. Sci.** 82(Suppl. 1): 570 (Abstr.).

Schnabel, E., R. Schneider and C. Schubert. 1982. Untersuchungen zum pH-Wert im vorderen Trakt beim Absetzferkel. **Arch. Anim. Nutr.** 32: 631–635.

Scipioni, R., G. Zaghini, and A. Boavati. 1978. Acidified diets in early weaning piglets. **Zootech. Nutr. Anim.** 4: 201 (Abstract).

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

Shoveller, A.K., B. Stoll, R.O. Ball, and D.G. Burrin. 2005. Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. **J. Nutr.** 135: 1609-1612.

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

Smith, H.W. and C.I. Gyles. 1970. The relationship between two apparently different enterotoxin produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* diarrhea. **N. Engl. J. Med.** 285: 1-9.

_____ and M.A. Linggood. 1971. Observations on the pathogenic properties of the K88, Hly and Ent plasmids of *Eschericia coli* with particular reference to porcine diarrhoea. **J. Med. Microbiol.** 4: 467-485.

Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. 1986. **Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. V. 2.** Williams and Wilkins, Baltimor.

Soderlind, O., B. Thafvelin and R. Mollby. 1988. Virulence factors in *Eschericia coli* strains isolated from Swedish piglets with diarrhea. **J. Clin. Microbiol.** 26: 879-884.

Stark, B.A. and J.M. Wilkinson. 1989. **Probiotics: Theory and Application**. Chalcobe Publication, Marlow, UK.

Steel, R. G. D. and T. H. Torries. 1980. **Principle and Procedure of Statistic.** McGraw Hill Book Company, NY, USA.

Stevens, C.E. 1988. **Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System.** Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Straw, M.L., E.T. Kornegay, J.L**.** Evans and C.M. Wood. 1991. Effects of dietary pH and phosphorus source on performance, gastrointestinal tract digesta, and bone measurements of weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 69: 4496-4504.

Stringer, D.A. 1985. Acceptance of single-cell protein for animal feeds, pp. 685-694. *In* C.W. Robinson and J.A. Howell, eds. **Comprehensive Biotechnology.** Vol 4. Pergamon Press, New York.

Sumitomo Chemical Co., Ltd., 2007. **Liquid DL-Methionine Hydroxy Analog Free Acid (LMA) is Feed Additive Product of Sumitomo Chemical's Liquid Methionine.** The office is registered in Japan and other countries.

Tan, H. M. 2006. Acidifiers: synergy of acids make for better efficacy. **Asi. Poul. Mag.** 7(7): 30-33.

Thacker, P.A. 2001. Water in swine nutrition, pp.381-398. *In* A. J. Lewis and L. L. Southern**,** ed. **Swine Nutrition.** 2nd ed. CRC Press, New York, United State.

Thaela, M.J., M.S. Jensen, S.G. Pierzynowski, S. Jakob, and B.B. Jensen. 1998. Effect of lactic acid supplementation on pancreatic secretion in pigs after weaning. **J. Anim. Feed Sci.** 7(Suppl. 1): 181–183.

Thomlinson, J.R., and T.L.J. Lawrence. 1981. Dietary manipulation of gastric pH in the prophylaxis of enteric disease in weaned pigs: some field observations. **Vet. Rec.** 109: 120-122.

Trier, J.S. 1968. Morphology of the epithelium of the small intestine, pp. 1125-1175. *In* C.F. Code and W. Heidel, eds. **Handbook of Physiology.** American Physiological Society, Washington.

Tsukahara, T.,H. Koyama, M. Okada and K. Ushida. 2002. Stimulation of butyrate production by gluconic acid in batch culture of pig cecal digesta and identification of butyrate-producing bacteria. **J. Nutr.** 132: 2229–2234.

van Beers-Schreurs, M.J.A. Nabuurs, L. Vellenga, H.J. Breukink. 1995. The effect of weaning and diets on villous height and crypt depth in the small intestines of piglets, p. 103. *In* **Proceedings of the IXth International Conference on Production Diseases in Farm Animals**. Berlin, Germany.

Varel, V.H. and W.G. Pond. 1985. Enumeration and activity of cellulolytic bacteria from gestating swine fed various levels of dietary fiber. **Appl. Environ. Microbiol.** 48: 858 (Abstract).

Wang, T.C. and M.F. Fuller. 1989 The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid deletion. **Br. J. Nutr.** 62: 77-89.

Walsh, M.C., B.T. Richert, A.L. Sutton, J.S. Radcliffe and R. Odgaard. 2004. Past, present, and future uses of organic and inorganic acids in nursery pig diets, pp. 155-158. *In* **Proc. Am. Assoc. Swine Vet**., Des Moines, IA.

_____, D.M. Sholly, R.B. Hinson, K.L. Saddoris, A.L. Sutton, J.S. Radcliffe, R. Odgaard, J. Murphy and B.T. Richert. 2007. Effects of water and diet acidification with and without antibiotics on weanling pig growth and microbial shedding. **J. Anim. Sci.** 12: 1-40.

Weakland, S., C.R. Risley and E.T. Kornegay. 1990. The effects of feeding on growth performance, intestinal pH, and concentration of chloride ion, and VFA in weanling pigs, p. 395. *In* **Swine Report.** Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.

Westermarck, A.I., A.M. Finckenberg, J.C. Westermarck and J.M. Westermarck. 2001. **Use of Hydroxyl Acid or A Product Containing The Same in Animal Feed.** U.S. Patent, 6,203,835 B1.

White, F., G. Wenham, G.A.M. Sharman, A.S. Jones, E.A.S. Rattray and I. McDonald. 1969. Stomach function in relation to stomach scouring in the pig. **Br. J. Nutr.** 23: 847-857.

Xia, M.S., C.H. Hu, and Z.R. Xu. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. **Poult. Sci.** 83: 1868-1875.

Yi, G.F., A.M. Gaines, B.W. Ratliff, P. Srichana, G.L. Allee, K.R. Perryman and C.D. Knight. 2006. Estimation of the true ileal digestible lysine and sulfur amino acid requirement and comparison of the bioefficacy of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine in eleven- to twenty-six-kilogram nursery pigs. **J. Anim. Sci.** 84: 1709-1721.

Yen, J.T., W.G. Pond and R.L. Prior. 1981. Calcium chloride as a regulator of feed intake and weight gain in pigs. **J. Anim. Sci.** 52: 778-782.

ภาคผนวก

สภาพแวดล้อมในโรงเรือน

ตารางผนวกที่ 1 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 1

วันที่	อุณหภูมิ			ความชื้นสัมพัทธ์
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	เฉลี่ย	
1	26.00	30.00	27.67	80.00
2	26.00	29.00	27.33	87.00
3	27.00	30.00	29.33	73.67
4	27.00	30.00	28.33	82.67
5	28.00	30.00	28.83	81.33
6	27.00	31.50	29.67	78.67
7	30.00	32.00	29.67	80.67
8	28.00	33.00	30.67	72.67
9	28.00	33.00	29.50	82.67
10	28.00	33.00	29.83	80.33
11	28.00	31.50	28.67	80.33
12	28.00	31.50	28.83	82.33
13	28.00	31.50	29.33	80.33
14	27.00	30.50	29.83	73.67
15	28.00	31.00	29.33	80.67
16	28.00	31.00	28.50	85.00
17	27.50	30.00	29.33	78.00
18	27.50	30.50	28.83	85.33
19	27.00	32.00	29.00	80.67
20	27.00	33.00	31.00	73.00
21	27.00	32.00	30.50	76.67
22	27.00	32.00	29.17	86.33
23	27.00	31.00	28.17	89.67
24	26.00	30.00	27.83	91.00

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วันที่	อุณหภูมิ			ความชื้นสัมพัทธ์
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	เฉลี่ย	
25	26.50	30.50	28.33	90.00
26	27.00	31.50	28.83	85.33
27	27.00	31.00	29.67	80.33
28	27.00	31.50	28.50	87.33
29	27.00	32.00	30.00	79.33
30	27.00	32.00	30.50	77.00
31	28.00	31.50	29.50	82.33
32	27.00	32.00	29.83	78.00
33	27.00	32.50	30.17	76.00
34	27.00	32.00	29.17	85.00
35	27.00	31.50	29.67	77.33
36	27.00	31.00	29.00	84.67
37	27.00	31.50	28.50	83.33
38	29.00	31.00	30.33	72.33
39	27.00	31.50	28.83	85.33
40	27.00	31.50	29.17	78.00
41	27.00	31.50	27.83	92.00
42	27.00	31.50	28.50	83.00
ค่าเฉลี่ย	27.30	31.35	29.18	81.41

ตารางผนวกที่ 2 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 2

วันที่	อุณหภูมิ			ความชื้นสัมพัทธ์
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	เฉลี่ย	
1	27.00	32.00	30.33	74.00
2	27.00	33.00	32.00	71.33
3	26.00	32.00	29.17	85.50
4	22.00	32.00	29.17	84.00
5	26.50	31.50	27.83	89.67
6	16.50	31.50	27.83	92.00
7	26.50	31.00	28.83	88.33
8	26.00	31.00	29.33	85.00
9	27.50	30.50	29.33	87.33
10	26.50	30.00	28.50	91.00
11	26.00	30.00	29.67	86.33
12	26.00	31.00	28.83	79.00
13	26.50	32.00	28.83	89.00
14	26.50	33.00	31.67	64.50
15	27.00	32.70	31.17	79.33
16	26.00	31.50	29.50	85.50
17	20.00	31.00	28.83	90.50
18	25.00	30.00	28.17	92.50
19	25.00	30.00	28.50	88.50
20	25.50	31.00	28.67	85.50
21	27.50	30.50	29.67	85.33
22	25.50	31.50	28.50	93.33
23	26.50	31.50	31.00	80.33
24	26.00	32.00	30.83	82.67
25	27.00	32.00	29.67	79.50
26	27.00	32.00	29.67	81.33

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

วันที่	อุณหภูมิ			ความชื้นสัมพัทธ์
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	เฉลี่ย	
27	28.00	32.00	30.00	85.67
28	26.00	32.00	28.7	91.00
29	25.50	31.50	29.5	86.67
30	26.00	31.50	29.0	79.50
31	25.50	31.50	27.5	96.00
32	27.00	32.00	30.3	77.50
33	26.50	31.50	29.0	89.33
34	26.50	31.50	28.8	83.67
35	25.50	31.00	28.0	88.00
36	24.50	30.50	28.7	83.50
37	25.00	30.50	29.5	84.00
38	26.00	30.50	28.8	89.67
39	25.50	30.00	28.5	87.33
40	23.50	29.50	25.8	92.00
41	25.50	29.00	28.2	89.67
42	25.50	29.00	30.5	74.50
ค่าเฉลี่ย	25.63	31.18	29.20	85.00

หลักการปฏิบัติงานด้านจุลพยาธิวิทยา

งานด้านจุลพยาธิวิทยาปฏิบัติตามวิธีของ ศุภลักษณ์ (2545) ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่าง (Specimen collection)

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ประกอบด้วย

1.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างที่บรรจุ Fixative

1.1.2 บีกเกอร์ใส่ Normal saline

1.1.3 ถาดเทียน

1.1.4 มีดผ่าตัด

1.1.5 คีมคีบ (Forcep)

1.1.6 กระดาษ ดินสอ

1.2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

1.2.1 ตัดลำไส้เล็กแยกออกเป็นส่วนต้น กลางและท้าย ล้างเลือดและสิ่งที่ติดมากับ เนื้อเยื่อด้วย Phosphate buffer solution (สุวรรณา, 2548) ซึ่งประกอบด้วย

NaCl	8	กรัม
NaH_2PO_4	1.38	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 7.4 โดยใช้ NaOH

1.2.2 ใช้คีมคีบ คีบเนื้อเยื่อใส่ขวดที่บรรจุ Fixative

1.2.3 ใช้ดินสอเขียนระบุว่าเป็นเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนใด จากสัตว์ใด วัน เดือน ปี ที่เก็บ

1.2.4 ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อให้เนื้อเยื่อแข็งพอที่จะตัดเป็นชิ้นเล็กได้

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

1.2.6 แช่ใน Fixative ที่เปลี่ยนใหม่ ขนาด 10-20 เท่าของเนื้อเยื่อ

2. การคงสภาพเนื้อเยื่อ (Fixation)

Fixation เป็นกระบวนการเก็บรักษา ป้องกันเนื้อเยื่อให้มีสภาพใกล้เคียงกับเมื่อมีชีวิตมากที่สุดทั้งขนาด รูปร่าง ลักษณะ และองค์ประกอบทางเคมี โดย Fixative ที่นิยมใช้ทั่วไปตามห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้แก่ Phosphate buffer formalin 10% (Biagi, 2006) ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

Formalin 40%	100.000	มิลลิลิตร
Monobasic Sodium Phosphate ($NaH_2PO_4.2H_2O$)	18.160	กรัม
Sodium Hydroxide (NaOH)	4.125	กรัม
น้ำกลั่นเติมจนได้ปริมาตร	1,000.000	มิลลิลิตร

ระยะเวลาในการคงสภาพประมาณ 8-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับประเภทของเนื้อเยื่อ

3. การล้าง (Washing)

ชิ้นเนื้อที่คงสภาพด้วย Neutral buffer formalin solution ให้ล้างด้วยน้ำประปาโดยนำชิ้นเนื้อที่คงสภาพแล้วมาวางในบล็อกที่ปิดฝา ใส่ภาชนะไปรองไว้ใต้ก๊อกน้ำ เปิดให้น้ำไหลผ่านตลอดเวลาประมาณ 30 นาที-1 ชั่วโมง ถ้าชิ้นเนื้อคงสภาพไว้เกิด 24 ชิ้น ทุกๆ 12 ชั่วโมงให้ล้างน้ำนานประมาณ 10 นาที

4. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue processing)

นำตลับชิ้นเนื้อ (Tissue cassette) ที่ผ่านการล้างแล้วใส่ในตะกร้า แล้วนำตะกร้าไปแขวนกับตะขอของเครื่อง Automatic tissue processor ซึ่งมีภาชนะบรรจุสารเคมี 12 โถและใช้เวลาในแต่ละขั้นตอน แสดงดังตารางผนวกที่ 3

ตารางผนวกที่ 3 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ำยาเคมีและระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Tissue processing)

ขั้นตอน	สารเคมี	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
1	70%Alcohol	5.0
2	70%Alcohol	2.0
3	80%Alcohol	1.0
4	80%Alcohol	1.0
5	95%Alcohol	1.0
6	95%Alcohol	1.0
7	Abs.Alcohol	1.0
8	Abs.Alcohol	1.0
9	Xylene	1.0
10	Xylene	1.0
11	Liquid paraffin	1.5
12	Liquid paraffin	1.5

5. การฝังชิ้นเนื้อในพาราฟิน (Embedding)

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

5.1 นำตลับใส่ชิ้นเนื้อ (Tissue cassette) ออกจาก Tissue Storage Tank ที่ตลับ เปิดออกดู ขนาดและจำนวนของชิ้นเนื้อเพื่อเลือก Mold

5.2 เลือก Mold ที่อุ่นไว้ใน Base mold storage oven ตามขนาดของชิ้นเนื้อ

5.3 หยอด Liquid paraffin ลงใน Mold พอประมาณ ให้ท่วมชิ้นเนื้อ

5.4 ใช้คีมคีบที่อุ่นไว้ คีบชิ้นเนื้อ โดยพิจารณาดูว่าจะวางอย่างไร แล้วรีบวางชิ้นเนื้อฝังลงไปใน Liquid paraffin ควรทำอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 นาที

5.5 วาง Cassette ลงบน Mold

5.6 หยด Liquid paraffin เติมลงไปอีกให้เต็ม Mold

5.7 วางทิ้งไว้ให้เย็นบน Cool plate แล้วแกะ Block ชิ้นเนื้อออกจาก Mold

6. การตัดชิ้นเนื้อให้เป็นแผ่นบาง (Sectioning)

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

6.2 การเตรียมเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Setting up the microtome)

6.2.1 ทดสอบการทำงานของเครื่องโดยลองหมุน Hand wheel และ Coarse feed ว่าใช้งานได้ดี

6.2.2 เลื่อน Block Holder กลับสู่เครื่องจนสุด

6.2.3 ใส่ Knife holder เลื่อนเข้าใกล้ Block holder เว้นระยะห่างประมาณ ½ นิ้ว แล้ว ล็อก Knife holder กับฐานตัวเครื่องให้แน่น

6.2.4 ใส่ Microtome knife เข้ากับ Knife holder แล้วขันสกรูล็อกใบมีดให้แน่น

6.3 วิธีการ Trim และ Section

6.3.1 ปรับ Microtome scale ให้มีความหนาประมาณ 10–15 ไมโครเมตร แล้วหมุน Hand wheel จนกว่าชิ้นเนื้อจะเต็มหน้าตัด

6.3.2 ปรับ Micron scale ให้เหลือ 3-5 ไมโครเมตร

6.3.3 ใช้ก้อนน้ำแข็งถูบริเวณชิ้นเนื้อเพื่อช่วยให้ตัดง่ายขึ้น

6.3.4 เริ่มตัด Section โดยหมุน Hand wheel จนได้ Paraffin section เป็น Ribbon

6.3.5 ใช้คีมคีบจับแถบของ Paraffin section ไปลอยบน Tissue floating bath อุณหภูมิ 40-45 $^{\circ}$C ที่เติม Adhesive แล้ว (อาจใช้ 50% Alcohol ช่วยให้ Section แผ่ยืดออก)

6.3.6 ใช้คีมคีบแยกเอา Section ออกจากกัน

6.3.7 นำสไลด์มาช้อน Section ที่ได้

6.3.8 เขียนประเภทและหมายเลขชิ้นเนื้อที่สไลด์ แล้วตากให้แห้งสนิท

6.3.9 นำสไลด์ที่ได้เข้าอบใน hot air oven เพื่อยึด section ให้ติดกับสไลด์ยิ่งขึ้น อย่างน้อย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 58-61 $^{\circ}$C

6.3.10 เมื่อครบเวลา นำสไลด์ออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นเพื่อรอย้อมสีต่อไป

7. การย้อมสี (Staining)

การย้อมสีสไลด์ด้วยวิธีธรรมดาที่นิยมใช้กันมากและเป็นวิธมาตรฐานคือ วิธี Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้อมสี (Staining equipment) ประกอบด้วย Staining dish with cover, Staining rack with holder, Slide forcep, Slide tray และ Glass bottle โดยมี

ขบวนการในการย้อมสีชิ้นเนื้อ ดังนี้ คือ Deparaffinization, Hydration, Staining, Dehydration, Clearing และ Mounting (ขั้นตอนในการย้อมสี แสดงดังตารางผนวกที่ 4)

ตารางผนวกที่ 4 ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin and Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining

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

อาหารเลี้ยงเชื้อ

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

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

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

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ตามวิธีของตามวิธีของ อาสูตรและคณะ (2550)

Pancreatic Digest of Casein	5.000	กรัม
Yeast Extract	2.500	กรัม
Dextrose	1.000	กรัม
Agar	15.000	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 20 นาที

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

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

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

4. สารละลาย Peptone water ตามวิธีของ Atlas (2006)

Peptone	10.000	กรัม
Sodium Chloride	5.000	กรัม

ผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จนสารละลายเข้ากันหมด นึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 psi. ระยะเวลา 15 นาที

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย (Short Chain Fatty Acids, SCFAs)

การสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายจากตัวอย่างอาหารในไส้ติ่ง (Caecal digesta) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองสุกรในแต่ละซ้ำถูกการุณฆาต (Euthanasia) และเปิดซากเพื่อนำตัวอย่างอาหารในไส้ติ่งบรรจุลงหลอดขนาด 20 มิลลิลิตร แล้วนำมาลดอุณหภูมิลงทันทีโดยแช่ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 20 °C จนกว่าจะนำมาสกัดกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย เพื่อหยุดกระบวนการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง

วิธีการเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Biagi et al., 2006)

1. นำตัวอย่าง Caecal digesta ที่แช่แข็งมาทำให้ละลายที่ 4 °C

2. นำ Caecal digesta ที่ละลายแล้วในหลอด 20 มิลลิลิตร มาเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex

3. ใช้ Micropipette ดูดของเหลวของ Caecal digesta มาใส่ใน Microtube

4. นำเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 14000 rpm ควบคุมอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที

5. ใช้ Micropipette ดูดสารละลายส่วนใส (Supernatant) ใส่ใน Microtube ประมาณ 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ทันทีจนกว่าจะนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายต่อไป

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ GC Grade ของบริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน ได้แก่ กรดอะซิติก (EC label 71251) กรดโปรปิโอนิก (EC label 94425) กรดบิวทีริก (EC label 19215) และกรดวาเลอริก (EC label 75054) ที่ทราบความเข้าข้นชัดเจนมาเจือจางในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (GC Grade) ลงครั้งละ 10 เท่า เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม สำหรับนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography

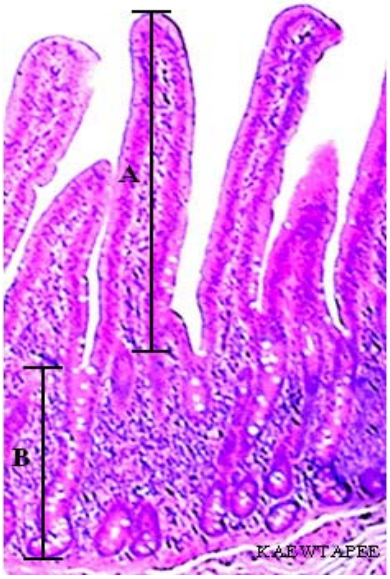
การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่าย

สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างจะถูกนำมาฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography (Shimadzu Model GC-2010 High-end, Shimadzu, Kyoto, Japan) และมีตัว flame ionization เป็นตัว Detector (GC-FID) สารละลาย 1 ไมโครลิตร จะถูกฉีดเข้า Silica capillary column (DB-WAX, 30 m×0.25 mm i.d., film thickness of 0.50 μm, J&W Scientific, CA) ซึ่งมีอุณหภูมิ 150 °C โดยมีก๊าซฮีเลียม (He) เป็นตัวพาเข้าไปด้วยอัตราเร็ว 1.4 มิลลิลิตรต่อนาที ในอัตราส่วน 1 : 20 นอกจากนี้ยังใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิที่บริเวณฉีดสารเข้าสู่ Column และที่ Detector ให้มีค่าเท่ากับ 225 °C

การวิเคราะห์ผลจะเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโดยใช้ความแตกต่างของระยะเวลาที่กรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดแยกออกมา (Retention time) ซึ่งบอกเป็นพื้นที่ (Area) ตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียม นำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณกรดไขมันสายสั้นระเหยง่ายแต่ละชนิดที่พบในตัวอย่างในหน่วยความเข้มข้นเป็นมิลลิโมลต่อลิตร

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กจากการสุ่มวัด 10 บริเวณในแต่ละตำแหน่งของสไลด์ตามวิธีของ Nunez *et al*. (1995) โดยวัดความสูงวิลลัส (Villous height) จากบริเวณที่สูงสุดของวิลลัสถึงบริเวณฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปท์ (Crypt depth junction) และความลึกของคริปท์ (Crypt depth) วัดจากฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปท์ถึงบริเวณต่ำสุดของคริปท์ จากนั้นคำนวณหาหาสัดส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ รายละเอียดการวัดแสดงดังภาพผนวกที่ 1



ภาพผนวกที่ 1 แสดงความสูงวิลลัส (Villous height, A) และความลึกคริปท์ (Crypt depth, B) ของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กสุกรระยะอนุบาล

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายชาญวิทย์ แก้วตาปี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 14 กรกฎาคม พ.ศ. 2524
สถานที่เกิด	อำเภอขุนหาญ จังหวัดศรีสะเกษ
สถานที่ติดต่อ	31 ม. 12 ต. สิ อ. ขุนหาญ จ. ศรีสะเกษ 33150
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการสัตวแพทย์) เกียรตินิยมอันดับสอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2548) วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2549)
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	รางวัลชมเชย (Honorable Mention Prize) การนำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแบบบรรยาย กลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพ (Science and Biotechnology) ในการประชุมเสนอผลงานระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ระหว่างวันที่ 14 – 15 มีนาคม 2551 คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนนิสิตช่วยปฏิบัติงาน วิชาคณิตศาสตร์และคอมพิวเตอร์ในชีวิตประจำวัน รหัสวิชา 999211 ประจำภาคต้น ปีการศึกษา 2549 ทุนการศึกษา ภาควิชาสัตวบาล ประจำภาคต้น ปีการศึกษา 2549