



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์คุษฎีบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัตวศาสตร์	สัตวบาล
สาขา	ภาควิชา
เรื่อง	ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล Effects of Sodium Gluconate on Production Performances, Intestinal Tract, Intestinal Microorganism and Immunity of Nursery Pigs
นามผู้วิจัย	นายธีรวิทย์ เปี้ยคำภา
ได้พิจารณาเห็นชอบโดย	
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	( รongศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( รongศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( รongศาสตราจารย์อาทิตย์ สรา ชูเทศะ, Dr.rer.nat. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิฤทธิธรรม, วท.ด. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุริยะ สะวานนท์, Ph.D. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D. )
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	( อาจารย์ปราโมทย์ ศิริโรจน์, Dr.Agr.Sci. )
หัวหน้าภาควิชา	( รongศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รongศาสตราจารย์กัญจนนา ธีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์  
ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

Effects of Sodium Gluconate on Production Performances, Intestinal Tract,  
Intestinal Microorganism and Immunity of Nursery Pigs

โดย

นายธีรวิทย์ เปย์คำภา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธีรวิทย์ เปี้ยคำภา 2554: ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล ปริญญาวิทยาศาสตร ดุษฎีบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
หลัก: รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 86 หน้า

การศึกษาประกอบด้วย 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนต ต่อการหมักในหลอดทดลองของจุลินทรีย์ที่เก็บจากกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาล (*in vitro*) โดยแบ่งกลุ่มทดลองตามการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 1,250 2,500 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน พบว่าการหมักที่เวลา 24 ชั่วโมงโซเดียมกลูโคเนตลดค่าความเป็นกรด-ด่าง ( $P<0.01$ ) ลดปริมาณแอมโมเนีย ( $P<0.05$ ) เพิ่มปริมาณกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดจากการหมัก ( $P<0.01$ ) การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตในอาหารสุกรระยะอนุบาล โดยเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,000 2,500 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน และไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม) พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตลดอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ( $P<0.05$ ) เพิ่มปริมาณกรดโพรพิโอนิก และปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดในกระพุ้งไส้ใหญ่ ( $P<0.01$ ) ขณะที่จำนวนเชื้อ อี.โคไล บริเวณดังกล่าวมีแนวโน้มลดลง ( $P=0.09$ ) การเสริมสารดังกล่าวที่ระดับ 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีผลให้ความสูงของวิลต์สบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น ( $P<0.01$ ) โดยไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินและระบบภูมิคุ้มกันของสุกร และการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท ที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหารสุกรระยะอนุบาล ตามลำดับ พบว่าสารเสริมทั้ง 3 ชนิดช่วยเพิ่มน้ำหนักตัว ( $P<0.05$ ) ปริมาณกรดโพรพิโอนิก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดในกระพุ้งไส้ใหญ่ ( $P<0.01$ ) โดยไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการศึกษาโซเดียมกลูโคเนตสามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต เพิ่มกรดไขมันสายสั้นในลำไส้ได้ และการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับกลุ่มที่เสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท

Theerawit Poeikhampha 2011: Effects of Sodium Gluconate on Production Performances, Intestinal Tract, Intestinal Microorganism and Immunity of Nursery Pigs. Doctor of Philosophy (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 86 pages.

The study was divided into 3 experiments. Experiment 1, study effects of sodium gluconate in batch culture of nursery pig caecal digesta. The treatments were 0 (control group), 1,250, 2,500, 5,000 and 7,500 ppm of sodium gluconate supplementations (*in vitro*). Fermentation of sodium gluconate at 24 h decreased pH ( $P<0.01$ ) and ammonia ( $P<0.05$ ), while increased concentration of acetic acid, propionic acid and total short chain fatty acids in batch culture of pig caecal digesta ( $P<0.01$ ). Experiment 2, study effects of supplementing sodium gluconate in diet of nursery pig. Pigs received diet supplemented sodium gluconate at 1,000, 2,500, 5,000 ppm and without sodium gluconate (control group). The results indicated that sodium gluconate significantly improved body weight and feed to gain ratio ( $P<0.05$ ), increased propionic acid and total short chain fatty acids ( $P<0.01$ ), while tended to decrease *Escherichia coli* in the caecum of pigs ( $P=0.09$ ). Additionally, supplementation of sodium gluconate at 2,500 or 5,000 ppm increased villi height in duodenum ( $P<0.01$ ). Feed intake and immunity of pigs were not significantly influenced by sodium gluconate supplementation. Finally, experiment 3 was conducted to compare the effects of supplementing sodium gluconate (5,000 ppm), mannan oligosaccharide (3,000 ppm) and potassium diformate (8,000 ppm) in diet of nursery pig. Supplementing these feed additives increased body weight ( $P<0.05$ ), propionic acid and total short chain fatty acids ( $P<0.01$ ) in the caecum of pigs, while there was no significant effect on feed intake and feed conversion ratio. In conclusion, sodium gluconate clearly improved growth performance, increased intestinal short chain fatty acids, and efficiency of supplementing sodium gluconate at 5,000 ppm on growth performance similar to those of supplementing mannan oligosaccharide and potassium diformate.

---

Student's signature

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในด้านต่าง ๆ พร้อมทั้งตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องและข้อเสนอแนะ ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์นี้จนสำเร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบ ขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณคณะอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.กัญจนะ มากวิจิตร รองศาสตราจารย์ ดร.อาทิตย์สรา ชูเทศะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสม อาตมางกูร ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ดร.สุริยะ สะวานนท์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศกร คุณวุฒิฤทธิธิน และ อาจารย์ ดร.ปราโมทย์ สิริโรจน์ รวมถึง รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ประสานพานิช ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์ ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกในการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย ที่ได้ เสียสละเวลาและกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เพื่อความถูกต้องและ สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ Dr.Atsumo Matsuda ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการวิจัย ขอขอบคุณนิสิต และเจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้ความร่วมมือในการทำ วิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณอาจารย์เกรียงไกร ประการแก้ว และเจ้าหน้าที่จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชา จุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.สาธิตา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่และ ให้คำปรึกษาในการทดลอง ขอขอบพระคุณ Sumitomo Chemical Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการทำวิจัย ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ และเพื่อนๆ นิสิตที่ได้สนับสนุนและเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยอย่างดีตลอดมา คุณความดีหรือประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัย ขอมอบแด่บุพการี ผู้มีพระคุณทุกท่าน และครูอาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยมา ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ธีรวิทย์ เปี้ยคำภา

พฤษภาคม 2554

## สารบัญ

### หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	27
สรุปและข้อเสนอแนะ	61
สรุป	61
ข้อเสนอแนะ	62
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	63
ภาคผนวก	74
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	86

## สารบัญตาราง

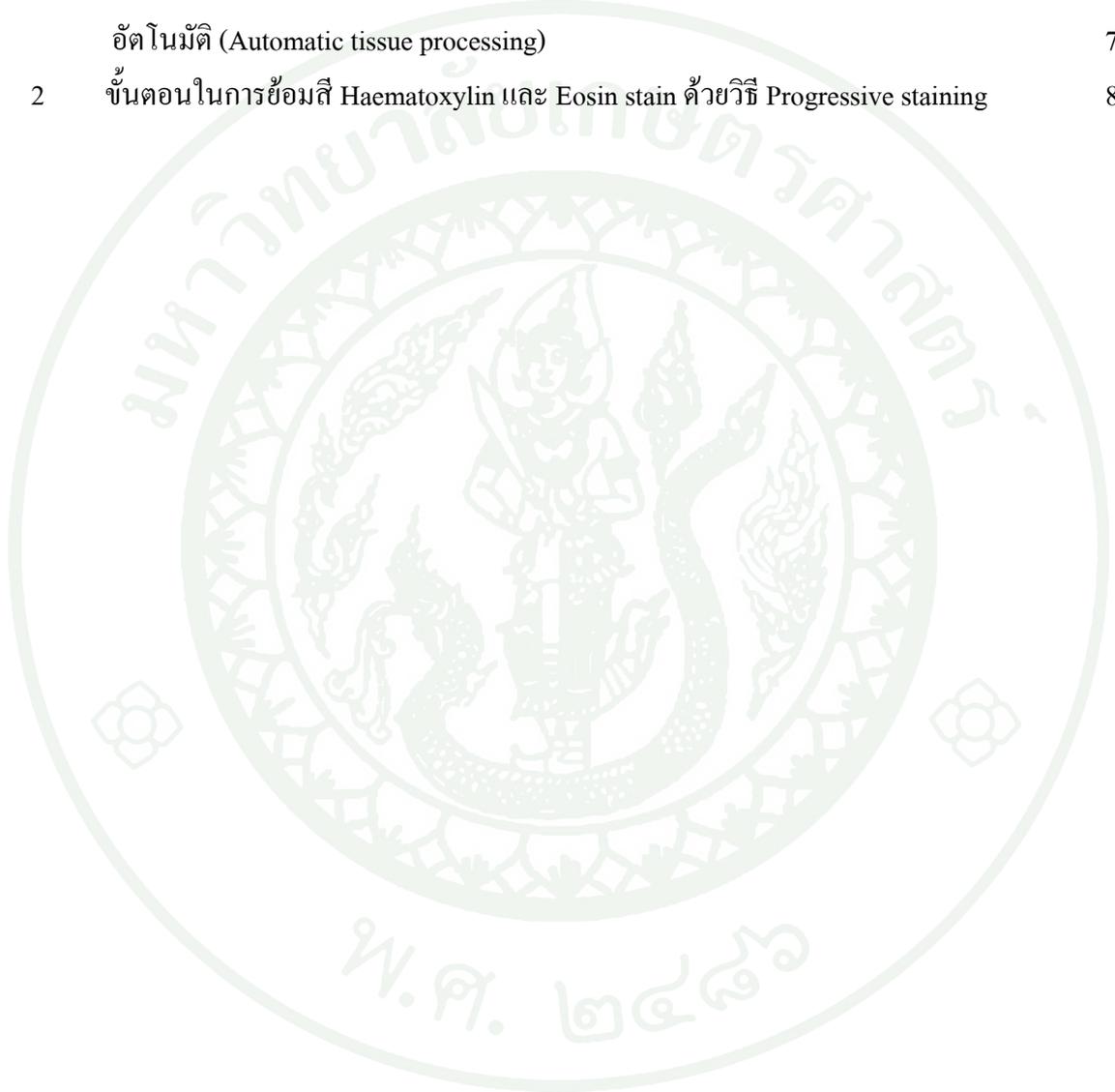
ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	11
2	ชนิด โครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล และ ค่า pKa ของกรดอินทรีย์แต่ละชนิด	11
3	ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง	17
4	ระดับโภชนะ (จากการคำนวณ) ของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง	18
5	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองจากการคำนวณ ผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง องค์ประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของอาหารจากลำไส้เล็กส่วนปลายของสุกร (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง)	28
6	ค่าความเป็นกรด-ด่างจากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	29
7	ปริมาณแอมโมเนีย (มิลลิโมล/ลิตร) จากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	30
8	ปริมาณกรดไขมันสายสั้น (มิลลิโมล/ลิตร) จากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรที่เวลา 24 ชั่วโมงเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	31
9	องค์ประกอบทางเคมีและผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง)	33
10	สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	35
11	ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	36
12	ปริมาณกรดไขมันสายสั้น และกรดแลคติก (มิลลิโมล/ลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	37
13	จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี. โคไล ( $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่และไส้ตรงของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	39
14	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	40

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัวของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	42
16	อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮมาโทฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสหวัดสุกร และโปรตีนทั้งหมดในซีรัมของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน	44
17	องค์ประกอบทางเคมีและผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง)	45
18	สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	47
19	ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	49
20	ปริมาณกรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติก (มิลลิโมล/ลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	50
21	ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี. โคไล ( $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	53
22	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาบริเวณลำไส้ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	54
23	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัวของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	58
24	อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮมาโทฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหวัดสุกร และโปรตีนในซีรัมของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท	59

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ํายาเคมี และระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Automatic tissue processing)	79
2	ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining	81



## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สัดส่วนการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสุกรของประเทศไทย	5
2	โครงสร้างทางเคมีของโซเดียมคลอไรด์	7
3	โครงสร้างทางเคมีของกรดอะซิติก (A) กรดโพธิ์โอนิก (B) และกรดบิวทิริก (C)	7
4	วิธีเมทาบอลิซึมที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์	8
5	โครงสร้างเนื้อเยื่อภายในลำไส้ของระบบทางเดินอาหาร	9
6	โครงสร้างทางเคมีของกรดฟอร์มิก (A) โปแตสเซียมไดฟอร์มเมท (B) และกรดโพธิ์โอนิก (C)	12

## ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

### Effects of Sodium Gluconate on Production Performances, Intestinal Tract, Intestinal Microorganism and Immunity of Nursery Pigs

#### คำนำ

ปัญหาท้องเสียในลูกสุกรส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงและมีอัตราการตายสูง ด้วยเหตุนี้ผู้เลี้ยงสุกรจึงนิยมใช้สารปฏิชีวนะเพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารกันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตาม การใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์จำเป็นต้องคำนึงถึงการดื้อต่อสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ ดังเช่นที่สหภาพยุโรปได้ห้ามใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์เพื่อลดปัญหาการดื้อต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อก่อโรคในมนุษย์ ประกอบกับนโยบายของภาครัฐที่ส่งเสริมให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก (Kitchen of the World) และเพื่อการเป็นผู้ส่งออกสินค้าอาหาร 1 ใน 5 ของโลก ดังนั้นผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภคจึงควรได้รับความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยและสุขอนามัยในระดับสูงสุด จากนโยบายของภาครัฐ ผู้ผลิตปศุสัตว์โดยเฉพาะการผลิตเพื่อส่งออกต้องปรับตัว ทำให้ปัจจุบันแนวคิดในการใช้สารชนิดอื่นเพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะจึงได้รับความสนใจและมีการศึกษากันมากขึ้น

การศึกษาสารทดแทนสารปฏิชีวนะเพื่อควบคุมจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารมีอยู่หลายทางด้วยกัน การศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นการควบคุมจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น การปรับสภาพระบบทางเดินอาหารให้เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ด้วยการเสริมกรดอินทรีย์ การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ การเสริมจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ให้กับสัตว์โดยตรง รวมถึงการเสริมอาหารที่ไม่ถูกย่อยและมีความจำเพาะต่อการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์หรือลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น

โซเดียมกลูโคเนตเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สมบูรณ์ของน้ำตาลกลูโคส โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มกลูโคโนแบคเตอร์ (*Gluconobacter* spp.) โซเดียมกลูโคเนตสามารถช่วยเพิ่มปริมาณของกรดไขมันสายสั้นและกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อในลำไส้ ดังนั้นจึงส่งผลต่อการดูดซึมและใช้ประโยชน์จากอาหารของสัตว์ให้ดีขึ้น คุณสมบัติที่ดีอีกประการคือ สามารถทนต่อความร้อนและความดันในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ และอยู่ในรูปผลึกขนาดเล็กไม่จับตัวเป็นก้อน ทำให้สามารถกระจายตัวในอาหารได้ดี ด้วยเหตุนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่โซเดียมกลูโคเนตจะถูกนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของลูกสุกร

งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาการเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่อเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสุกร (*in vitro*) ร่วมกับศึกษาระดับของโซเดียมกลูโคเนตที่เหมาะสมในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล อีกทั้งได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการใช้โซเดียมกลูโคเนตกับสารเสริมในอาหารชนิดอื่นต่อสมรรถภาพการผลิตระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาลด้วย



## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณของกรดไขมันสายสั้นที่เกิดจากการหมักของจุลินทรีย์จากกระฟุ้งไส้ใหญ่ในสุกรระยะอนุบาล
2. เพื่อศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล
3. เพื่อเปรียบเทียบผลของโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรั่มต ต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

## การตรวจเอกสาร

### สารเสริมในอาหารสัตว์ (Feed Additives)

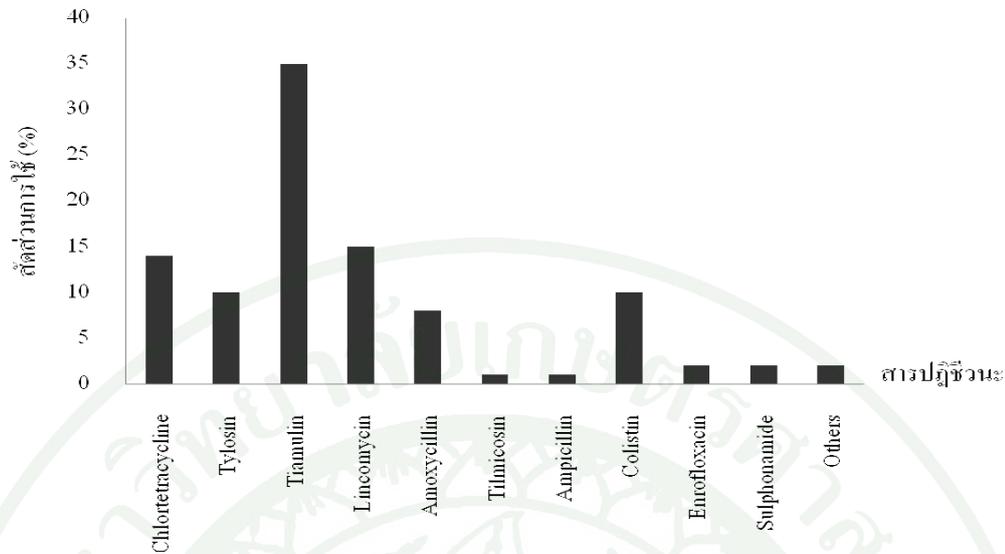
สารเสริมในอาหารสัตว์เป็นสารที่ Association of American Feed Control Officials (1998) ให้นิยามไว้ว่าเป็นวัตถุหรือสารใด ๆ ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันหรือหลายชนิดรวมกันที่ใช้เติมในอาหารสัตว์เพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์อย่างใดอย่างหนึ่ง โดยสารเสริมในอาหารสัตว์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. สารเสริมในอาหารสัตว์ที่จัดอยู่ในกลุ่มสารอาหารหลัก เช่น กรดอะมิโนสังเคราะห์ แร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น
2. สารเสริมในอาหารสัตว์ที่ไม่จัดเป็นสารอาหารหลัก แต่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารเคมีเร่งการเจริญเติบโต หรือป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยาปฏิชีวนะ สอร์โม่สังเคราะห์ เอนไซม์ ยาถ่ายพยาธิ สารประสานเม็ดอาหาร สารถนอมคุณภาพอาหาร สารปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติ และเภสัชเคมีภัณฑ์ เป็นต้น

การใช้สารปฏิชีวนะเป็นสารเสริมในอาหารให้ผลที่ดีและได้รับความนิยมมาก (Carlson and Fangman, 2000) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันภาครัฐได้จำกัดการใช้สารปฏิชีวนะเพื่อลดการดื้อสารปฏิชีวนะของเชื้อโรคในมนุษย์ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงอาจแบ่งสารเสริมในอาหารสัตว์ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ สารปฏิชีวนะที่ใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ และสารทดแทนสารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์

### สารปฏิชีวนะที่ใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ (Antibiotics Feed Additives)

การใช้สารปฏิชีวนะเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์เพื่อควบคุมจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร มีใช้กันมานานกว่า 60 ปี โดยพบครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา (Wegener, 2003; Quigley and Quera, 2006) สำหรับประเทศไทย พบการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสุกรเช่นกัน โดยสัดส่วนการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสุกรของประเทศ แสดงตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สัดส่วนการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสุกรของประเทศไทย

ที่มา: Animal Health Products Association (2008)

### การห้ามใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์

การใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เป็นระยะเวลานานจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ดื้อต่อสารปฏิชีวนะ ดังนั้นเมื่อสัตว์หรือมนุษย์ป่วยจึงไม่สามารถใช้สารปฏิชีวนะนั้นรักษาได้อีก (Bager *et al.*, 1997; The General Accounting Office, 2004) นอกจากนี้ การใช้สารปฏิชีวนะอาจทำให้มนุษย์และสัตว์เกิดการแพ้ และสารปฏิชีวนะที่ตกค้างอาจทำให้การวินิจฉัยโรคผิดพลาด อีกทั้งสารปฏิชีวนะบางชนิดอาจก่อให้เกิดเซลล์มะเร็ง และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย (สาโรจน์, 2547)

การห้ามใช้สารปฏิชีวนะผสมอาหารสัตว์ในต่างประเทศ เริ่มพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1986 โดยประเทศสวีเดนได้ประกาศห้ามใช้สารกลุ่มนี้เพื่อเร่งการเจริญเติบโต แต่ยังคงอนุญาตให้ใช้เพื่อการรักษาโรคในระยะสั้น ๆ ได้ ต่อมาประเทศสวีเดนได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกสหภาพยุโรป ทำให้มีการนำกฎระเบียบนี้มาใช้ในสหภาพยุโรปด้วยโดยปี ค.ศ. 2006 สหภาพยุโรปได้ห้ามใช้สารปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโตในอาหารสัตว์ทั้งหมด (สาโรจน์, 2547; Casewell *et al.*, 2003) สำหรับประเทศไทย การห้ามใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เป็นการทำงานร่วมกันระหว่างกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยกรมปศุสัตว์ กระทรวงพาณิชย์ และกระทรวงสาธารณสุข โดยคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2539) ได้มีประกาศ กำหนดให้ในอาหารสุกรแรกเกิดถึงน้ำหนัก 60 กิโลกรัม สามารถใช้ Avoparcin Chlortetracycline Enramycin Flavophospholipol Tylosin Nitrovin Virginiamycin Spiramycin Zinc-bacitracin Oxytetracycline Avilamycin Efrotomycin และ Thiopeptin ได้ ต่อมาได้มีประกาศยกเลิกการอนุญาตให้ใช้ Avoparcin (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2545) และตามมาด้วยการยกเลิกการอนุญาต

ให้ใช้ Oxytetracycline Chlortetracycline Lincomycin และ Spiramycin (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2546)

สารปฏิชีวนะที่ถูกประกาศห้ามใช้ในอาหารสัตว์ข้างต้นนั้น ยังไม่ครอบคลุมทุกชนิด ดังนั้นในทางปฏิบัติจึงยังมีสารบางชนิดที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ ตามที่ผู้ผลิตได้ขอขึ้นทะเบียนไว้ อย่างไรก็ตาม ภาพรวมของการใช้สารปฏิชีวนะในระบบการผลิตสัตว์ไทยได้ลดลงอย่างชัดเจน อาทิเช่น การห้ามใช้สารปฏิชีวนะในไก่เนื้อที่เลี้ยงเพื่อการส่งออก ทำให้ปริมาณการใช้สารดังกล่าวนี้ลดลง มีเพียงการใช้ยากันบิดและยาถ่ายพยาธิในระยะสั้น ๆ เท่านั้น ในส่วนของการเลี้ยงสุกรยังพบการใช้สารกลุ่มนี้อยู่บ้าง โดยวัตถุประสงค์ของการใช้ก็เพื่อป้องกันการท้องเสียและการติดเชื้อในสุกรระยะหย่านมถึงระยะอนุบาล (สาโรจน์, 2547) ในอนาคตมีความเป็นไปได้ที่ภาครัฐอาจประกาศห้ามใช้สารปฏิชีวนะทั้งหมด เพื่อเป็นการยกระดับมาตรฐานการผลิตสัตว์ให้เทียบเท่าประเทศคู่แข่ง ดังนั้นในปัจจุบันแนวคิดการใช้สารชนิดอื่นเพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะจึงได้รับความสนใจและมีการศึกษากันมากขึ้น

### สารทดแทนสารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ (Alternatives to Antibiotic Feed Additives)

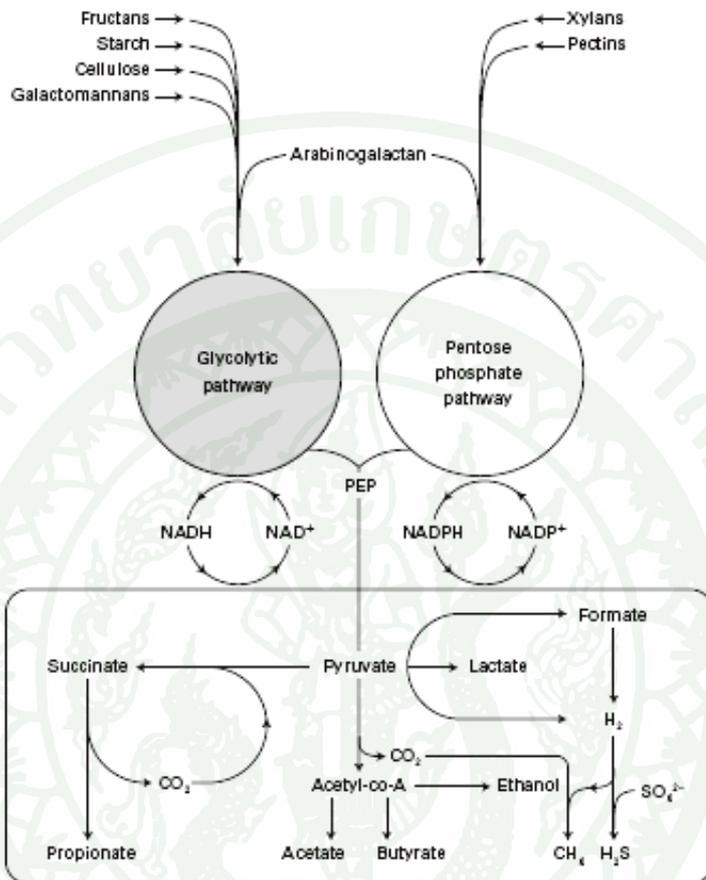
การห้ามใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ทำให้ผู้ผลิตปศุสัตว์เริ่มหันมาใช้สารชนิดอื่นทดแทน เช่น กรดอินทรีย์ เอนไซม์ ฟรีไบโอติก โปรไบโอติก และสมุนไพร เป็นต้น (Carlson and Fangman, 2000; Vondruskova *et al.*, 2010) โดยในการศึกษาล่าสุดนี้จะกล่าวถึงสารทดแทนสารปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ที่สำคัญ คือ โซเดียมกลูโคเนต กรดอินทรีย์ และฟรีไบโอติก

#### 1. โซเดียมกลูโคเนต (Sodium Gluconate)

โซเดียมกลูโคเนต เป็นรูปเกลือของกรดกลูโคนิก (Gluconic acid) โดยเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สมบูรณ์ของน้ำตาลกลูโคสจากจุลินทรีย์กลุ่มกลูโคโนแบคเตอร์ โครงสร้างทางเคมีของสารชนิดนี้ได้แสดงในภาพที่ 2 โซเดียมกลูโคเนตได้ถูกใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น เกษตรกรรม ภาพถ่ายอาหาร สารซักฟอก อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเครื่องหนัง และอุตสาหกรรมด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นต้น (Deppenmeier *et al.*, 2002; Znad *et al.*, 2004)



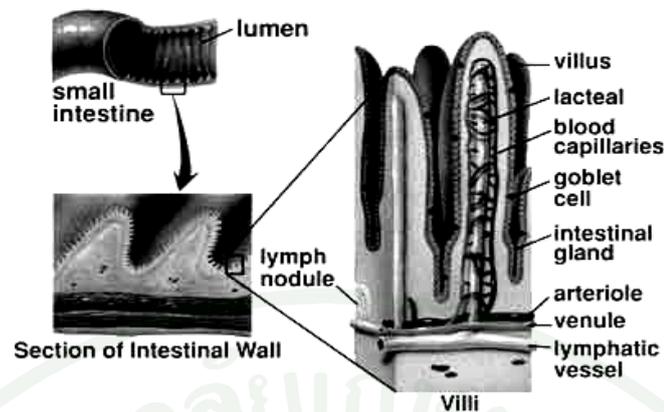
Roediger and Moore, 1981; Holtug *et al.*, 1995; Shimotoyodome *et al.*, 2000) วิธีเมทาบอลิซึมที่เกิดในกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ได้แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 วิธีเมทาบอลิซึมที่เกิดในกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์  
ที่มา: Macfarlane and Macfarlane (2003)

#### ผลของไซโตเมทริกโคเนตต่อกายวิภาคของระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารของสัตว์มีลักษณะเป็นท่อกลวง ติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยผ่านอวัยวะต่าง ๆ คือ ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ ในการย่อยและดูดซึมอาหารนั้น ลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่มีการดูดซึมสารอาหารมากที่สุด เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่น ๆ จากภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อภายในลำไส้ของระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจะเห็นได้ว่าบริเวณเนื้อเยื่อส่วนแบ่งที่เรียกว่าวิลลัส (Villus) และบริเวณฐานของวิลลัสเรียกว่าคริปต์ (Crypt) เป็นส่วนที่มีจำนวนเซลล์มาก เนื้อเยื่อบริเวณนี้เกี่ยวข้องกับการย่อยและดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกายโดยตรง (Bergman, 1990) นอกจากนี้ การเจริญและสลายของเซลล์เยื่อบุบริเวณดังกล่าวยังมีอัตราค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ส่วนอื่น (Fuller and Perdigon, 2003)



ภาพที่ 5 โครงสร้างเนื้อเยื่อภายในลำไส้ของระบบทางเดินอาหาร

ที่มา: Sanchez *et al.* (2010)

โซเดียมกลูโคเนตมีผลช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นในลำไส้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถกระตุ้นการเจริญของเยื่อภายในลำไส้ด้วย (Roediger, 1980) อีกทั้งลูกสุกรสามารถใช้กรดไขมันสายสั้นเป็นแหล่งพลังงานได้ (Fuller and Perdigon, 2003) ด้วยเหตุนี้ โซเดียมกลูโคเนตจึงอาจใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มความสูงของวิลลัสและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้

#### การเสริม โซเดียมกลูโคเนตต่อระบบภูมิคุ้มกัน

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายสัตว์ประกอบด้วย 4 กระบวนการ คือ 1.การจับกินและทำลายส่วนของสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจน (Antigen) 2.กลไกการทำปฏิกิริยาจำเพาะของสารภูมิคุ้มกันหรือแอนติบอดี (Antibody) ต่อแอนติเจน 3.เซลล์ทำหน้าที่ผลิตแอนติบอดีเพื่อจับกับแอนติเจนแบบจำเพาะ และ 4.เซลล์ทำหน้าที่จดจำเหตุการณ์ระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจนที่เกิดเพื่อใช้จัดการกับการบุกรุกครั้งต่อไป (Tizard, 2000) ฤทัย และคณะ (2539) รายงานว่า เมื่อแอนติเจนเข้าสู่ร่างกายในลักษณะพอเหมาะจะกระตุ้นเซลล์ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) 2 ชนิด คือ บีลิมโฟไซต์ และทีลิมโฟไซต์ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการตอบสนองที่สำคัญของระบบภูมิคุ้มกัน 2 ชนิด คือ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยการใช้สารน้ำ (Humoral immunity) ซึ่งหมายถึง แอนติบอดี โดยแอนติเจนจะกระตุ้นให้บีลิมโฟไซต์เพิ่มปริมาณและหลั่งแอนติบอดีที่จำเพาะมาจัดการกับแอนติเจนนั้น ๆ ในขณะที่เดียวกัน ร่างกายจะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (Cell-mediated immunity) ไปพร้อมกันด้วย โดยแอนติเจนที่เข้าสู่ตัวสัตว์จะไปกระตุ้นทีลิมโฟไซต์ให้มีการทำงาน 2 ลักษณะคือ ทำหน้าที่จดจำแอนติเจนนั้น ๆ และทำหน้าที่ทำลายแอนติเจนด้วยการหลั่งลิมโฟไคน (Lymphokine) เพื่อไปกระตุ้นปฏิกิริยาตอบโต้ของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน เช่น แมคโครฟาจ นอกจากนี้ ทีลิมโฟไซต์ยังสามารถเข้าทำลายแอนติเจนได้โดยตรง และย่อยสลายเนื้อเยื่อที่เสียหายด้วย

สำหรับการศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อการผลิตสัตว์ ส่วนใหญ่มักมุ่งเน้นวิจัยในด้านผลที่มีต่อการเจริญเติบโต สมรรถภาพการผลิต รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลของโซเดียมกลูโคเนตยังไม่ครอบคลุมนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านผลกระทบที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ ที่นับว่ายังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย สำหรับการศึกษาค้นคว้าของโซเดียมกลูโคเนตต่อระบบภูมิคุ้มกัน สามารถศึกษาได้หลายทาง เช่น

1. ศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของแอนติบอดี ซึ่งเป็นสารภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการตอบโต้ต่อแอนติเจนของร่างกาย (โสมทต, 2538)

2. ศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ เนื่องจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยแอนติบอดี (โสมทต, 2538)

3. ศึกษาแบบของโปรตีนในซีรัม (Serum protein pattern) โดยเทคนิคเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส (Cellulose acetate electrophoresis) เป็นวิธีการที่สะดวกและรวดเร็วในการวินิจฉัยหรือติดตามอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกาย จัดเป็นการเริ่มต้นตรวจสอบความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน โดยตรวจค่าโปรตีนทั้งหมดในซีรัม และหาปริมาณของโปรตีนแอลบูมิน (Albumin) และกลอบูลิน (Globulin) ซึ่งแอลบูมินสามารถใช้เป็นเครื่องชี้วัดการทำงานของตับได้ ส่วนระดับของกลอบูลินในซีรัมมักถูกใช้เพื่อตรวจสอบการอักเสบที่ตับ เนื้องอก และโรคไต (Keneko *et al.*, 1997)

## 2. กรดอินทรีย์ (Organic Acids)

การใช้กรดอินทรีย์ผสมในอาหารสัตว์มักมีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยรักษาคุณภาพของอาหารและเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา นอกจากนี้ ในช่วง 30 ปีที่ผ่านมาพบว่ากรดอินทรีย์หลายชนิดถูกใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต (BASF, 2003; Blanchard, 2004) ตัวอย่างกรดอินทรีย์ที่ถูกใช้เพื่อการถนอมคุณภาพอาหาร ได้แก่ กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีกรดชนิดอื่นที่ใช้ในอาหารสัตว์ด้วย เช่น กรดซิทริก กรดแลคติก กรดมาลิก กรดฟอร์มิก และกรดทาร์ทาริก เป็นต้น (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2539) กรดอินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ต่างกัน โดยประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์บางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

กรดอินทรีย์	ประสิทธิภาพ		
	สูง	กลาง	ต่ำ
กรดฟอร์มิก	ยีสต์ และแบคทีเรีย	แบคทีเรีย และเชื้อรา	-
กรดอะซิติก	แบคทีเรีย	ยีสต์ และเชื้อรา	-
กรดโพรพิโอนิก	เชื้อรา	แบคทีเรีย	ยีสต์
กรดบิวทิริก	แบคทีเรีย	-	-
กรดแลคติก	แบคทีเรีย	-	ยีสต์ และเชื้อรา
กรดซิทริก	-	แบคทีเรีย	-
กรดมาลิก	ยีสต์ และแบคทีเรียบางชนิด	-	-
กรดซอร์บิก	ยีสต์ รา และแบคทีเรียบางชนิด	-	-

ที่มา: Dhawale (2005)

ในทางปฏิบัตินิยมนำกรดอินทรีย์หลายชนิดผสมรวมกัน เพื่อให้ออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดีขึ้น (Dhawale, 2005) โดยประสิทธิภาพของกรดแต่ละชนิดจะเพิ่มตามความยาวของโมเลกุล (จำนวนคาร์บอน) และค่าคงที่การแตกตัวของกรด (pKa) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งค่าดังกล่าวมีผลทำให้ความเป็นกรดลดลง ดังนั้นช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่มากขึ้น จะส่งผลให้กรดอินทรีย์หลายชนิดที่ผสมรวมกันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มมีการเจริญได้ดีในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน (Moharrery and Mahzonieh, 2005)

ตารางที่ 2 ชนิด โครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล และ ค่า pKa ของกรดอินทรีย์แต่ละชนิด

กรดอินทรีย์	โครงสร้าง	MW	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>
กรดฟอร์มิก	HCOOH	46.03	3.75		
กรดอะซิติก	CH <sub>3</sub> COOH	60.05	4.76		
กรดโพรพิโอนิก	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	74.08	4.88		
กรดบิวทิริก	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	88.12	4.82		
กรดฟูมาริก	COOHCH=CHCOOH	116.07	3.02	4.38	
กรดมาลิก	COOHCH <sub>2</sub> CH(OH)COOH	134.09	3.4	5.1	
กรดซิทริก	COOHCH <sub>2</sub> C(OH)(COOH)CH <sub>2</sub> COOH	192.14	3.13	4.76	6.40

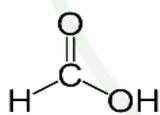
ที่มา: Foegeding and Busta (1991)

### ตัวอย่างกรดอินทรีย์ที่ใช้ในอาหารสัตว์

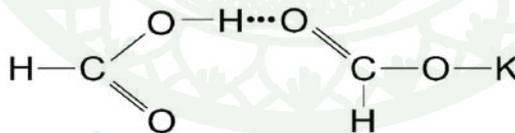
กรดอินทรีย์ที่ใช้ในอาหารสัตว์มีหลายชนิดด้วยกัน รายงานนี้ขอกล่าวถึงกรดอินทรีย์เพียง 2 ชนิดที่นิยมใช้ นั่นคือ กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิก โดยโครงสร้างทางเคมีของกรดดังกล่าวได้แสดงในภาพที่ 6

1. กรดฟอร์มิก (Formic acid) มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารได้เร็ว (Phillip *et al.*, 1982; Risley *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตาม กรดฟอร์มิกมีฤทธิ์กัดกร่อนรุนแรง และทำให้เกิดการระคายเคืองได้ จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการแก้ไขโดยใช้กรดนี้ในรูปของสารประกอบกับแร่ธาตุ คือ โปแตสเซียมไดฟอร์มेट (Potassium diformate) โดยไดฟอร์มेटชนิดนี้ ประกอบด้วยโปแตสเซียมฟอร์มेटและกรดฟอร์มิกจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Doyle, 2001; Mroz *et al.*, 2002) ดังแสดงโครงสร้างในภาพที่ 6

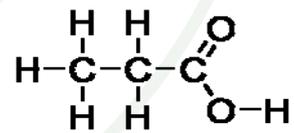
2. กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) มีกลิ่นฉุน และมีฤทธิ์ในการกักกร่อน กรดชนิดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแกรมบวก (Phillip *et al.*, 1982) กรดโพรพิโอนิกมักถูกใช้เพื่อถนอมคุณภาพอาหารสัตว์ อีกทั้งค่า pKa ของกรดอยู่ในระดับสูง คือ 4.88 จึงเหมาะต่อการใช้ผสมในอาหารสัตว์ เนื่องจากในอาหารสัตว์ทั่วไปมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.50 ถึง 6.50 ซึ่งเอื้อต่อการแตกตัวของกรด (BASF, 2003)



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟอร์มิก (A) โปแตสเซียมไดฟอร์มेट (B) และกรดโพรพิโอนิก (C)

ที่มา: Foegeding and Busta (1991); Mroz *et al.* (2002)

### กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์

1. กรดอินทรีย์ช่วยย่อยโปรตีนในอาหาร เนื่องจากกรดไฮโดรคลอริกจากกระเพาะอาจถูกจับยึดกับอาหาร ทำให้ไฮโดรเจนไอออน ( $\text{H}^+$ ) ไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นเปปซิโนเจนให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์เปปซิน (สาโรจน์, 2547) ด้วยเหตุนี้ การเสริมกรดอินทรีย์ในอาหาร โดยเฉพาะอาหารสัตว์เล็กจะช่วยปรับ

สภาพแวดล้อมของระบบทางเดินอาหารให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น (Risley *et al.*, 1991)

2. กรดอินทรีย์ช่วยควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยกรดอินทรีย์ทำให้ลำไส้มีความเป็นกรดอ่อน ๆ ซึ่งเหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกลุ่มแลคติก และสภาพแวดล้อมในลักษณะนี้ไม่เหมาะต่อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Ivan, 2003)

3. กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อเชื้อรา โดยปกติเชื้อราเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.50 ถึง 5.50 ดังนั้นการเสริมกรดอินทรีย์จึงเป็นการทำให้สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อรา (Ricke, 2003)

### 3. 프리ไบโอติก (Prebiotics)

프리ไบโอติกเป็นอาหารที่ไม่ถูกย่อยและจำเพาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Gibson, 1998) 프리ไบโอติกมักเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น หรือ โอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล 3 ถึง 10 โมเลกุล ยึดกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งพันธะชนิดนี้ไม่สามารถย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว 프리ไบโอติกต่างจากใยเนื่องจากมีความจำเพาะต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ (สารโรจน์, 2547) ตัวอย่างของ프리ไบโอติก ได้แก่ แลคทูโลส ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง เป็นต้น (Quigley and Quera, 2006)

ตัวอย่าง프리ไบโอติกที่ใช้ในอาหารสัตว์

รายงานนี้ขอกล่าวถึง프리ไบโอติกที่ได้รับความนิยมใช้ในอาหารสัตว์ คือ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์

1. ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo oligosaccharide) เป็น โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำตาลฟรุคโตสที่ไม่ถูกย่อย พบในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวสาลี บาร์เลย์ หอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง และแก่นตะวัน นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากการย่อยน้ำตาลซูโคสโดยเชื้อรา (สารโรจน์, 2547) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความจำเพาะต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ช่วยระบายท้อง เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ ลดการย่อยโปรตีนที่ลำไส้ใหญ่ และยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันในตับ จึงทำให้ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงได้ (Kaplan and Hutkins, 2000)

2. แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (Mannan oligosaccharide) เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากผนังเซลล์ของยีสต์ โดยมีน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบ มีความคงตัวสูง ไม่ถูกย่อยด้วยกรดหรือด่าง แต่จะถูกย่อยโดยเอนไซม์จากแบคทีเรียแกรมบวก และถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและฟอสเฟตของจุลินทรีย์ได้ (LeMieux *et al.*, 2003) คุณสมบัติของแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์อาจผันแปรตามสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ผลิต (Spring *et al.*, 2000) นอกจากนี้ แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ยังสามารถจับยึดกับแบคทีเรียที่ก่อโรค ป้องกันการตั้งถิ่นฐานที่ผนังลำไส้ เพิ่มความสูงของวิลลัสในลำไส้ ทำให้ช่วยเพิ่มการดูดซึมอาหาร กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (LeMieux *et al.*, 2003) อีกทั้งยังสามารถดูดซับสารพิษจากเชื้อราในอาหารได้ด้วย (Newman and Newman, 2001)

#### กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

กลไกการทำงานของพรีไบโอติกที่สำคัญ คือ กระตุ้นการเจริญและการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ด้วยการแก่งแย่งเพื่อขจัดออก (Competitive exclusion) โดยพรีไบโอติกมีคุณสมบัติเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ แต่ไม่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ที่ก่อโทษ (Gibson, 1998) นอกจากนี้ การจับเกาะกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษของพรีไบโอติก ช่วยทำให้เชื้อนั้นไม่สามารถยึดเกาะเยื่อบุผนังลำไส้ มันจึงถูกขับออกไป ส่งผลให้จำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษลดลง (Newman and Newman, 2001) พรีไบโอติกสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ โดยทำปฏิกิริยากับ Protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อบุผนังลำไส้ (Spring *et al.*, 2000) อีกทั้งยังเพิ่มจำนวนของเซลล์ Goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือกของผนังลำไส้เล็ก จึงช่วยปกป้องลำไส้จากการติดเชื้อได้อีกทาง (LeMieux *et al.*, 2003)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับผสมอาหารสัตว์ประกอบด้วย
  - 1.1 เครื่องบดวัตถุดิบอาหารสัตว์
  - 1.2 เครื่องผสมอาหารสัตว์ชนิดถังนอนความจุ 2,000 กิโลกรัม เพื่อใช้ผสมอาหารพื้นฐาน
  - 1.3 เครื่องผสมอาหารสัตว์ชนิดถังนอนความจุ 200 กิโลกรัม เพื่อใช้ผสมอาหารทดลอง
  - 1.4 เครื่องชั่งน้ำหนักวัตถุดิบ
2. เครื่องชั่งน้ำหนักสุกร และเครื่องชั่งน้ำหนักอาหารภายในคอกทดลอง
3. โรงเรือนทดลอง ขนาดกว้าง 12 เมตร ยาว 50 เมตร สูง 4 เมตร ด้านข้างโรงเรือนเป็นช่องเปิดระบายอากาศและติดตั้งฝ้าม่านพลาสติกสีทึบแสง ภายในโรงเรือนเป็นพื้นสแลตคอนกรีต และติดตั้งคอกทดลองขนาดกว้าง 1.5 เมตร ยาว 2 เมตร สูง 1 เมตร ด้านหน้าติดตั้งรางอาหารแบบนอนความยาว 1.5 เมตร โดยแบ่งออกเป็น 6 ช่อง ด้านข้างคอกติดตั้งที่ให้น้ำอัตโนมัติจำนวน 2 จุดต่อคอก
4. สัตว์ทดลองประกอบด้วย
  - 4.1 สุกรเพศเมียลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูรอก) น้ำหนักตัวประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว เพื่อใช้เก็บตัวอย่างอาหารจากระบบทางเดินอาหารและนำไปทดลองในห้องปฏิบัติการ
  - 4.2 สุกรเพศเมียลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูรอก) น้ำหนักตัวประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 288 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ๆ ละ 144 ตัว
5. อาหารพื้นฐาน กำหนดให้มีส่วนประกอบของวัตถุดิบและระดับโภชนะตามคำแนะนำทางการค้า ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 โดยทำการผสมอาหารพื้นฐานด้วยเครื่องผสมชนิดถังนอนความจุ 2,000 กิโลกรัม และเก็บอาหารพื้นฐานไว้ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการใช้ จึงนำอาหารพื้นฐานไปผสมเพื่อผลิตอาหารทดลอง
6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์และวัดลักษณะที่ศึกษา ประกอบด้วย
  - 6.1 อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists [AOAC] (2000)

- 6.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH/Ion 510 Bench pH/Ion/mV Meter จาก Eutech Instruments ประเทศสิงคโปร์) และสารเคมีสำหรับวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง
- 6.3 ชุดทดสอบสำเร็จรูปเพื่อวัดปริมาณแอมโมเนีย (Urea/BUN- Color จาก Biosystems S.A. ประเทศสเปน)
- 6.4 ชุดทดสอบสำเร็จรูปเพื่อวัดปริมาณกรดแลคติก (D-/L-Lactic Acid (D-/L-Lactate) Assay Kit จาก Megazyme International สาธารณรัฐไอร์แลนด์)
- 6.5 อุปกรณ์ผ่าตัดและเครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิทัล ความละเอียด 2 ตำแหน่ง เพื่อวัดน้ำหนักอวัยวะภายใน
- 6.6 อุปกรณ์เก็บ เตรียมตัวอย่าง และวัดค่าศึกษาต่าง ๆ จากเลือด ประกอบด้วย
- 6.6.1 อุปกรณ์เจาะและเก็บตัวอย่างเลือด
  - 6.6.2 กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) เพื่อตรวจชนิดเม็ดเลือดขาว
  - 6.6.3 เครื่องแยกสาร โดยการเหวี่ยงหนีศูนย์กลางชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge)
  - 6.6.4 ชุดอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในซีรัม โดยเทคนิคเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	วัตถุดิบอาหาร	จำนวน (กิโลกรัม)
1	ปลายข้าว	42.50
2	ข้าวโพด	5.08
3	ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	28.00
4	กากถั่วเหลือง (โปรตีน 48 เปอร์เซ็นต์)	4.00
5	รำข้าว	10.00
6	ปลาป่น (โปรตีน 60 เปอร์เซ็นต์)	2.00
7	หางนม	5.00
8	แอล-ไลซีน	0.30
9	ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.10
10	แอล-ทรีโอนีน	0.10
11	โมโนไคแคลเซียมฟอสเฟต (P 21 เปอร์เซ็นต์)	1.20
12	แคลเซียมคาร์บอเนต	0.90
13	เกลือ	0.32
14	พรีมิกซ์*	0.50
	รวม	100.00

หมายเหตุ \*พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 4 MIU วิตามินดี 0.64 MIU วิตามินอี 24,000 IU วิตามินเค 3 1.4 กรัม วิตามินบี 1 0.6 กรัม วิตามินบี 2 0.3 กรัม วิตามินบี 6 0.75 กรัม วิตามินบี 12 14 มิลลิกรัม กรดนิโคตินิก 20 กรัม กรดแพนโทนิค 10 กรัม กรดโฟลิก 0.44 กรัม ไบโอดีน 0.04 กรัม โคบาลิน 60 กรัม เหล็ก 45 กรัม ทองแดง 40 กรัม แมงกานีส 15 กรัม สังกะสี 40 กรัม โคบอลต์ 0.2 กรัม ไอโอดีน 0.4 กรัม ซีลีเนียม 0.06 กรัม และสื่อเติมจนครบ 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 4 ระดับโภชนะ (จากการคำนวณ) ของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	รายการ	จำนวน
1	พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00
2	โปรตีนรวม (เปอร์เซ็นต์)	20.00
3	แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)	1.00
4	ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (เปอร์เซ็นต์)	0.50
5	ไลซีน (เปอร์เซ็นต์)	1.35
6	เมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)	0.50
7	ทรีโอนีน (เปอร์เซ็นต์)	0.85

6.7 อุปกรณ์ในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ ประกอบด้วย

6.7.1 เครื่องตีบดผสม (Stomacher Lab Blender 400 จาก Seward Medical สหราชอาณาจักร) เพื่อเตรียมตัวอย่าง

6.7.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) ประกอบด้วย

6.7.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Sharpe (MRS) (Difco™, Becton and Dickinson สาธารณรัฐอาร์เจนตินา)

6.7.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey (Laboratorios Britania, Mendoza สาธารณรัฐอาร์เจนตินา)

6.7.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

6.7.4 ถังบ่มเพาะเชื้อชนิดไร้ออกซิเจน (Anaerobic jars)

6.8 อุปกรณ์และสารเคมีเพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อในลำไส้

6.8.1 อุปกรณ์ผ่าตัด สารเคมีเพื่อเก็บและเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้

6.8.2 เครื่องคอมพิวเตอร์ กล้องจุลทรรศน์ และชุดโปรแกรม Biowizard เพื่อถ่ายภาพและวัดขนาดเนื้อเยื่อลำไส้ (Biowizard จากบริษัทไทยจุลทรรศน์ ประเทศไทย)

6.9 เครื่อง Gas Chromatography (GC 2010 จาก Shimadzu Corporation ประเทศญี่ปุ่น) เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันสายสั้น

## วิธีการ

### การทดลองที่ 1 ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากการหมักของจุลินทรีย์จาก กระพุ้งไส้ใหญ่ในสุกรระยะอนุบาล

#### สัตว์ทดลอง

การศึกษาใช้สุกรเพศเมียลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x คูรอก) น้ำหนักตัวประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างอาหารจากลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) และกระพุ้งไส้ใหญ่ (Caecum) มาทำการศึกษการหมักในห้องปฏิบัติการ

#### การเตรียมสัตว์ทดลอง

เลี้ยงสุกรโดยใช้อาหารพื้นฐาน (ตารางที่ 3) จนมีน้ำหนักตัวประมาณ 35 กิโลกรัม เพื่อให้มีปริมาณอาหารในลำไส้เล็กส่วนปลายและกระพุ้งไส้ใหญ่เพียงพอ ทำการเปิดซากสุกรจำนวน 5 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างอาหารจากลำไส้เล็กส่วนปลาย และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนทำการทดลองต่อไป จากนั้นเปิดซากสุกรอีกจำนวน 5 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างอาหารที่กระพุ้งไส้ใหญ่ บรรจุลงในหลอดทดลอง ควบคุมอุณหภูมิที่ 39 องศาเซลเซียส และส่งไปห้องปฏิบัติการทันที

#### การเตรียมตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์

การทดลองใช้จุลินทรีย์จากลำไส้ส่วนกระพุ้งไส้ใหญ่ เป็นตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาตามวิธีการของ Biagi *et al.* (2006) โดยนำตัวอย่างอาหารส่วนกระพุ้งไส้ใหญ่มาเจือจางด้วยสารละลาย Anaerobic sodium phosphate buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 จากนั้นกรองตะกอน และนำของเหลวที่กรองได้ใช้เป็นตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์

#### การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้น

การทดลองใช้ตัวอย่างอาหารที่ผ่านการย่อยและคูดซิมตามการศึกษาของ Piva *et al.* (1997) โดยเก็บตัวอย่างอาหารจากลำไส้เล็กส่วนปลาย อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า) โดยวิธี Proximate Analysis (AOAC, 2000) ตัวอย่างอาหารที่ได้ใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดลอง

### การหมักและเก็บตัวอย่าง

การทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ตัวอย่าง โดยประกอบด้วยกลุ่มควบคุม (ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต) และเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,250 2,500 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วนของอาหารที่เก็บจากลำไส้เล็กส่วนปลายอบแห้งจำนวน 0.5 กรัม จากนั้นผสมของเหลวที่ได้จากอาหารในส่วนกระพุ้งไส้ใหญ่ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยควบคุมสภาวะการหมักด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ ที่ 4 8 และ 24 ชั่วโมง แต่ละช่วงการทดลองเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง และแอมโมเนีย และเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง

### การวิเคราะห์ความแปรปรวนและแบบหุนทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torries (1980) โดยมีแบบหุนทางสถิติคือ

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

เมื่อ

$\mu$  = ค่าเฉลี่ยรวม

$A_i$  = อิทธิพลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตต่อการหมัก

โดย  $i =$  1 ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)

2 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,250 ส่วนต่อล้านส่วน

3 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน

4 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน

5 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน

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

### การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐานและอาหารจากลำไส้ โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า ด้วยวิธี Proximate Analysis (AOAC, 2000)

2. บันทึกค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter และปริมาณแอมโมเนียของอาหารที่ผ่านกระบวนการหมักที่ 4 8 และ 24 ชั่วโมง ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป

3. บันทึกปริมาณกรดไขมันสายสั้นของอาหารที่ผ่านกระบวนการหมักที่ 24 ชั่วโมง โดยนำตัวอย่างผสมกรดไฮโดรคลอริก (6 โมล/ลิตร) ในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ จากนั้นนำไปหมนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 g นาน 10 นาที เพื่อเก็บตัวอย่างส่วนใส พักไว้ 3 ชั่วโมงก่อนหมนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 14,000 g นาน 10 นาที จากนั้นจึงนำตัวอย่างส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้น ซึ่งประกอบด้วย กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมด ด้วยเครื่อง Gas chromatography

## การทดลองที่ 2 ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

### สัตว์ทดลอง

การศึกษาใช้สุกรเพศเมียลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูรอก) น้ำหนักตัวประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 144 ตัว โดยแบ่งสุกรออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 6 ตัว แต่ละกลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มใกล้เคียงกัน

### อาหารทดลอง

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยประกอบด้วยกลุ่มควบคุม (ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต) และเสริมโซเดียมกลูโคเนตลงในอาหารพื้นฐาน (ตารางที่ 3) ที่ระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน การทดลองทำการเสริมสารทดแทนน้ำหนั (ซังข้าวโพดบด) เพื่อปรับสัดส่วนของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในแต่ละกลุ่มให้เท่ากัน

### การจัดการเลี้ยงดู

ตลอดระยะเวลาการทดลอง สุกรได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โรงเรือนทำความสะอาดและพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อทุก 2 วัน การทดลองใช้ระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 3 ช่วง แต่ละช่วงมีการบันทึกสมรรถภาพการผลิตของสุกร และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่มถูกใช้เพื่อศึกษามетаบอลิซึมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และกายวิภาคของระบบทางเดินอาหาร

## การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐาน โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าของอาหารทดลอง ด้วยวิธี Proximate Analysis (AOAC, 2000)

2. บันทึกสมรรถภาพการผลิตโดยแบ่งออกเป็น

2.1 ปริมาณอาหารที่กินและน้ำหนักตัวของสุกรในแต่ละช่วงการทดลอง

2.2 บันทึกอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว

3. บันทึกค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะ (Stomach) ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) กระเพาะใหญ่ (Caecum) และไส้ตรง (Rectum) ด้วยเครื่อง pH meter

4. บันทึกปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดในกระเพาะใหญ่ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

5. บันทึกปริมาณกรดแลคติกในกระเพาะใหญ่ ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป

6. บันทึกปริมาณจุลินทรีย์ในกระเพาะใหญ่ และมูลจากส่วนไส้ตรง โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมลงในสารละลาย Buffered peptone water จำนวน 90 มิลลิลิตร และทำการผสมด้วยเครื่องตีบดผสม จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการปรับความเจือจาง 10 เท่าในสารละลาย Buffered peptone water ก่อนทำการเพาะเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ได้โดย

6.1 วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Sharpe (MRS) โดยทำการบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในถังบ่มเพาะเชื้อชนิดไร้ออกซิเจนตามวิธีของ Biagi *et al.* (2006)

6.2 วิเคราะห์จำนวนเชื้อ อี.โคไล (*Escherichia coli*) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey ทำการบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37.8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะมีออกซิเจนตามวิธีของ Biagi *et al.* (2006)

7. ศึกษากายวิภาคของระบบทางเดินอาหาร โดยทำการเก็บตัวอย่าง ลำไส้เล็กส่วนต้น และลำไส้เล็กส่วนกลาง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของวิลลัสและคริปต์ โดยเก็บเนื้อเยื่อลำไส้ทำความสะอาดใน Phosphate buffer saline จากนั้นบรรจุลงใน Phosphate buffer formalin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปตัดเนื้อเยื่อแต่ละส่วนด้วย Microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร และย้อมด้วยย้อม Haematoxylin และ Eosin stain เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวในทางเดินอาหาร โดยบันทึกความสูงของ

วิลลัสและความลึกของคริปต์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์โดยสุ่มวัดจากวิลลัสและคริปต์จำนวน 10 จุดในแต่ละสไลด์

8. บันทึกน้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอด

9. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ เสมียร์ลง ในกระจกสไลด์แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ 10 ถึง 15 นาที จากนั้นทำการย้อมด้วยสี Wright's Stain จึงนำมาหาอัตราส่วนเม็ดเลือด โดยการนับแยกชนิด อัตราส่วน 100 เซลล์ โดยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

10. เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 3 นาที เพื่อตรวจระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวาต์สุกรด้วยวิธี Neutralizing Peroxidase Linked Assay ตามวิธีของ วาสนา (2543)

11. ศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนทั้งหมดในซีรัมด้วยการทดสอบไบยูเรตโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป

12. ศึกษาระบบภูมิคุ้มกันโดยนำซีรัมมาวิเคราะห์แบบของโปรตีนในซีรัมด้วยเทคนิคเซลลูโลส อะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส

การวิเคราะห์ความแปรปรวนและแบบหุนทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torries (1980) โดยมีแบบหุนทางสถิติ คือ

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

เมื่อ

$\mu$  = ค่าเฉลี่ยรวม

$A_i$  = อิทธิพลของการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหาร

โดย  $i =$  1 ไม่เสริมโซเดียมกลูโคเนต (กลุ่มควบคุม)

2 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,000 ส่วนต่อล้านส่วน

3 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน

4 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน

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

**การทดลองที่ 3** เปรียบเทียบผลของโซเดียมกลูโคเนตกับแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไคฟอร์เมท ต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

สัตว์ทดลอง

การศึกษาใช้สุกรเพศเมียลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูรอก) น้ำหนักประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 144 ตัว โดยแบ่งสุกรเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 6 ตัว แต่ละกลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มใกล้เคียงกัน

อาหารทดลอง

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยเปรียบเทียบผลของโซเดียมกลูโคเนตกับสารเสริมอาหารสัตว์ชนิดอื่นในสุกรระยะอนุบาล ทำการศึกษาเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 โดยประกอบด้วยกลุ่มควบคุม (ไม่เสริมสารใด ๆ) และกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไคฟอร์เมท ที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ในอาหารตามลำดับ โดยปรับสัดส่วนของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในแต่ละกลุ่มให้เท่ากันด้วยสารทดแทนน้ำหนักร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

การจัดการเลี้ยงดู

ตลอดระยะเวลาการทดลอง สุกรได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โรงเรือนทำความสะอาดและพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อทุก 2 วัน การศึกษาใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 3 ช่วง แต่ละช่วงมีการบันทึกสมรรถภาพการผลิตของสุกร และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่มถูกใช้เพื่อศึกษาเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และกายวิภาคของระบบทางเดินอาหาร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

การบันทึกข้อมูล

ทำการศึกษาสมรรถภาพการผลิต จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร กายวิภาคของระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

## การวิเคราะห์ความแปรปรวนและแบบหุนทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปตามวิธีของ Steel and Torries (1980) โดยมีแบบหุนทางสถิติคือ

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

เมื่อ

$\mu$  = ค่าเฉลี่ยรวม

$A_i$  = อิทธิพลของสารเสริมในอาหาร

โดย  $i$  = 1 ไม่เสริมสารใด ๆ (กลุ่มควบคุม)

2 เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน

3 เสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วน

4 เสริมโพลีแซคคาไรด์ไฟโรว์เมทที่ระดับ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน

$\epsilon_{ij}$  = ความคลาดเคลื่อนของการทดลองโดย  $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

### ระยะเวลาในการทดลอง

สิงหาคม 2549 - ตุลาคม 2551

### สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มสัตว์วิจัยหลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
2. บริษัท ชันฟีด จำกัด อ.หนองแค จ.สระบุรี
3. บริษัท ไทยเอ็กเซลล์ฟูดส์ จำกัด ลาดกระบัง กรุงเทพฯ
4. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

5. ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลางบางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
6. ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
7. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
อ.ศาลายา จ.นครปฐม
8. ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
อ.ศาลายา จ.นครปฐม
9. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ
10. หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ

## ผลและวิจารณ์

### การทดลองที่ 1 ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากการหมักของจุลินทรีย์จาก กระพุงไต้ใหญ่ในสุกรระยะอนุบาล

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและอาหารจากลำไต้เล็กส่วนปลาย

โปรตีนรวมจากการวิเคราะห์อาหารทดลองมีค่าเท่ากับ 20.95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับการคำนวณ คือ 20.00 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับค่าวิเคราะห์ทางเคมีอื่น ๆ ได้แก่ ไขมันรวม เยื่อใย ถั่วคาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัสทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 7.97 3.91 2.91 64.26 1.10 และ 1.01 เปอร์เซ็นต์ และค่าที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 7.80 3.50 2.20 66.50 1.00 และ 0.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับอาหารจากลำไต้เล็กส่วนปลายของสุกรมียปริมาณโปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใย ถั่วคาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และฟอสฟอรัสทั้งหมด เท่ากับ 3.60 3.96 83.15 0.54 8.75 0.03 และ 0.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ผลการวิเคราะห์โภชนะในอาหารจากลำไต้เล็กส่วนปลายมีปริมาณลดลง แสดงว่าสัตว์สามารถย่อยและดูดซึมโภชนะต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกายก่อนเคลื่อนถึงบริเวณนี้ ยกเว้นเยื่อใยซึ่งสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ จึงทำให้ที่บริเวณลำไต้เล็กส่วนปลายพบปริมาณเยื่อใยในอาหารสูงถึง 83.15 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อาหารทดลองมีปริมาณ 3.91 เปอร์เซ็นต์ โดยตัวอย่างที่ได้จากลำไต้เล็กส่วนปลายจะใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดลองครั้งนี้ แม้ว่าสารตั้งต้นนี้อาจเตรียมได้จากวิธีอื่น เช่น ใช้อาหารทดลองที่ผ่านการย่อยโดยเอนไซม์สังเคราะห์ 2 ชนิด คือ เปปซิน และแพนครีเอติน (Biagi *et al.*, 2006)

ค่าความเป็นกรด - ต่างจากการหมัก

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในการหมักของจุลินทรีย์จากกระพุงไต้ใหญ่ของสุกรไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยที่เวลา 4 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยเท่ากับ 5.20 อย่างไรก็ตาม ที่เวลาการหมัก 8 ชั่วโมง พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 2,500 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน ลดค่าความเป็นกรด-ด่างได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยวัดค่าได้เท่ากับ 5.14 5.13 และ 5.12 ตามลำดับ และการหมักที่ 24 ชั่วโมง การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.02 ซึ่งต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เมื่อเทียบกับการเสริมที่ระดับ 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ที่มีค่าวัดได้เท่ากับ 5.08 และ 5.07 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6

**ตารางที่ 5** องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองจากการคำนวณ ผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง องค์ประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของอาหารจากลำไส้เล็กส่วนปลายของสุกร (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี	อาหารทดลอง		อาหารจาก ลำไส้เล็กส่วน ปลาย	การ เปลี่ยนแปลง
	จากการ คำนวณ	จากการ วิเคราะห์		
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00	-	-	-
โปรตีนรวม (เปอร์เซ็นต์)	20.00	20.95	3.60	- 17.35
ไขมันรวม (เปอร์เซ็นต์)	7.80	7.97	3.96	- 4.01
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	3.50	3.91	83.15	+ 79.24
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	2.20	2.91	0.54	- 2.37
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)	66.50	64.26	8.75	- 55.51
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)	1.00	1.10	0.03	- 1.07
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	0.90	1.01	0.11	- 0.90
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (เปอร์เซ็นต์)	0.50	-	-	-

ที่เวลา 4 8 และ 24 ชั่วโมงของการหมัก กลุ่มควบคุมมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.20 5.21 และ 5.13 ตามลำดับ เมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนต พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาในการหมักมากขึ้นโซเดียมกลูโคเนตลดระดับค่าความเป็นกรด-ด่างในหลอดทดลองได้ สอดคล้องกับการศึกษาของธีรวิทย์ และคณะ (2552) ทั้งนี้อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้โซเดียมกลูโคเนตเป็นอาหาร ทำให้เกิดกรดอินทรีย์จากการหมัก และส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (Tsukahara *et al.*, 2002; Hashizume *et al.*, 2003)

การหมักที่เวลา 4 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เปลี่ยนแปลง อาจมีสาเหตุจากปริมาณกรดไขมันสายสั้นไม่สูงพอ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ต้องใช้เวลาในระยะหนึ่ง (มากกว่า 4 ชั่วโมง) เพื่อย่อยโซเดียมกลูโคเนต โดยการทำงานของจุลินทรีย์อาจใช้เวลา 12 ถึง 24 ชั่วโมง เพื่อผลิตกรดไขมันสายสั้น (Michel *et al.*, 1996)

**ตารางที่ 6** ค่าความเป็นกรด-ด่างจากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)					P-value	Pooled SEM
	0	1,250	2,500	5,000	7,500		
4	5.20	5.19	5.20	5.20	5.20	0.07	0.01
8	5.21 <sup>A</sup>	5.17 <sup>B</sup>	5.14 <sup>C</sup>	5.13 <sup>C</sup>	5.12 <sup>C</sup>	<0.01	0.01
24	5.13 <sup>A</sup>	5.11 <sup>A</sup>	5.08 <sup>B</sup>	5.07 <sup>B</sup>	5.02 <sup>C</sup>	<0.01	0.01

**หมายเหตุ** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากจำนวน 4 ตัวอย่างต่อกลุ่ม

<sup>A, B และ C</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

สารเสริมในอาหารสัตว์หลายชนิดสามารถเพิ่มความเป็นกรดบริเวณกระพุ้งไส้ใหญ่ได้ แม้ว่าสารแต่ละชนิดจะมีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกัน (Vanbelle *et al.*, 1990; Piva *et al.*, 2002; Steed and Macfarlane, 2009) การลดค่าความเป็นกรด-ด่างจากการหมักของโซเดียมกลูโคเนตนั้นอาจเป็นผลโดยตรงจากการทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งต่างจากการเสริมสารชนิดอื่น เช่น กรดอินทรีย์ที่ลดค่าความเป็นกรด-ด่างจากการแตกตัวของกรดเอง (Knarreborg *et al.*, 2002)

#### ปริมาณแอมโมเนีย

ปริมาณแอมโมเนียที่เกิดจากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกันได้แสดงดังตารางที่ 7 พบว่าที่เวลาการหมัก 4 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างของปริมาณแอมโมเนีย แต่การหมักที่เวลา 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณแอมโมเนียลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณแอมโมเนียลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมในระดับ 1,250 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน และกลุ่มควบคุม

ระยะเวลาในการหมักที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแอมโมเนียสูงตาม โดยพบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียที่เวลา 4 ชั่วโมงเท่ากับ 0.19 มิลลิโมล/ลิตร และเมื่อเวลาการหมักเพิ่มเป็น 8 และ 24 ชั่วโมง วัดปริมาณแอมโมเนียได้สูงขึ้นเป็น 0.22 และ 0.38 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้แอมโมเนียเกิดจากการปล่อยสารประกอบไนโตรเจนของจุลินทรีย์บางกลุ่ม หรือจากการย่อยสลายของโปรตีนที่คงเหลือในอาหาร (Asano *et al.*, 1994) การศึกษาครั้งนี้เป็นการจำลองสภาวะการหมักแบบระบบปิด จึงมีการสะสมของแอมโมเนียเมื่อระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองอื่น ที่พบว่าปริมาณ

แอมโมเนียเพิ่มสูงหลังการหมัก 4 ชั่วโมง โดยเป็นผลจากการย่อยสารประกอบไนโตรเจนของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (ธีรวิทย์ และคณะ, 2552; Stevens, 1988; Tsukahara and Ushida, 2001; Biagi *et al.*, 2006)

**ตารางที่ 7** ปริมาณแอมโมเนีย (มิลลิโมล/ลิตร) จากการหมักของอาหารจากถั่วใส่สุกรเมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)					P-value	Pooled SEM
	0	1,250	2,500	5,000	7,500		
4	0.19	0.21	0.22	0.20	0.22	0.85	0.01
8	0.22 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.19 <sup>ab</sup>	0.17 <sup>bc</sup>	0.14 <sup>c</sup>	0.02	0.01
24	0.38 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.33 <sup>ab</sup>	0.28 <sup>bc</sup>	0.23 <sup>c</sup>	0.02	0.02

**หมายเหตุ** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากจำนวน 4 ตัวอย่างต่อกลุ่ม

<sup>a, b และ c</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

จากการศึกษาพบว่าที่เวลาการหมัก 8 และ 24 ชั่วโมง ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตาม การทดลองครั้งนี้ได้ทำในระบบปิด ทำให้เกิดการสะสมแอมโมเนียเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจให้ผลต่างจากในสัตว์เนื่องจากแอมโมเนียจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ทำให้ปริมาณที่วัดได้น้อยลง (Gibson and Roberfroid, 1995) และเมื่อเปรียบเทียบผลการเสริมโซเดียมกลูโคเนต พบว่าสารดังกล่าวลดปริมาณการเกิดแอมโมเนียได้ที่เวลาการหมัก 8 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งอาจเกิดจากการลด proteolysis ของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ (Biagi *et al.*, 2006) ขณะที่โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยจะทำให้เกิดสารพิษในระบบทางเดินอาหาร เช่น แอมโมเนีย และเอมีน (Russell *et al.*, 1983)

#### ปริมาณกรดไขมันสายสั้น

การศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่เกิดจากการหมักของจุลินทรีย์จากกระพุงใส่ใหญ่ของสุกร ประกอบด้วยกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมด (ตารางที่ 8) ที่เวลาการหมัก 24 ชั่วโมง กลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีปริมาณกรดอะซิติกเฉลี่ย 21.12 มิลลิโมล/ลิตร เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีปริมาณเท่ากับ 11.08 มิลลิโมล/ลิตร

ตารางที่ 8 ปริมาณกรดไขมันสายสั้น (มิลลิโมล/ลิตร) จากการหมักของอาหารจากลำไส้สุกรที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

กรดไขมันสายสั้น	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)					P-value	Pooled SEM
	0	1,250	2,500	5,000	7,500		
กรดอะซิติก	11.08 <sup>B</sup>	21.41 <sup>A</sup>	20.10 <sup>A</sup>	22.00 <sup>A</sup>	20.97 <sup>A</sup>	<0.01	1.18
กรดโพรพิโอนิก	6.31 <sup>D</sup>	9.37 <sup>C</sup>	11.38 <sup>B</sup>	12.89 <sup>B</sup>	15.69 <sup>A</sup>	<0.01	0.87
กรดบิวทิริก	3.10	3.20	3.33	3.28	3.30	0.10	0.06
กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด*	20.50 <sup>C</sup>	33.98 <sup>B</sup>	35.11 <sup>B</sup>	38.07 <sup>AB</sup>	39.96 <sup>A</sup>	<0.01	1.90

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากจำนวน 4 ตัวอย่างต่อกลุ่ม

\*ผลรวมความเข้มข้นของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก

A, B และ C อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มกรดโพรพิโอนิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยการเสริมที่ระดับ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 15.69 มิลลิโมล/ลิตร มากกว่ากลุ่มควบคุมที่มีปริมาณกรดโพรพิโอนิกเพียง 6.31 มิลลิโมล/ลิตร อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณกรดบิวทิริกจากการเสริมโซเดียมกลูโคเนตทั้ง 4 ระดับ โดยมีปริมาณของกรดบิวทิริกเฉลี่ยเท่ากับ 3.24 มิลลิโมล/ลิตร และเมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดซึ่งเป็นผลรวมของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก พบว่ากลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับความเข้มข้น 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) คือ 38.07 และ 39.96 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีปริมาณเท่ากับ 20.50 มิลลิโมล/ลิตร และกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,250 และ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณของกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดเท่ากับ 33.98 และ 35.11 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองนี้พบว่าโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มปริมาณกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิกเมื่อเวลาการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง โดยการหมักในหลอดทดลอง จุลินทรีย์จะผลิตไพรูเวต (Pyruvate) ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นสารชนิดอื่นได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดจุลินทรีย์และสภาวะการหมักในขณะนั้น (Cummins and Macfarlane, 1991) จากการศึกษาของ Macfarlane and Macfarlane (2003) พบว่าปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตกรดไขมันสายสั้น คือ ปริมาณคาร์บอนที่ใช้เป็นสารตั้งต้น เช่น การหมักของเชื้อแบคทีเรียออบัส โอวาตัส (*Bacteroides ovatus*) และเชื้อคลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ในสภาวะที่มีปริมาณคาร์บอนจำกัด จุลินทรีย์จะเปลี่ยนไพรูเวต เป็นอะซิติลโคเอ (Acetyl-CoA) และซัคซินเนต

(Succinate) โดยอะซิติก โคเอ จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Macfarlane and Cummings, 1991) ขณะที่ ซักซินเนตจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดโพรพิโอนิก ดังแสดงในวิถีเมทาบอลิซึมที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักย่อยของ จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ (ภาพที่ 4) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ โซเดียมกลูโคเนตจึงอาจ เพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว ทำให้ปริมาณคาร์บอนไม่เพียงพอ จุลินทรีย์จึงผลิตกรดอะซิติกและ กรดโพรพิโอนิกสูงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ชนิดกรดไขมันสายสั้นที่ผลิตอาจขึ้นกับกลไกการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) โดยจุลินทรีย์ใช้ไพรูเวตผลิตสารให้อิเล็กตรอน (Reducing agent) หรือรับอิเล็กตรอน (Oxidizing agent) เพื่อปรับสมดุลปฏิกิริยารีดอกซ์ในตัวของจุลินทรีย์ เช่น ผลิตไฮโดรเจน กรดแลคติก กรดซักซินิก กรดบิวทิริก และเอทานอล ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอน หรือผลิตสารที่รับอิเล็กตรอน เช่น อะซิเตท (Cummings and Macfarlane, 1991) จากการทดลอง พบว่ากลุ่มควบคุมมีสัดส่วน กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก เท่ากับ 54.07 30.79 และ 15.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงถึง จุลินทรีย์มีสัดส่วนการผลิตสารที่รับอิเล็กตรอน (อะซิเตท) สูง ขณะที่การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีสัดส่วนกรดไขมันสายสั้นเปลี่ยนเป็น 52.43 39.23 และ 8.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึง อาจเป็นไปได้ว่าโซเดียมกลูโคเนตทำให้จุลินทรีย์ผลิตกรดซักซินิกสูง ซึ่งสารนี้สามารถให้อิเล็กตรอนเพื่อ ปรับสมดุลปฏิกิริยารีดอกซ์ และอาจเปลี่ยนเป็นกรดโพรพิโอนิก ส่งผลให้พบปริมาณกรดโพรพิโอนิก สูงขึ้นมากดังแสดงในตารางที่ 8

การทดลองที่ 2 ผลของโซเดียมกลูโคเนตต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์  
ในระบบ ทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

การทดลองกำหนดให้อาหารพื้นฐานมีระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใย เถา คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัสทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ เท่ากับ 3,350.00 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม 20.00 7.80 3.50 2.20 66.50 1.00 0.90 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่ได้ใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณไว้ คือ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใย เถา คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และฟอสฟอรัสทั้งหมด เท่ากับ 20.80 7.70 3.61 2.80 65.09 1.02 และ 1.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยองค์ประกอบและผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลองแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมีและผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบ)

องค์ประกอบทางเคมี	อาหารทดลอง	
	จากการคำนวณ	จากการวิเคราะห์
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00	-
โปรตีนรวม (เปอร์เซ็นต์)	20.00	20.80
ไขมันรวม (เปอร์เซ็นต์)	7.80	7.70
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	3.50	3.61
เถา (เปอร์เซ็นต์)	2.20	2.80
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)	66.50	65.09
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)	1.00	1.02
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	0.90	1.01
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (เปอร์เซ็นต์)	0.50	-

สมรรถภาพการผลิตของสุกร

สุกรมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ 10.55 กิโลกรัม/ตัว และเมื่อสิ้นสุดการทดลองสุกรที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) โดยมีน้ำหนักตัว 35.70 กิโลกรัม/ตัว ขณะที่กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเท่ากับ 33.90 กิโลกรัม/ตัว และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,000 และ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 34.71 และ 34.95 กิโลกรัม/ตัว ตามลำดับ

สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยวัดค่าได้เท่ากับ 0.60 กิโลกรัม/วัน เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ 0.56 กิโลกรัม/วัน และกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,000 และ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากัน คือ 0.58 กิโลกรัม/วัน อย่างไรก็ตาม การเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กิน โดยสุกรกินอาหารเฉลี่ยต่อตัวได้ปริมาณเท่ากับ 0.97 กิโลกรัม/วัน

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของสุกรดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) โดยพบว่าสุกรต้องใช้อาหาร 1.59 กิโลกรัม ในการเปลี่ยนเป็นน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ในขณะที่สุกรกลุ่มควบคุมต้องใช้อาหารถึง 1.76 กิโลกรัม สำหรับกลุ่มที่ได้รับการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,000 และ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวเท่ากัน คือ 1.67 ดังแสดงในตารางที่ 10

จากการทดลองที่ 1 การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน เพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดที่เกิดจากการหมักได้สูงกว่าการเสริมที่ระดับ 1,250 และ 2,500 ส่วนต่อล้านส่วน อย่างไรก็ตาม การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน ในอาหารสุกรอาจส่งผลเสียเพราะจะทำให้สัตว์เกิดอาการปวดเกร็งบริเวณท้อง และส่งผลให้ปริมาณการกินอาหารลดลง ซึ่งมีสาเหตุจากอัตราการหมักของจุลินทรีย์ที่สูงเกินไป (Asano *et al.*, 1994; Houdijk *et al.*, 1997; Mul, 1997) ด้วยเหตุนี้ ในการทดลองที่ 2 ได้กำหนดให้มีการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน นอกจากนี้ การทดลองที่ 1 ซึ่งเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน เพิ่มค่าความเป็นกรดในการหมักที่เวลา 8 และ 24 ชั่วโมงได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่การเสริมในระดับดังกล่าวจะทำให้ผลตอบสนองที่ดีต่อตัวสัตว์

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มการเจริญเติบโตของสุกรอาจเนื่องจากโซเดียมกลูโคเนตถูกย่อยและดูดซึมได้น้อยในลำไส้เล็ก ดังนั้นโซเดียมกลูโคเนตส่วนใหญ่จึงเคลื่อนตัวสู่ลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดการหมัก โดยเฉพาะจากจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Asano *et al.*, 1994) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นลักษณะเช่นเดียวกับสารไฟโบโรติก (โสมรพีย์, 2551; Biagi *et al.*, 2006) ดังเห็นได้จากการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน สุกรมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวลดลง 9.66 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มน้ำหนักตัวได้ 5.31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 3,000 ถึง 6,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหารสุกรระยะเล็ก ที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตได้ 8.98 ถึง 9.80 เปอร์เซ็นต์ (Biagi *et al.*, 2006)

**ตารางที่ 10** สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

รายการ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
น้ำหนักตัวเริ่มการทดลอง (กิโลกรัม)	10.46	10.53	10.57	10.62	0.76	0.05
น้ำหนักตัวสุดท้าย (กิโลกรัม)	33.90 <sup>b</sup>	34.71 <sup>ab</sup>	34.95 <sup>ab</sup>	35.70 <sup>a</sup>	0.01	0.20
อัตราการเจริญเติบโต (กิโลกรัม/วัน)	0.56 <sup>b</sup>	0.58 <sup>ab</sup>	0.58 <sup>ab</sup>	0.60 <sup>a</sup>	0.03	0.01
ปริมาณอาหารที่กิน (กิโลกรัม/วัน)	0.98	0.96	0.97	0.95	0.35	0.01
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.76 <sup>a</sup>	1.67 <sup>ab</sup>	1.67 <sup>ab</sup>	1.59 <sup>b</sup>	0.03	0.02

**หมายเหตุ** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 36 ตัวต่อกลุ่ม

<sup>a</sup> และ <sup>b</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ ของสุกร ได้แก่ กระเพาะ ลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย และในลำไส้ใหญ่ที่บริเวณกระพุ้งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง แสดงในตารางที่ 11

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารที่ระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างบริเวณกระเพาะของทั้ง 3 กลุ่มมีค่าเท่ากับ 2.75 เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.98 สำหรับที่ลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย มีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยของทั้ง 3 กลุ่ม คือ 5.42 6.49 และ 6.94 ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมวัดได้ เท่ากับ 5.63 6.46 และ 7.06 ตามลำดับ ส่วนบริเวณกระพุ้งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงมีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยของทั้ง 3 กลุ่มเท่ากับ 6.00 และ 6.02 ตามลำดับ เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 6.05 และ 5.99 ตามลำดับ

การทดลองนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารส่วนต่าง ๆ ซึ่งต่างจากการทดลองที่ 1 ที่โซเดียมกลูโคเนตลดค่าความเป็นกรด-ด่างได้ อาจเนื่องจากการทดลองแรกเป็นการศึกษาในหลอดทดลอง ขณะที่ร่างกายสัตว์มีกลไกการรักษาสมดุลโดยการผลิตสารเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร และอาหารสัตว์อาจมีคุณสมบัติบัฟเฟอร์ (สารโจนส์, 2547) ทำให้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารในการทดลองที่ 2 เช่นเดียวกับงานวิจัยใน

สุกร สัตว์ปีก และหนูทดลอง ที่พบว่า การเสริมโซเดียมกลูโคเนต ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร (โสมรพีย์, 2551; Asano *et al.*, 1994; Biagi *et al.*, 2006) นอกจากนี้ การเสริมกรดอินทรีย์ในน้ำดื่มของสุกรให้ผลที่สอดคล้องกัน จึงอาจกล่าวได้ว่า ในระบบทางเดินอาหารสัตว์มีกลไกรักษาระดับความเป็นกรด-ด่าง แม้จะเกิดการหมักและผลิตกรดไขมันสายสั้นก็ตาม (Kaewtapee *et al.*, 2008)

**ตารางที่ 11** ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

อวัยวะ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
กระเพาะ	2.98	2.78	2.71	2.75	0.98	0.21
ลำไส้เล็ก						
ส่วนต้น	5.63	5.35	5.66	5.25	0.46	0.11
ส่วนกลาง	6.46	6.63	6.59	6.24	0.59	0.10
ส่วนปลาย	7.06	6.84	6.98	6.99	0.44	0.04
ลำไส้ใหญ่						
กระพุ้งไส้ใหญ่	6.05	5.96	6.03	6.01	0.89	0.04
ไส้ตรง	5.99	6.05	6.06	5.95	0.73	0.04

**หมายเหตุ** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

กรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกร

ปริมาณกรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกันแสดงในตารางที่ 12 โดยสุกรที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่เท่ากับ 0.61 0.73 และ 0.71 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมพบปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.57 มิลลิโมล/ลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 12 ปริมาณกรดไขมันสายสั้น และกรดแลกติก (มิลลิโมล/ลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

ชนิดของกรด	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
กรดแลกติก	0.57	0.61	0.73	0.71	0.13	0.03
กรดไขมันสายสั้น						
กรดอะซิติก	14.63	15.55	16.23	16.25	0.49	0.42
กรดโพรพิโอนิก	15.63 <sup>B</sup>	20.26 <sup>AB</sup>	25.13 <sup>A</sup>	24.63 <sup>A</sup>	<0.01	1.12
กรดบิวทิริก	4.99	7.84	7.99	8.19	0.11	0.54
กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด*	35.26 <sup>B</sup>	43.64 <sup>A</sup>	49.35 <sup>A</sup>	49.06 <sup>A</sup>	<0.01	1.75

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

\*ผลรวมความเข้มข้นของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก

<sup>A</sup> และ <sup>B</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

สุกรที่ได้รับการเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณกรดโพรพิโอนิกในกระพุ้งไส้ใหญ่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P < 0.01$ ) โดยมีปริมาณกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 25.13 และ 24.63 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมวัดปริมาณได้ 15.63 มิลลิโมล/ลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดของกลุ่มที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตในทุกะดับ มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.01$ ) โดยวัดค่าได้เท่ากับ 43.64 49.35 และ 49.06 มิลลิโมล/ลิตร ตามระดับการเสริมที่ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ในขณะที่กลุ่มควบคุมวัดได้ 35.26 มิลลิโมล/ลิตร

ในการทดลองที่ 2 นี้ การเสริมโซเดียมกลูโคเนตมีผลต่อปริมาณกรดบิวทิริกในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกร โดยกลุ่มที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีปริมาณกรดบิวทิริกเท่ากับ 7.84 7.99 และ 8.19 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมพบปริมาณกรดชนิดนี้ต่ำกว่า คือ 4.99 มิลลิโมล/ลิตร แม้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กรดไขมันสายสั้นที่พบในระบบทางเดินอาหารเป็นผลผลิตจากการหมักของเยื่อใยที่ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ (Macfarlane and Cummings, 1991) ในสภาวะการหมักที่มีปริมาณคาร์บอนจำกัด จุลินทรีย์จะผลิตกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิกสูง ดังได้อธิบายในทดลองที่ 1 นอกจากนี้ ปัจจัยหนึ่งที่มี

ความสำคัญต่อชนิดของกรดไขมันที่ผลิต คือ สารประกอบไนเตรท (Nitrate) และซัลเฟต (Sulfate) โดยสารทั้ง 2 ยับยั้งการใช้คาร์บอนของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ผลิตกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก มากกว่ากรดบิวทิริก (Allison and Macfarlane, 1988; Gibson *et al.*, 1993; Macfarlane and Macfarlane, 2003) ในการทดลองที่ 1 อาจเกิดการสะสมของสารประกอบไนเตรทและซัลเฟต เนื่องจากการศึกษา ในระบบปิด (*in vitro*) จุลินทรีย์จึงใช้คาร์บอนได้จำกัด ส่งผลให้มีการผลิตกรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิกสูง (Macfarlane and Macfarlane, 2003) โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดบิวทิริก ขณะที่การทดลองที่ 2 ปริมาณกรดบิวทิริกเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม โซเดียมกลูโคเนต แม้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้อาจ เนื่องจากโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้กรด เช่น เชื้อเมกาสเฟียรา เอลส์เดนนิอา (*Megasphaera elsdenii*) โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนกรดอะซิติกเป็นกรดบิวทิริกได้ (Asano *et al.*, 1994) จึงทำให้ปริมาณกรดอะซิติกในการทดลองที่ 2 ไม่เปลี่ยนแปลง ขณะที่ปริมาณกรดโพรพิโอนิก สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และกรดบิวทิริกเพิ่มสูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

การเปลี่ยนแปลงของกรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทิริกในการทดลองที่ 2 อาจเกิดจากการปรับ สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ จึงผลิตกรดไขมันสายสั้น 2 ชนิดนี้เพิ่มขึ้น ดังได้อธิบายในการทดลองที่ 1 โดย กลุ่มควบคุมมีสัดส่วน กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก เท่ากับ 41.55 44.39 และ 14.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มที่รับ โซเดียมกลูโคเนต 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีสัดส่วน กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก เพิ่มขึ้นเป็น 50.25 และ 16.71 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรดอะซิติกมีค่าเท่ากับ 33.15 เปอร์เซ็นต์

#### จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี. โคไล บริเวณกระพุ้งไส้ใหญ่และไส้ตรงของสุกร ได้แสดง ในตารางที่ 13 การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารที่ระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ไม่ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่ โดยมี จำนวนเชื้อเฉลี่ยในทุกกลุ่มเท่ากับ  $9.05 \log_{10}$  CFU/มิลลิลิตร และไม่พบความแตกต่างทางสถิติของจำนวน เชื้อ อี. โคไล ในไส้ตรงด้วย ในขณะที่จำนวนเชื้อ อี. โคไล เฉลี่ยเท่ากับ  $7.96 \log_{10}$  CFU/มิลลิลิตร ส่วนใน กระพุ้งไส้ใหญ่นั้นพบว่า มีแนวโน้มลดลง ( $P=0.09$ )

การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทำได้โดยการเสริมสาร พรไบโอติกและโปรไบโอติก ซึ่งช่วยยับยั้งการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และลดความ ผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร (Gibson, 1998; Crittenden, 1999) การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ จำนวนของเชื้อ อี. โคไล ในกระพุ้งไส้ใหญ่มีแนวโน้มต่ำลง ( $P=0.09$ ) แม้จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกใน กระพุ้งไส้ใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษยึดเกาะ

กับโซเดียมกลูโคเนต ทำให้ไม่สามารถตั้งถิ่นฐานบริเวณเชื่อบุผนังลำไส้ได้ และทำให้จำนวนของเชื้ออี.โคไล ที่กระพุงไส้ใหญ่ลดลง (Newman and Newman, 2001)

ตารางที่ 13 จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี.โคไล ( $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร) ในกระพุงไส้ใหญ่และไส้ตรงของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

รายการ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก						
กระพุงไส้ใหญ่	8.94	9.08	8.99	9.00	0.97	0.09
ไส้ตรง	8.80	9.03	9.10	9.27	0.89	0.06
เชื้อ อี.โคไล						
กระพุงไส้ใหญ่	7.93	7.70	7.73	7.05	0.09	0.17
ไส้ตรง	7.80	7.94	8.25	7.83	0.72	0.14

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

#### สัณฐานวิทยาของลำไส้

ตารางที่ 14 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้ของลูกสุกร พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน เพิ่มความสูงของวิลลัสที่ลำไส้เล็กส่วนต้นได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยกลุ่มที่เสริมในระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีความสูงของวิลลัสเท่ากับ 424.09 435.82 และ 437.17 ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 418.63 ไมโครเมตร อย่างไรก็ตามโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อความสูงของวิลลัสในลำไส้เล็กส่วนกลาง โดยสุกรมีความสูงของวิลลัสบริเวณนี้เฉลี่ยเท่ากับ 375.80 ไมโครเมตร

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อความลึกของคริปต์บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลาง โดยมีความลึกเฉลี่ยเท่ากับ 360.96 และ 273.61 ไมโครเมตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปต์ พบว่าโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่ออัตราส่วนดังกล่าวทั้งบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลาง โดยพบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.19 และ 1.38 ตามลำดับ

กลไกการทำงานของโซเดียมกลูโคเนตเป็นลักษณะของสารฟรีไบโอติก เนื่องจากช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร (Gibson and Roberfroid, 1995) ซึ่งผลิตกรดไขมันสายสั้นชนิดที่เป็นแหล่งพลังงานของเยื่อบุลำไส้ และช่วยเพิ่มความหนาของเยื่อบุลำไส้ ส่งผลให้ร่างกายสามารถดูดซึมและใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้น (สารโรจน์, 2547)

**ตารางที่ 14** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำไส้ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

รายการ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
ความสูงของวิลลัส (ไมโครเมตร)						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	418.63 <sup>B</sup>	424.09 <sup>AB</sup>	435.82 <sup>A</sup>	437.17 <sup>A</sup>	<0.01	2.60
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	372.92	370.80	380.31	379.16	0.88	4.70
ความลึกของคริปต์ (ไมโครเมตร)						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	364.77	351.50	369.31	358.25	0.47	4.12
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	278.50	270.00	271.71	274.22	0.90	4.14
วิลลัส:คริปต์ *						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1.15	1.21	1.18	1.22	0.34	0.02
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.34	1.38	1.40	1.40	0.77	0.02

**หมายเหตุ** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

\*อัตราส่วนของความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปต์

<sup>A และ B</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

จากการศึกษาของ Biagi *et al.* (2006) พบว่าโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อผนังลำไส้ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งต่างจากงานทดลองในครั้งนี ที่พบว่าโซเดียมกลูโคเนตช่วยเพิ่มความสูงของวิลลัสในลำไส้เล็กส่วนต้นได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) แม้การหมักโซเดียมกลูโคเนตและการผลิตกรดไขมันสายสั้นส่วนใหญ่เกิดขึ้นบริเวณทางเดินอาหารส่วนท้าย แต่กรดไขมันสายสั้นที่ผลิตขึ้นอาจย้อนกลับไปในบริเวณลำไส้ส่วนต้นได้ เนื่องจากร่างกายสัตว์มีกระบวนการ reverse-peristalsis บริเวณลำไส้ใหญ่ ทำให้กรดไขมันสายสั้นถูกดูดซึมและย้อนกลับได้นั่นเอง ดังนั้นโซเดียมกลูโคเนตจึงมีผลกระตุ้นการเจริญของวิลลัสในลำไส้เล็กส่วนต้น (Hume, 1995; Van Beers-Schreurs *et al.*, 1998)

เมื่อกรดไขมันสายสั้นถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย สัตว์สามารถใช้กรดไขมันเหล่านี้เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารอื่น ๆ หรือใช้เป็นแหล่งพลังงานของร่างกายได้ เช่น กรดอะซิติกสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมัน กรดโพธิโธนิคสามารถใช้เพื่อการสร้างกลูโคส (Gluconeogenesis) ให้กับร่างกาย ส่วนกรดบิวทริกสามารถเปลี่ยนเป็นสารประกอบคีโตน (Ketone bodies) เพื่อสร้างพลังงานให้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อได้ (Scheppach *et al.*, 1995) ดังนั้น หากมีการสังเคราะห์กรดบิวทริกขึ้นจึงเป็นการเพิ่มแหล่งพลังงานให้แก่เนื้อเยื่อลำไส้ การศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณกรดบิวทริกสูงขึ้น แม้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่การเสริมโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มกรดโพธิโธนิคอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจกระตุ้นการเจริญของเยื่อผนังลำไส้ส่วนต้นได้ จึงอาจเป็นไปได้ที่กรดโพธิโธนิคให้ผลเช่นเดียวกับกรดบิวทริก เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดที่ระบบทางเดินอาหารส่วนท้ายต่างถูกดูดซึมผ่านเยื่อลำไส้ (McNeil *et al.*, 1978; Rechkemmer *et al.*, 1988; Fleming *et al.*, 1991; Latymer *et al.*, 1991) โดยเนื้อเยื่อลำไส้สามารถใช้กรดไขมันเหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานได้ (Hgiverstad, 1986) แม้กรดไขมันสายสั้นส่วนใหญ่จะถูกส่งไปที่ตับซึ่งเป็นอวัยวะหลักในการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ก็ตาม (Rkrat *et al.*, 1987)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักอวัยวะภายใน อัตราส่วนเม็ดเลือดขาว ระดับแอนติบอดี และ โปรตีนทั้งหมดในซีรัม

ตารางที่ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัวของสุกร การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหาร ไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัว โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยของหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอด เท่ากับ 0.44 2.19 0.16 0.41 และ 0.95 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ในกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับ

อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (Heterophil:lymphocyte ratio) ระดับแอนติบอดี และ โปรตีนทั้งหมดในซีรัมแสดงในตารางที่ 16 การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ไม่มีผลต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ โดยพบว่ากลุ่มควบคุมมีอัตราส่วนค่าดังกล่าวเท่ากับ 73.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 74.22 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ การเสริมโซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร

โซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่อระดับโปรตีนทั้งหมดในซีรัม โดยกลุ่มควบคุมมีระดับโปรตีนในซีรัมเท่ากับ 6.84 กรัม/เดซิลิตร และกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.79 กรัม/เดซิลิตร นอกจากนี้ โซเดียมกลูโคเนตยังไม่มีผลต่อค่าแอลบูมิน อัลฟา-กลอบูลิน ( $\alpha$ -globulin) บีตา-กลอบูลิน ( $\beta$ -globulin) แกมมา-กลอบูลิน ( $\gamma$ -globulin) และกลอบูลินในซีรัม เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของแอลบูมินต่อกลอบูลิน

พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตเช่นกัน โดยมีค่าเฉลี่ยของแอลบูมินต่อกลอบูลินในทุกกลุ่มการทดลองเท่ากับ 1.34

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัวของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

อวัยวะ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
หัวใจ	0.43	0.44	0.44	0.45	0.92	0.01
ตับ	2.20	2.19	2.18	2.20	0.99	0.05
ม้าม	0.17	0.15	0.16	0.16	0.50	0.01
ไต	0.39	0.43	0.41	0.39	0.36	0.01
ปอด	0.97	0.90	0.96	0.98	0.89	0.03

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าค่าโลหิตวิทยาที่ได้ มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Smith *et al.* (1960) แสดงให้เห็นถึงค่าโลหิตวิทยาของสุกรในการทดลองอยู่ในเกณฑ์ปกติ อย่างไรก็ตาม Miller *et al.* (1961) รายงานว่าค่าโปรตีนทั้งหมดในซีรัมของสุกรปกติเท่ากับ  $5.41 \pm 0.06$  กรัม/เดซิลิตร ต่างจากผลการทดลองนี้ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.80 \pm 0.13$  กรัม/เดซิลิตร ส่วนปริมาณของแอลบูมิน อัลฟา-กลอบูลิน บีตา-กลอบูลิน แกมมา-กลอบูลิน และกลอบูลินในซีรัมของสุกร โดยปกติมีค่าเท่ากับ  $2.21 \pm 0.50$   $0.78 \pm 0.50$   $0.86 \pm 0.40$   $1.56 \pm 0.40$  และ  $3.20 \pm 0.50$  กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่างจากการทดลองนี้ ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $3.80 \pm 0.13$   $1.34 \pm 0.07$   $0.99 \pm 0.10$   $0.68 \pm 0.06$  และ  $3.01 \pm 0.12$  กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ปริมาณโปรตีนในอาหารมีผลต่อค่าโลหิตวิทยาเหล่านี้เป็นอย่างมาก โดยจะมีผลต่อค่าโปรตีนทั้งหมดในซีรัม กลอบูลิน และแอลบูมิน (Tewe, 1985; Eggum, 1989; Keneko *et al.*, 1997) ซึ่งการศึกษาของ Miller *et al.* (1961) ขาดข้อมูลของอาหารที่สุกรได้รับ จึงอาจเป็นสาเหตุให้ค่าโลหิตวิทยาเหล่านี้มีความแตกต่างจากการศึกษาของ Smith *et al.* (1960) ซึ่งใช้อาหารทดลองที่มีระดับโปรตีนใกล้เคียงกับการทดลองนี้ และจากผลการทดลองที่ไม่พบความต่างของระดับโปรตีนในอาหารและปริมาณอาหารที่กิน ทำให้ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยา เช่นเดียวกับการศึกษาในสัตว์ปีกที่ไม่พบผลกระทบต่อค่าโลหิตวิทยาเช่นกัน (โสมรพีย์, 2551)

แกมมา-กลอบูลิน คือ อิมมูโนกลอบูลิน ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเมื่อร่างกายสังเคราะห์แอนติบอดีอันเป็นผลจากการกระตุ้นของแอนติเจน (Margaret, 2001) ส่วนบีตา-กลอบูลินประกอบด้วย บีตา-ไลโปโปรตีน และทรานเฟอร์ริน ซึ่งบีตา-กลอบูลินในซีรัมจะเพิ่มขึ้นเมื่อสัตว์มีไขมันหรือโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น สำหรับ

อัลฟา-กลูบูลินประกอบด้วยไกลโคโปรตีนและไลโปโปรตีน ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่สร้างขึ้นที่ตับ โดยปกติอัลฟา-กลูบูลินจะเพิ่มปริมาณเมื่อเกิดการอักเสบ และสภาวะการขาดอาหาร (Margaret, 2001) ในขณะที่ค่าอัตราส่วนของแอลบูมินต่อกลูบูลินจะถูกใช้ตรวจสอบความผิดปกติของการสร้างโปรตีนในร่างกาย (Henry, 1984) จากผลการศึกษาไม่พบความผิดปกติของค่าดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับค่าการตอบสนองต่อวัคซีน โรคหิวาต์ ที่ไม่พบความแตกต่างเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าระดับภูมิคุ้มกันของสุกรในการทดลองครั้งนี้อยู่ในสภาวะปกติ

อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์เป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงความเครียดของสัตว์ (Gross and Seigel, 1983) ซึ่งอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง การหย่านม การเปลี่ยนอาหาร ส่งผลให้จำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลเพิ่มขึ้น และลิมโฟไซต์ลดลง (McFarlane and Curtis, 1989) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้โซเดียมกลูโคเนตไม่มีผลต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ และการเปลี่ยนแปลงขนาดของอวัยวะภายใน (หัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอด) นอกจากนี้ ดัชนีต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับภาวะภูมิคุ้มกันและสุขภาพของสัตว์ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยของโซเดียมกลูโคเนตที่สามารถใช้เป็นสารเสริมในอาหาร โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์

ตารางที่ 16 อัตราส่วนเมื่อดัดแปลงของชนิดเสทเทอโรฟิลต่อลิ้มโพไซค์ ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร และโปรตีนทั้งหมดในซีรัมของสุกรระยะอนุบาลที่ได้  
รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับต่างกัน

รายการ	โซเดียมกลูโคเนต (ส่วนต่อล้านส่วน)				P-value	Pooled SEM
	0	1,000	2,500	5,000		
เมื่อดัดแปลงของชนิดเสทเทอโรฟิลต่อลิ้มโพไซค์ (เปอร์เซ็นต์)	73.50	73.66	75.00	74.00	0.94	0.90
แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (log <sup>2</sup> )	8.90	7.81	8.02	8.10	0.54	0.16
โปรตีนทั้งหมดในซีรัม (กรัม/เดซิลิตร)	6.84	6.46	6.90	7.02	0.53	0.13
แอลบูมิน (กรัม/เดซิลิตร)	3.92	3.85	3.70	3.72	0.93	0.13
อัลฟา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	1.16	1.29	1.52	1.38	0.41	0.07
บีตา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	1.05	0.76	0.99	1.15	0.64	0.10
แกมมา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	0.71	0.56	0.69	0.76	0.74	0.06
กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	2.92	2.60	3.20	3.30	0.22	0.12
แอลบูมินต่อกลอบูลิน	1.46	1.53	1.17	1.19	0.30	0.08

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

**การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบผลของโซเดียมกลูโคเนตกับแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียม ไดฟอรัมท ต่อสมรรถภาพการผลิต ระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันในสุกรระยะอนุบาล**

**องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง**

อาหารพื้นฐานของการทดลองที่ 3 มีระดับโภชนะเท่ากับการทดลองที่ 1 และ 2 โดยมีค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใย ถั่ว คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัสทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้แสดงในตารางที่ 17 และมีผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับที่ได้คำนวณไว้ คือ มีระดับโปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใย ถั่ว คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และฟอสฟอรัสทั้งหมดเท่ากับ 20.51 8.09 3.57 3.12 64.71 1.10 และ 1.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**ตารางที่ 17 องค์ประกอบทางเคมีและผลวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้ง)**

องค์ประกอบทางเคมี	อาหารทดลอง	
	จากการคำนวณ	จากการวิเคราะห์
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	3,350.00	-
โปรตีนรวม (เปอร์เซ็นต์)	20.00	20.51
ไขมันรวม (เปอร์เซ็นต์)	7.80	8.09
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	3.50	3.57
ถั่ว (เปอร์เซ็นต์)	2.20	3.12
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)	66.50	64.71
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)	1.00	1.10
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	0.90	1.01
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (เปอร์เซ็นต์)	0.50	-

**สมรรถภาพการผลิตของสุกร**

สุกรมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 10.70 กิโลกรัม/ตัว และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุกรที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตในอาหารที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีน้ำหนักตัวเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยวัดได้ 38.36 กิโลกรัม/ตัว ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเท่ากับ 36.72 กิโลกรัม/ตัว และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วน และโปแตสเซียม

ไคพอร์เมท ที่ระดับ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีน้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยวัดได้ 37.35 และ 37.53 กิโลกรัม/ตัว ตามลำดับ

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสุกร ได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.63 กิโลกรัม/วัน เทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.59 กิโลกรัม/วัน และกลุ่มที่เสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วน และโปแตสเซียมไคพอร์เมทที่ระดับ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากัน คือ 0.62 กิโลกรัม/วัน อย่างไรก็ตาม สารทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว โดยสุกรทุกกลุ่มมีปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 1.03 กิโลกรัม/วัน ดังแสดงในตารางที่ 18

จากทดลองที่ 2 พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ทำให้การเจริญเติบโต การผลิตกรดไขมันสายสั้น และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้พัฒนาขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการทดลองที่ 3 จึงเลือกใช้โซเดียมกลูโคเนตในระดับนี้เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกับการใช้แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วนและโปแตสเซียมไคพอร์เมทที่ระดับ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ซึ่งเป็นระดับที่แนะนำทางการค้า

ในการทดลองที่ 3 การเสริมโซเดียมกลูโคเนตในอาหารที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ช่วยเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสุกรได้เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 โดยการทดลองที่ 2 มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.60 กิโลกรัม/วัน และในการทดลองที่ 3 เท่ากับ 0.63 กิโลกรัม/วัน ขณะที่กลุ่มควบคุมของทั้ง 2 การทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.56 และ 0.59 กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ กลไกการออกฤทธิ์ของโซเดียมกลูโคเนตต่อการเจริญเติบโตอาจมาจากการเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากการหมักในระบบทางเดินอาหารส่วนท้าย แล้วเคลื่อนเข้าสู่ลำไส้เล็กด้วยกระบวนการ reverse-peristalsis และกระตุ้นการเจริญของวิลลัส จึงทำให้สุกรใช้ประโยชน์จากอาหารดีขึ้น ดังที่ได้อธิบายไปแล้วในการทดลองที่ 2 ส่วนการเสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์และโปแตสเซียมไคพอร์เมท ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสุกรได้เช่นกัน โดยแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และเพิ่มความสูงของวิลลัสในลำไส้ ทำให้สุกรใช้ประโยชน์จากอาหารดีขึ้น (Davis *et al.*, 2002; Fuller and Perdigon, 2003; Taube *et al.*, 2009) ส่วนโปแตสเซียมไคพอร์เมทซึ่งจัดเป็นกรดอินทรีย์ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้โดยตรง และลดการท้องเสียของลูกสุกรช่วงหลังหย่านม ทำให้สมรรถภาพการผลิตดีขึ้น (Knarreborg *et al.*, 2002; Mroz *et al.*, 2002) นอกจากนี้ แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์และโปแตสเซียมไคพอร์เมทยังเพิ่มกรดโพรพิโอนิกและกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดได้เช่นเดียวกับโซเดียมกลูโคเนตจากเหตุผลข้างต้น จึงกล่าวได้ว่าสารเสริมในอาหารสัตว์ทั้ง 3 ชนิดสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของสุกรระยะอนุบาลได้

ตารางที่ 18 สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัม

รายการ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟอรัม		
น้ำหนักตัวเริ่มต้นการทดลอง (กิโลกรัม)	11.83	11.97	11.37	11.61	0.51	0.14
น้ำหนักตัวสุดท้าย (กิโลกรัม)	36.72 <sup>c</sup>	38.36 <sup>a</sup>	37.35 <sup>b</sup>	37.53 <sup>b</sup>	0.02	0.14
อัตราการเจริญเติบโต (กิโลกรัม/วัน)	0.59 <sup>b</sup>	0.63 <sup>a</sup>	0.62 <sup>ab</sup>	0.62 <sup>ab</sup>	0.04	0.01
ปริมาณอาหารที่กิน (กิโลกรัม/วัน)	1.03	1.04	1.03	1.03	0.82	0.01
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.75	1.65	1.66	1.67	0.16	0.01

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 36 ตัวต่อกลุ่ม

<sup>a, b และ c</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

### ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร

การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอรัมที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับ ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร โดยสุกรทุกกลุ่มมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่บริเวณกระเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 3.86 ส่วนที่บริเวณลำไส้เล็ก ส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย มีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยเท่ากับ 5.02 6.12 และ 6.85 ตามลำดับ สำหรับบริเวณกระพุ้งไส้ใหญ่และไส้ตรงวัดค่าความเป็นกรด-ด่างได้เฉลี่ยเท่ากับ 6.06 และ 5.83 ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

จากผลการทดลอง การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอรัมไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาเสริมในอาหารหลายชนิด (โสมรพีช, 2551; Asano *et al.*, 1994; Biagi *et al.*, 2006; Kaewtapee *et al.*, 2008) ผลจากการทดลองที่ 3 ได้สนับสนุนสมมุติฐานด้านความสามารถในการรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างของระบบทางเดินอาหาร ดังที่ได้อธิบายในการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 และ 3 ไม่พบความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างบริเวณทางเดินอาหารแต่ละส่วนมากนัก ยกเว้นบริเวณกระเพาะอาหาร แม้ทั้ง 2 การทดลองไม่ได้ทำการอดอาหารสุกรก่อนเปิดฉาก แต่การเก็บตัวอย่างได้ทำในช่วงเวลาที่ต่างกัน โดยการทดลองที่ 2 เริ่มเวลา 20.00 น. และการทดลองที่ 3 เริ่มเก็บตัวอย่างเวลา 08.00 น. ในขณะที่การทดลองนี้ได้ให้อาหารสุกรเวลา 08.00 น. และ 15.00 น. ของทุกวัน ประกอบกับพฤติกรรมของสุกรที่มักกินอาหารในเวลากลางวัน (Judith and Houpt, 1988) จึงทำให้การทดลองที่ 3 มีอาหารค้างในกระเพาะขณะทำการวัดมากกว่าการทดลองที่ 2 และอาจทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ลดลง เนื่องจากคุณสมบัติบัฟเฟอร์ของอาหาร โดยการทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด-ด่างที่กระเพาะเท่ากับ 3.86 ต่างกับการทดลองที่ 2 ที่มีค่าต่ำกว่า คือ 2.81

### กรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกร

ตารางที่ 20 แสดงปริมาณกรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอรัมที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดแลคติกในกระพุ้งไส้ใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ( $P=0.08$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 0.57 0.59 และ 0.57 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมพบปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.51 มิลลิโมล/ลิตร

ตารางที่ 19 ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียม ไดฟออร์เมท

อวัยวะ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟออร์เมท		
กระเพาะ ลำไส้เล็ก	4.00	3.96	3.86	3.63	0.81	0.13
ส่วนต้น	5.42	4.93	4.98	4.73	0.36	0.13
ส่วนกลาง	6.21	5.89	6.30	6.07	0.38	0.09
ส่วนปลาย	6.98	6.73	6.99	6.68	0.27	0.07
ลำไส้ใหญ่						
กระพุ้งลำไส้ใหญ่	6.11	6.10	5.99	6.02	0.41	0.03
ไส้ตรง	5.80	6.15	6.21	5.15	0.53	0.05

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

ตารางที่ 20 ปริมาณกรดไขมันสายสั้นและกรดแลคติก (มิลลิโมล/ลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัเมท

ชนิดของกรด	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียมกลูโคเนต	แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียมไดฟอรัเมท		
กรดแลคติก	0.51	0.57	0.59	0.57	0.08	0.03
กรดไขมันสายสั้น						
กรดอะซิติก	11.93	13.39	11.37	12.76	0.15	0.57
กรดโพรพิโอนิก	15.14 <sup>B</sup>	20.29 <sup>A</sup>	20.18 <sup>A</sup>	21.72 <sup>A</sup>	<0.01	1.10
กรดบิวทิริก	6.67	8.77	9.67	9.90	0.09	0.58
กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด*	33.74 <sup>B</sup>	42.44 <sup>A</sup>	41.21 <sup>A</sup>	44.38 <sup>A</sup>	<0.01	1.68

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

\*ผลรวมความเข้มข้นของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก

<sup>A</sup> และ <sup>B</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัทที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ช่วยเพิ่มปริมาณกรดโพรพิโอนิกและกรดไขมันสายสั้นทั้งหมด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยวัดปริมาณกรดโพรพิโอนิกได้เท่ากับ 20.29 20.18 และ 21.72 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณ 15.14 มิลลิโมล/ลิตร ส่วนกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดมีปริมาณเท่ากับ 42.44 41.21 และ 44.38 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ และกลุ่มควบคุมเท่ากับ 33.74 มิลลิโมล/ลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า การเสริมสารทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณกรดบิวทริกได้เช่นกัน ( $P=0.09$ )

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าปริมาณกรดอะซิติกไม่สูงขึ้น ขณะที่กรดโพรพิโอนิกเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 แสดงถึงคุณสมบัติของโซเดียมกลูโคเนตที่เพิ่มปริมาณกรดโพรพิโอนิกจากการหมักได้อย่างชัดเจน และการทดลองที่ 3 นี้พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์และโปแตสเซียมไดฟอสมัททำให้ กรดโพรพิโอนิก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดสูงขึ้น นอกจากนั้นยังมีแนวโน้มทำให้ปริมาณกรดบิวทริกสูงขึ้น ( $P=0.09$ ) จึงอาจเป็นไปได้ว่าการเสริมสารทั้ง 3 ทำให้การหมักอยู่ในสภาวะที่ขาดแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์จึงผลิตกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก ดังอธิบายในการทดลองที่ 1 ผลที่ได้สอดคล้องกับปริมาณกรดโพรพิโอนิกที่เพิ่มขึ้น และสารเสริมในอาหารเหล่านี้อาจเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้กรดซึ่งสามารถเปลี่ยนกรดอะซิติกเป็นกรดบิวทริก ปริมาณกรดอะซิติกจึงไม่สูงขึ้น ขณะที่กรดบิวทริกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นดังได้อธิบายในการทดลองที่ 2 นอกจากนั้น การเปลี่ยนแปลงของกรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทริกในการทดลองที่ 3 อาจเกิดจากการปรับสมดุลของปฏิกริยารีดอกซ์ ทำให้จุลินทรีย์ผลิตสารที่รับอิเล็กตรอนสูง จึงมีปริมาณกรดทั้ง 2 ชนิดนี้เพิ่มขึ้น ดังได้อธิบายในการทดลองที่ 1 โดยกลุ่มควบคุมมีสัดส่วนกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริก เท่ากับ 35.31 44.81 และ 19.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัทมีสัดส่วนกรดโพรพิโอนิกและกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น ขณะที่กรดอะซิติกมีค่าลดลง

#### จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี. โคไล แสดงในตารางที่ 21 พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัทที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหารไม่มีผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาวะความเครียดของลูกสุกรที่เกิดในช่วงหลังหย่านมทำให้เชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย มีรายงานว่า การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท ในอาหารอาจลดการเกิดท้องเสียของลูกสุกรได้ เนื่องจากสารเสริมเหล่านี้

สามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกที่เป็นประโยชน์ (Asano *et al.*, 1994; Van Beers-Schreurs *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตาม กลไกการทำงานของสารเสริมอาหารทั้ง 3 ชนิดนี้มีความต่างกัน โดยโซเดียมกลูโคเนตจะถูกย่อยและดูดซึมได้น้อย และยังคงถูกใช้อย่างจำเพาะด้วยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ซึ่งตั้งถิ่นฐานในระบบทางเดินอาหารส่วนท้าย (Asano *et al.*, 1994) ส่วนแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์เป็นพรีไบโอติกที่ช่วยยับยั้งการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อโรค โดยเมื่อเคลื่อนเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารส่วนท้าย สารนี้จะสามารถยึดเกาะบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถตั้งถิ่นฐานที่ผนังลำไส้และถูกขับออกจากร่างกายไปกับมูล (Newman and Newman, 2001) นอกจากนี้ ยังพบรายงานถึงความจำเพาะของแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ต่อการเป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เช่นเดียวกับโซเดียมกลูโคเนต (Spring *et al.*, 2000) ส่วน โปแตสเซียมไดฟอรัมเมท ซึ่งเป็นรูปเกลือของกรดอินทรีย์ สามารถละลายและแทรกเข้าเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เพิ่มความเปราะบางในเซลล์ และมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม อีกทั้งแบคทีเรียจำเป็นต้องใช้พลังงานเพื่อปรับสมดุลความเป็นกรด-ด่างในเซลล์ ส่งผลให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ (Hunter and Segel, 1973; Lueck, 1980) โดย Mroz *et al.* (2002) ได้รายงานว่า โปแตสเซียมไดฟอรัมเมทช่วยลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสัตว์ได้

ในการศึกษาสารทั้ง 3 ชนิด พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี.โคไล ในระบบทางเดินอาหาร อาจเนื่องจากสภาพการเลี้ยงและการจัดการที่ดีระหว่างทดลองทำให้ไม่พบอาการท้องเสียของสุกร โดยจำนวนของเชื้อ อี.โคไล ในกระพุ้งไส้ใหญ่ และไส้ตรงของการทดลองที่ 2 มีเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 7.60 และ 7.96  $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ และการทดลองที่ 3 มีค่าเท่ากับ 7.27 และ 8.69  $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 การทดลองมีปริมาณเชื้อ อี.โคไล น้อยกว่าระดับที่ทำให้เกิดการท้องเสียในลูกสุกร คือที่ 9  $\log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร (Fuller and Perdigon, 2003) ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงดูและการจัดการในการทดลองอาจทำให้ผลของสารเสริมอาหารต่อจำนวนจุลินทรีย์ในทั้ง 2 การทดลองแสดงออกไม่ชัดเจน

### สัณฐานวิทยาของลำไส้

ตารางที่ 22 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ในสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัมเมทที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับ พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดเพิ่มความสูงของวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีความสูงเท่ากับ 465.25 474.28 และ 472.14 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 443.84 ไมโครเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มความสูงของวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีความสูงเท่ากับ 373.77 ไมโครเมตร ขณะที่กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอรัมเมทมีความสูงน้อยกว่า โดยวัดได้เท่ากับ 335.63 342.28 และ 318.50 ไมโครเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อ อี. โคไล ( $\log_{10}$  CFU/มิลลิลิตร) ในกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัม

รายการ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟอรัม		
จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก						
กระพุ้งไส้ใหญ่	9.15	9.21	9.20	9.19	0.56	0.04
ไส้ตรง	9.13	9.32	9.32	9.34	0.22	0.04
เชื้อ อี. โคไล						
กระพุ้งไส้ใหญ่	7.30	7.27	7.28	7.24	0.59	0.08
ไส้ตรง	8.66	8.66	8.85	8.57	0.66	0.09

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

ตารางที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาบริเวณลำไส้ของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์และ โปแตสเซียมไดฟออร์เมท

รายการ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟออร์เมท		
ความสูงของวิลลัส (ไมโครเมตร)						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	443.84 <sup>b</sup>	465.25 <sup>a</sup>	474.28 <sup>a</sup>	472.14 <sup>a</sup>	0.04	5.41
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	335.63 <sup>B</sup>	373.77 <sup>A</sup>	342.28 <sup>B</sup>	318.50 <sup>B</sup>	<0.01	6.00
ความลึกของคริปต์ (ไมโครเมตร)						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	292.42	309.32	302.83	318.84	0.17	4.31
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	221.47 <sup>b</sup>	269.33 <sup>a</sup>	259.28 <sup>a</sup>	263.26 <sup>a</sup>	0.02	6.31
วิลลัส:คริปต์ *						
ลำไส้เล็กส่วนต้น	1.53 <sup>ab</sup>	1.51 <sup>b</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.48 <sup>b</sup>	0.03	0.03
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.52 <sup>a</sup>	1.40 <sup>ab</sup>	1.34 <sup>ab</sup>	1.22 <sup>b</sup>	0.03	0.04

หมายเหตุ แสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม \*อัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปต์

<sup>a</sup> และ <sup>b</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

<sup>A</sup> และ <sup>B</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

สารทั้ง 3 ชนิดเพิ่มความลึกของครีปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัท มีความลึกเท่ากับ 269.33 259.28 และ 263.26 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 221.47 ไมโครเมตร อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนความลึกของครีปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นจากทั้ง 4 กลุ่มทดลอง

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีปท์บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น พบว่าการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วนเพิ่มอัตราส่วนดังกล่าวได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีอัตราส่วนเท่ากับ 1.57 รองลงมาคือกลุ่มควบคุม คือมีอัตราส่วนเท่ากับ 1.53 ส่วนกลุ่มที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตและโปแตสเซียมไดฟอสมัทที่ระดับ 5,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีอัตราส่วนความสูงใกล้เคียงกัน คือ 1.51 และ 1.48 ตามลำดับ สำหรับบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลาง พบว่าการเสริมโปแตสเซียมไดฟอสมัท มีอัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีปท์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) คือ 1.22 โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราส่วนเท่ากับ 1.52

เปรียบเทียบกลุ่มควบคุมจากการทดลองที่ 2 และ 3 พบว่ามีความสูงของวิลลัสที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลางใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณาสุกรกลุ่มที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ทั้งการทดลองที่ 2 และ 3 พบว่าต่างมีความสูงของวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางใกล้เคียงกัน และมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าโซเดียมกลูโคเนตเพิ่มความสูงของวิลลัสและอาจช่วยให้สัตว์ย่อยและใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้นจนทำให้สมรรถภาพการผลิตเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 10 และ 18) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาอัตราส่วนวิลลัสต่อครีปท์ในการทดลองที่ 3 พบว่ามีค่าสูงกว่าทั้งในบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง อาจเนื่องจากสุกรในการทดลองที่ 3 มีอายุมากกว่าการทดลองที่ 2 และน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองสูงกว่า จึงทำให้ความลึกของครีปท์มีค่าต่ำกว่า เพราะสุกรที่มีอายุมากจะมีสัดส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีปท์ลดลง (Cera *et al.*, 1988)

แม้กลไกการทำงานในระบบทางเดินอาหารของสารเสริมทั้ง 3 ชนิดมีความต่างกัน แต่สารเหล่านี้ช่วยพัฒนาการเจริญของเยื่อผนังลำไส้ได้เช่นเดียวกัน โดยกรดไขมันสายสั้นที่เกิดจากการหมักถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญของเนื้อเยื่อลำไส้ได้ (Asano *et al.*, 1994) การทดลองครั้งนี้ พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอสมัททำให้ปริมาณกรดไขมันสายสั้นเพิ่มขึ้น และเพิ่มความสูงของวิลลัสในลำไส้ ซึ่งการพัฒนาของเยื่อผนังลำไส้มีผลต่อการย่อย การดูดซึม และการใช้ประโยชน์จากอาหารของสัตว์ โดยกรดไขมันสายสั้นที่มีบทบาทสำคัญ คือ กรดบิวทิริก และ โพรพิโอนิก เนื่องจากสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานให้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อได้ (Argenzio and Southworth, 1974; Just *et al.*, 1983; Scheppach *et al.*, 1995)

ในการเลี้ยงสุกร การเจริญและการพัฒนาของเยื่อลำไส้ที่ต่ำจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของสุกรลดลงได้ โดยเฉพาะในลูกสุกรมักเกิดความเครียดจากการหย่านม การเปลี่ยนอาหาร รวมถึงจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ปัจจัยเหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุของการตายและลดอัตราการเกิดใหม่ของเซลล์เยื่อลำไส้ ทำให้การเจริญและการพัฒนาของลำไส้ลดลง ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์ และกระทบต่อการเติบโตของลูกสุกรได้ (Pluske *et al.*, 1997; Steven *et al.*, 2001) ด้วยเหตุนี้ สารเสริมในอาหารสัตว์ที่สามารถช่วยเพิ่มกรดไขมันสายสั้นจึงเป็นที่นิยมนำมาใช้ (สารโรจน์, 2547) อย่างไรก็ตาม สารเสริมในอาหารบางชนิดมักมีผลข้างเคียงทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลง (Roediger, 1980; Scheppach *et al.*, 1995) แต่การเสริมอาหารสัตว์ด้วยโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัมทาในระดับของการทดลองในครั้งนี้ ไม่ทำให้ปริมาณการกินได้ของสัตว์ลดลง ขณะที่ช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการเจริญเติบโตให้ดีขึ้น

เปรียบเทียบผลของสารเสริมทั้ง 3 ชนิดพบว่า แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ทำให้อัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีพที่ต่ำลำไส้เล็กส่วนต้นสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการเสริมโซเดียมกลูโคเนตและโปแตสเซียมไดฟอรัมทา ทั้งนี้เนื่องจากแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์สามารถยึดเกาะบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในกลุ่มแกรมลบ เช่น เชื้ออะซิเนโตแบคเตอร์ บอแมนนิอา (*Acinetobacter baumannii*) และเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่สามารถตั้งถิ่นฐานที่ผนังลำไส้ ดังนั้นผนังลำไส้จึงไม่ถูกทำลาย ส่งผลให้การดูดซึมโภชนาการรวมถึงกรดไขมันสายสั้นจึงเพิ่มขึ้น (Newman and Newman, 2001) ดังนั้น ความสูงของวิลลัสในกลุ่มที่เสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์จึงมีค่าสูงสุดและทำให้อัตราส่วนความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีพที่มีค่าสูงเช่นกัน

การเสริมโซเดียมกลูโคเนตทำให้ความสูงของวิลลัสที่ต่ำลำไส้เล็กส่วนกลางมีค่ามากกว่ากลุ่มอื่น ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการหมักของโซเดียมกลูโคเนตขึ้นที่ต่ำลำไส้เล็กส่วนกลาง (Asano *et al.*, 1994; Macfarlane and Macfarlane, 2003) และกรดไขมันสายสั้นที่ผลิตขึ้นบริเวณนี้จะถูกดูดซึมได้โดยตรง ทำให้ความสูงของวิลลัสเพิ่มขึ้น ประกอบกับกรดไขมันสายสั้นที่ถูกผลิตบริเวณกระพุ้งไส้ใหญ่สามารถย้อนกลับไปอยู่ในบริเวณลำไส้ส่วนต้นได้นั้น จึงอาจเป็นอีกสาเหตุทำให้ความสูงของวิลลัสที่ต่ำลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้นด้วย

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักอวัยวะภายใน อัตราส่วนเม็ดเลือดขาว ระดับแอนติบอดี และโปรตีนทั้งหมดในซีรัม

การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารเสริมทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ดับ ม้าม ไต และปอดเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว โดยกลุ่มการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 0.44 2.43 0.19 0.45 และ 1.38

เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 0.45 2.30 0.19 0.45 และ 1.30  
เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 24 แสดงอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซท์ ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวเว้าศัตรู โปรตีนทั้งหมดในซีรัม และแบบของโปรตีนในซีรัมของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับประทานอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท ในระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าสารเสริมทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่ออัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซท์ โดยกลุ่มควบคุมตรวจวัดได้เท่ากับ 75.51 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.56 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สารเสริมทั้ง 3 ชนิดยังไม่มีผลต่อระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวเว้าศัตรูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัทที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน มีแนวโน้มที่จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนทั้งหมดในซีรัม ( $P=0.08$ ) การเสริมสารทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่อค่าแอลบูมิน กลอบูลิน และแอลบูมินต่อกลอบูลินในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม การเสริมโปแตสเซียมไดฟอสมัทเพิ่มปริมาณของอัลฟา-กลอบูลินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ โดยกลุ่มควบคุมมีปริมาณอัลฟา-กลอบูลินเท่ากับ 1.29 กรัม/เดซิลิตร ในขณะที่กลุ่มที่เสริมโปแตสเซียมไดฟอสมัทมีค่าเท่ากับ 1.96 กรัม/เดซิลิตร นอกจากนี้การเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์มีแนวโน้มให้ปริมาณบีตา-กลอบูลิน และแกมมา-กลอบูลินเกิดการเปลี่ยนแปลง ( $P=0.06$  และ  $0.05$ )

การเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท ที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหาร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของอวัยวะภายใน (หัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอด) ของสุกร เมื่อเปรียบเทียบผลจากการทดลองที่ 2 และ 3 โดยพบว่าค่าต่างกันเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองในการทดลองที่ 3 สูงกว่าการทดลองที่ 2 (ตารางที่ 15 และ 23)

การเสริมโปแตสเซียมไดฟอสมัทในระดับ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหาร ทำให้อัลฟา-กลอบูลินในซีรัมเพิ่มสูงขึ้น โดยปกติอัลฟา-กลอบูลินจะถูกสร้างขึ้นที่ตับ ปริมาณของโปรตีนชนิดนี้จะเพิ่มขึ้นได้เมื่อเกิดการอักเสบและเมื่ออยู่ในสภาวะขาดอาหาร (Margaret, 2001) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อโปแตสเซียมไดฟอสมัทแตกตัวในลำไส้ ทำให้เกิดการอักเสบที่ระบบทางเดินอาหารตามมา เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 19 แม้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ แต่การเสริมโปแตสเซียมไดฟอสมัททำให้มีความเป็นกรดมากที่สุด

ตารางที่ 23 เปรูเซ็นต์น้ำหนักหัวใจ ตับ ม้าม ไต และปอดเทียบกับน้ำหนักตัวของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอรัม

อวัยวะ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟอรัม		
หัวใจ	0.45	0.47	0.43	0.43	0.57	0.01
ตับ	2.30	2.43	2.48	2.37	0.80	0.06
ม้าม	0.19	0.19	0.19	0.19	0.98	0.01
ไต	0.45	0.44	0.44	0.47	0.89	0.01
ปอด	1.30	1.32	1.49	1.34	0.60	0.05

หมายเหตุ แสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

**ตารางที่ 24** อัตราส่วนเมล็ดเลือดขาวชนิดเสทเทอโรฟิลต่อลิ้มโพไซท์ ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวาต์สุกร และ โปรตีนในซีรัมของสุกรระยะอนุบาลที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และ โปแตสเซียมไดฟอรัม

รายการ	กลุ่มการทดลอง				P-value	Pooled SEM
	ควบคุม	โซเดียม กลูโคเนต	แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์	โปแตสเซียม ไดฟอรัม		
เมล็ดเลือดขาวชนิดเสทเทอโรฟิลต่อลิ้มโพไซท์ (เปอร์เซ็นต์)	75.51	73.16	71.30	73.21	0.81	0.79
แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวาต์สุกร (log <sup>2</sup> )	7.30	8.11	8.22	8.14	0.53	0.19
โปรตีนทั้งหมดในซีรัม (กรัม/เดซิลิตร)	6.08	6.56	6.69	6.90	0.08	0.11
แอลบูมิน (กรัม/เดซิลิตร)	3.44	3.74	3.67	3.75	0.69	0.10
อัลฟา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	1.29 <sup>b</sup>	1.61 <sup>ab</sup>	1.21 <sup>b</sup>	1.96 <sup>a</sup>	0.02	0.10
บีตา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	0.74	0.72	1.05	0.55	0.06	0.06
แกมมา-กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	0.60	0.50	0.76	0.63	0.05	0.05
กลอบูลิน (กรัม/เดซิลิตร)	2.64	2.83	3.01	3.14	0.18	0.08
แอลบูมินต่อกลอบูลิน	1.31	1.32	1.23	1.28	0.95	0.06

หมายเหตุ แสดงค่าเฉลี่ย least squares จากสุกรจำนวน 6 ตัวต่อกลุ่ม

<sup>a</sup> และ <sup>b</sup> อักษรต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

แกมมา-กลูตาไมน คือ อิมมูโนกลูตาไมน ที่สร้างขึ้นเมื่อร่างกายสังเคราะห์แอนติบอดีขึ้นเป็นผลจากการกระตุ้นของแอนติเจน (Margaret, 2001) การเสริมแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 3,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหาร เพิ่มปริมาณแกมมา-กลูตาไมน ( $P=0.05$ ) สอดคล้องกับค่าแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวาต์สุกรที่มีค่าสูงสุดแม้จะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้น แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีของร่างกายได้ (สารโรจน์, 2547) จากผลการทดลองพบว่าแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์มีแนวโน้มเพิ่มบีตา-กลูตาไมน ( $P=0.06$ ) โดยกลูตาไมนชนิดนี้มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น บีตา-ไลโปโปรตีน และทรานเฟอร์ริน ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเมื่อสัตว์มีไขมันหรือโคเลสเตอรอลสูงขึ้น (Margaret, 2001) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่ากลุ่มที่ได้รับแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์จะมีการสังเคราะห์ไขมันและโคเลสเตอรอลสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม การทดลองในครั้งนี้อย่างขาดการศึกษาในส่วนของการเปลี่ยนแปลงไขมันและระดับโคเลสเตอรอล จึงไม่อาจอธิบายการเพิ่มของบีตา-กลูตาไมนได้

เมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของกลุ่มควบคุมในการทดลองที่ 2 และ 3 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ ค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคหิวาต์สุกร และ โปรตีนทั้งหมดในซีรัมต่างมีค่าในระดับใกล้เคียงกัน โดยค่าศึกษาเหล่านี้จัดเป็นการเริ่มต้นตรวจสอบความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน (โสมทต, 2538) ซึ่งผลแสดงให้เห็นระดับภูมิคุ้มกันในกลุ่มควบคุมจากทั้ง 2 การทดลองอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วนในอาหารจากการทดลองที่ 2 และ 3

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่เสริมโซเดียมกลูโคเนตในระดับ 1,250 2,500 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน เทียบกับกลุ่มควบคุมนั้น โซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 และ 7,500 ส่วนต่อล้านส่วน สามารถช่วยเพิ่มความเป็นกรด ลดปริมาณแอมโมเนีย และเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากการหมักของ จุลินทรีย์ที่เก็บจากบริเวณกระพุ้งไส้ใหญ่ของสุกรระยะอนุบาลได้

การศึกษาโซเดียมกลูโคเนตในลักษณะของสารเสริมในอาหารสุกรระยะอนุบาลที่ระดับต่าง ๆ คือ 1,000 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน เทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าการเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน สามารถเพิ่มน้ำหนัก และปรับปรุงอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวโดยไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน สมดุลของจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน และน้ำหนักของอวัยวะภายใน นอกจากนี้ การเสริมโซเดียมกลูโคเนตที่ระดับ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ยังส่งผลดีต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้นในกระพุ้งไส้ใหญ่ อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อลำไส้ในระบบทางเดินอาหารด้วย โดยสามารถเพิ่มความสูงของวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นให้เพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบผลของการเสริมอาหารสุกรระยะอนุบาลด้วยโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปรแตสเซียมไดฟอรัเมท ที่ระดับ 5,000 3,000 และ 8,000 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับต่อการเจริญเติบโตของสุกร พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต และปรับปรุงอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น โดยไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กิน จำนวนจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน และน้ำหนักของอวัยวะภายในแต่อย่างใด นอกจากนี้ สารเสริมในอาหารกลุ่มดังกล่าวยังช่วยเพิ่มความสูงของวิลลัสบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น ผลจากการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าโซเดียมกลูโคเนตมีคุณสมบัติใช้เป็นสารเสริมในอาหารสำหรับสุกรระยะอนุบาลได้ โดยให้ผลตอบแทนในการเพิ่มสมรรถภาพการผลิต และกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อลำไส้ได้ เช่นเดียวกับแมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปรแตสเซียมไดฟอรัเมท

### ข้อเสนอแนะ

การทดลองครั้งนี้พบว่าสุกรมี่สมรรถภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักร่างกายที่ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตาม หากการทดลองได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของสัตว์ร่วมด้วย จะทำให้สามารถอธิบายผลของโซเดียมกลูโคเนต แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์ และโปแตสเซียมไดฟอสมัท ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารให้ดีขึ้นได้ อีกทั้งจะสามารถอธิบายกลไกของสารเสริมในอาหารต่อการเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสัตว์ได้สมบูรณ์ขึ้นด้วย นอกจากนี้ หากศึกษาจำนวนจุลินทรีย์บางกลุ่มเพิ่มเติม เช่น จุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตกรดอินทรีย์ และจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้กรดอินทรีย์เพื่อผลิตกรดบิวทิริก จะทำให้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันสายสั้นในระบบทางเดินอาหารได้ดียิ่งขึ้น

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2539. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดชื่อ ประเภท ชนิดหรือลักษณะของวัตถุดิบในอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์เพื่อขาย ตลอดจนอัตราส่วนหรือปริมาณที่ใช้หรือห้ามมิให้ใช้วัตถุดิบนั้นเกินกำหนด พ.ศ. 2539.
- \_\_\_\_\_. 2545. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดชื่อ ประเภท ชนิด หรือลักษณะของอาหารสัตว์ที่ไม่อนุญาตให้นำเข้าเพื่อขาย และกำหนดชื่อ ประเภท ชนิด ลักษณะคุณสมบัติและส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารสัตว์ที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์ พ.ศ. 2545.
- \_\_\_\_\_. 2546. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดชื่อ ประเภท ชนิดหรือลักษณะของวัตถุดิบในอาหารสัตว์ ที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์เพื่อขายตลอดจนอัตราส่วนหรือปริมาณที่ใช้หรือห้ามมิให้ใช้วัตถุดิบนั้นเกินกำหนด พ.ศ. 2546.
- ธีรวิทย์ เปี้ยคำภา, ณัฐวุฒิ ครุฑไทย, เกียรติกร ประการแก้ว, ชาญวิทย์ แก้วตาปี และ ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2552. ผลของ Sodium Gluconate และ Liquid DL-Methionine Hydroxy Analogue Free acids ต่อค่า pH และปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากการหมักของอาหารในลำไส้ส่วนท้ายของสุกรภายนอกตัวสัตว์. วารสารเกษตร 25(พิเศษ): 315-321.
- ฤทัย สกุลแรมรุ่ง, ประพันธ์ ภาณุภาค, ไหม รัตนวารักษ์, ปริญญาจิตร เจริญวงศ์, กำจร ตติยกวี, อรดี หาญวิวัฒน์ และ สุรนนท์ ตติระวัฒนวงศ์. 2539. วิทยานิพนธ์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วาสนา ภิญโญชมม์. 2543. อหิวาต์สุกร, น. 135-176. ใน สถาบันสุขภาพสัตว์, บรรณาธิการ. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคสัตว์. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สาโรจน์ คำเจริญ. 2547. อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- โสมทัต วงศ์สว่าง. 2538. วิทยานิพนธ์ทางสัตวแพทย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

โสมรพีย์ ภูมิศักดิ์พรรณ. 2551. ผลของการเสริมพรีไบโอติกโซเดียมกลูโคเนต ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของไก่กระตัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Allison, C. and G. T. Macfarlane. 1988. Effect of nitrate on methane production and fermentation in slurries of human faecal bacteria. **J. Gen. Microbiol.** 134: 1397-1405.

Animal Health Products Association. 2008. **AHPA Market Information 2008.** Thailand Animal Health Product Association, Bangkok.

Argenzio, R. A. and M. Southworth. 1974. Sites of organic acid production and absorption in the gastrointestinal tract of the pig. **Am. J. Physiol.** 228: 454-460.

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

Association of American Feed Control Officials. 1998. **Official Publication.** Atlanta, Georgia.

Association of Official Analytical Chemists. 2000. **Official Methods of Analysis.** 17<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.

Bager, F., M. Madsen, J. Christensen and F. M. Aarestrup. 1997. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. **Prev. Vet. Med.** 31: 95-112.

BASF. 2003. **Products for the feed industry technical information edition 2003.** BASF, Ludwigshafen.

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.
- Blanchard, P. 2004. Twenty years of acidification. **Pig Progress.** 20 (11): 23-24.
- Carlson, M. S. and T. J. Fangman. 2000. **Swine Antibiotics and Feed Additives: Food Safety Considerations.** Available Source: <http://extension.missouri.edu/publications/DisplayPub.aspx?P=G2353>, October 17, 2010.
- Casewell, M., C. Friis, E. Marco, P. McMullin and I. Phillips. 2003. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. **J. Antimicrob. Chemother.** 52: 159-161.
- Cera, K. R., D. C. Mahan and G. A. Reinhart. 1988. Effects of Dietary Dried Whey and Corn Oil on Weanling Pig Performance, Fat Digestibility and Nitrogen Utilization. **J. Anim. Sci.** 66: 1438-1445.
- Crittenden, R. G. 1999. Prebiotics, pp. 141-156. In G.W. Tannock, ed. **Probiotics: A Critical Review.** Horizon Scientific Press, Wymondham.
- Cummings, J. H. and G. T. Macfarlane. 1991. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon-a review. **J. Appl. Bacteriol.** 70: 443-459.
- Davis, M. E., C. V. Maxwell, D. C. Brown, B. Z. de Rodas, Z. B. Johnson, E. B. Kegley, D. H. Hellwig and R. A. Dvorak. 2002. Effect of dietary mannanoligosaccharide and (or) pharmacological additions of supplemental copper on growth performance and immunocompetence of weanling and growing finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 80: 2887-2894.
- Deppenmeier, U., M. Hoffmeister and C. Prust. 2002. Biochemistry and biotechnological applications of *Gluconobacter* strains. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 60: 233-242.
- Dhawale, A. 2005. Better eggshell quality with gut acidifier. **Poult. Int.** 44 (4): 18-21.

Doyle, M. E. 2001. **Alternatives to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry.**

Available Source: <http://www.wise.edu/fri/briefs/antibiot.pdf>, April 30, 2010.

Eggum, B. O. 1989. Biochemical and methodological principles, pp. 1-52. *In* H. D. Bock, B. Eggum,

A. G. Low, O. Simon and T. Zebrowska, eds. **Protein metabolism in farm animals.**

**Evaluation, Digestion, Absorption and Metabolism.** Oxford Science Publication.

Deutscher Handwertschafts Verlag, Berlin.

Fleming, S. E., S. Y. Choi and M. D. Fitch. 1991. Absorption of short-chain fatty acids from the rat

cecum *in vivo*. **J. Nutr.** 121: 1787-1797.

Foegeding, P. M. and F. F. Busta. 1991. **Chemical food preservation. Disinfection, sterilization &**

**preservation.** Lea Febiger, Pennsylvania.

Fuller, R. and G. Perdigon. 2003. **Gut flora, nutrition, immunity and health.** Blackwell, Oxford.

Gibson, G. R. 1998. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. **Br. J. Nutr.** 80

(Suppl. 2): 209-212.

\_\_\_\_\_. and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota:

introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.** 125: 1401-1412.

\_\_\_\_\_., S. Macfarlane and G. T. Macfarlane. 1993. Metabolic interactions involving sulphate-

reducing and methanogenic bacteria in the human large intestine. **FEMS Microb. Ecol.** 12:

117-125.

Gross, W. B. and H. S. Seigel. 1983. Evaluation of the heterophil:lymphocyte ratio as a measure of

stress in chicken. **Avian Dis.** 27: 972-79.

Hashizume, K., T. Tsukahara, K. Yamada, H. Koyama and K. Ushida. 2003. *Megasphaera elsdenii*

JCM1772T normalizes hyperlactate production in the large intestine of fructo-

oligosaccharide-fed rats by stimulating butyrate production. **J. Nutr.** 133: 3187-3190.

- Henry, J. B. 1984. **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. 17<sup>th</sup>ed. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Hgverstad, T. 1986. Studies of short-chain fatty acid absorption in man. **Scand. J. Gastroenterol.** 21: 257-260.
- Holtug, K., H. Hove and P. B. Mortensen. 1995. Stimulation of butyrate absorption in the human rectum *in vivo*. **Scand. J. Gastroenterol.** 30: 982-988.
- Houdijk, J. G. M., R. Hartemink, K. M. J. Van Laere and B. A. Williams. 1997. Fructooligosaccharides and trans-galactooligosaccharides in weaner pigs's diet, pp. 69-78. *In* R. Hartemink, ed. **International symposium of the Non- digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon**. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Hume, I. D. 1995. Flow dynamics 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, Cambridge.
- Hunter, D. R. and I. H. Segel. 1973. Effect of weak acids on amino acid transport by *pencillium chrysogenum*: evidence of a proton or charge gradient as the driving force. **J. Bacteriol.** 113: 1184-1192.
- Ivan, E. I. 2003. Microbiology epidemiology and parasitology. **Poul. Inter.** 42 (4): 33-37.
- Judith, A. B. and T. R. Houpt. 1988. Feeding and drinking patterns in young pigs. **Physiol. Behav.** 43 (1): 99-109.
- Just, A., H. Jorgensen and J. A. Fernhdez. 1983. Maintenance requirement and the net energy value of different diets for growth in pigs. **Livest. Prod. Sci.** 10: 487-506.

- Kaewtapee, C., N. Krutthai, K. Poosuwan, T. Poeikhampha, S. Koonawootrittriron and C. Bunchasak. 2008. Effects of adding liquid DL-methionine hydroxy analogue-free acid to drinking water on growth performance and small intestinal morphology of nursery pigs. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)**. 94 (3): 395-404.
- Kaplan, H. and R. W. Hutkins. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and *bifidobacteria*. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 2682-2684.
- Keneko, J. J., J. W. Harvey and M. L. Bruss. 1997. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. 5<sup>th</sup> ed. Sandiego Academic Press, Sandiego.
- Knarreborg, A., N. Miquel, T. Granli and B. B. Jensen. 2002. Establishment and application of an *in vitro* methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. **J. Anim. Feed Sci.** 99: 131-140.
- Latymer, E. A., H. D. Keal and A. G. Low. 1991. Absorption and metabolism of [U-14C] acetic acid in growing pigs. **Anim. Prod.** 52: 331-336.
- LeMieux, F. M., L. L. Southern and T. D. Bidner. 2003. Effect of mannan oligosaccharides on growth performance of weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 81: 2482-2487.
- Lueck, E. 1980. **Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects**. Springer, Berlin.
- Macfarlane, G. T. and J. H. Cummings. 1991. The colonic flora, fermentation and large bowel digestive function, pp. 51-92. *In* S. F. Phillips, J. H. Pemberton and R. G. Shorter, eds. **The Large Intestine: Physiology, Pathophysiology and Disease**. Raven Press Ltd., New York.
- Macfarlane, S. and G. T. Macfarlane. 2003. Regulation of short-chain fatty acid production. **Proc. Nutr. Soc.** 62: 67-72.
- Margaret, A. W. 2001. **Plasma Proteins**. Available Source: <http://www.exoticpetvet.net>, October 17, 2010.

- McFarlane, J. M. and S. E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chickens. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil:lymphocyte ratio. **Poult. Sci.** 68: 522-527.
- McNeil, N. I., J. H. Cummings and W. P. T. James. 1978. Short chain fatty acid absorption by the human large intestine. **Gut.** 19: 819-822.
- Michel, C., M. Lahaye, C. Bonnet, S. Mabeau and J. L. Barry. 1996. *In vitro* fermentation by human faecal bacteria of total and purified dietary fibres from brown seaweeds. **Br. J. Nutr.** 15: 263-280.
- Miller, E. R., D. E. Ullre, I. Ackema, D. A. Schmid, J. A. Hoefe and R. W. Lueck. 1961. Swine Hematology from Birth to Maturity. I. Serum Protein. **J. Anim. Sci.** 20: 31-35.
- 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. **Int. J. Poult. Sci.** 4: 761-764.
- Mroz, Z., D. E. Reese, M. Overland, J. T. van Diepen and J. Kogut. 2002. The effects of potassium diformate and its molecular constituents on the apparent ileal and fecal digestibility and retention of nutrients in growing-finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 80: 681-690.
- Mul, A. J. 1997. Application of oligosaccharides in animal feeds, pp. 106-116. *In* R. Hartemink, ed. **International symposium of the Non- digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon.** Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Newman, K. E. and M. C. Newman. 2001. Evaluation of mannan oligosaccharide on the microflora and immunoglobulin satus of sows and piglet performance. **J. Anim. Sci.** 79: 189-195.
- 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.
- Piva, A., P. Anfossi, E. Meola, A. Pietri, A. Panciroli, T. Bertuzzi and A. Formigoni. 1997. Effect of microencapsulation on absorption process in swine. **Livest. Prod. Sci.** 51: 53-61.

- Piva, A., G. Casadei and G. Biagi. 2002. An organic acid blend can modulate swine intestinal fermentation and reduce microbial proteolysis. **Can. J. Anim. Sci.** 82: 527-532.
- Pluske, J. R., D. J. Hampson and I. H. Williams. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livest. Prod. Sci.** 51: 215-236.
- Quigley, E. M. and R. Quera. 2006. Small intestinal bacterial overgrowth: roles of antibiotics, prebiotics, and probiotics. **Rev. Med. Chil.** 30 (2): 67-69.
- Rechkemmer, G., K. Ronnau and W. V. Engelhardt. 1988. Fermentation of polysaccharides and absorption of short chain fatty acids in the mammalian hindgut. **Comp. Biochem. Physiol. ; Physiol.** 90 (4): 563-569.
- Ricke, S. C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poult. Sci.** 82: 632-639.
- Risley, C. R., E. T. Kornegay, M. D. Lindemann and S. W. Weakl. 1991. Effects of organic acid with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 35: 259-270.
- Rkrat, A., M. Fiszlewicz, A. Guisi and P. Vaugelade. 1987. Influence of meal frequency on postprandial variations in the production and absorption of volatile fatty acids in the digestive tract of conscious pigs. **J. Anim. Sci.** 64: 448-456 .
- Roediger, W. E. 1980. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. **Gut.** 21: 793-798.
- \_\_\_\_\_. and A. Moore. 1981. Effect of short-chain fatty acid on sodium absorption in isolated human colon perfused through the vascular bed. **Dig. Dis. Sci.** 26: 100-106.
- Russell, J. B., C. J. Sniffen and P. J. Van Soest. 1983. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **J. Dairy Sci.** 66: 763-775.

- Sanchez, H. C., R. Hamilton and H. I. Goldberg. 2010. **Lower GI Tract, Pancreas and Gallbladder.**  
Available Source: [http://missinglink.ucsf.edu/lm/IDS\\_106\\_LowerGI/Lower%20GI/mainpages/homepage.htm](http://missinglink.ucsf.edu/lm/IDS_106_LowerGI/Lower%20GI/mainpages/homepage.htm), October 26, 2010.
- Scheppach, W., H. P. Bartram and F. Richter. 1995. Role of short chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer. **Eur. J. Cancer.** 31 (A): 1077-1080.
- Shimotoyodome, A., S. Meguro, T. Hase, I. Tokimitsu and T. Sakata. 2000. Short chain fatty acids but not lactate or succinate stimulate mucus release in the rat colon. **Comp. Biochem. Physiol.** 125: 525-531.
- Smith, I. D., W. G. Hoekstra, R. H. Grummer and P.H. Phillips. 1960. Studies on Serum Proteins of Normal and Parakeratotic Pigs. **J. Anim. Sci.** 19: 580-589.
- Spring, P., C. Wenk, K. A. Dawson and K. E. Newman. 2000. The effects of dietary mannan-oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the cecal of salmonella challenged broiler chicks. **Poult. Sci.** 79: 205-211.
- Steed, H. and S. Macfarlane. 2009. **Mechanisms of Probiotic Impact on Health.** Springer, New York.
- Steel, R. G. D. and T. H. Torries. 1980. **Principle and Procedure of Statistic.** McGraw Hill Book Company, New York.
- Steven, J. K., P. S. Miller and A. J. Lewis. 2001. **Factors Affecting Small Intestine Development in Weanling Pigs.** University of Nebraska, Nebraska.
- Stevens, C. E. 1988. **Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System.** Cambridge University Press, Cambridge.

- Taube, V. A., M. E. Neu, Y. Hassan, J. Verspohl, M. Beyerbach and J. Kamphues. 2009. Effects of dietary additives (potassium diformate/organic acids) as well as influences of grinding intensity (coarse/fine) of diets for weaned piglets experimentally infected with *Salmonella* Derby or *Escherichia coli*. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)**. 93: 350-358.
- Tewe, O. O. 1985. Protein metabolism in growing pigs fed corn or cassava peel based diets containing graded protein levels. **Res. Vet. Sci.** 29: 259-263.
- The General Accounting Office. 2004. **Antibiotic Resistance**. Available Source: <http://www.gao.gov/new.items/d04490.pdf>, October 17, 2010.
- Tizard, I. R. 2000. **Veterinary Immunology an Introduction**. 4<sup>th</sup> ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Tsukahara, T. and K. Ushida. 2001. Organic acid profiles in feces of pigs with pathogenic or non-pathogenic diarrhea. **J. Vet. Med. Sci.** 63: 1351-1354.
- \_\_\_\_\_, 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, H. M., M. J. Nabuurs, L. Vellenga, H. J. Kalsbeek van der Valk, T. Wensing and H. J. Breukink. 1998. Weaning and the weaning diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. **J. Nutr.** 128: 947-953.
- Vanbelle, M., E. Teller and M. Focant. 1990. Probiotics in animal nutrition: a review. **Arch Tierernahr.** 40 (7): 543-547.
- Vondruskova, H., R. Slamova, M. Trckova, Z. Zraly and I. Pavlik. 2010. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. **Vet. Med.** 55 (5): 199-224.

Wegener, H. C. 2003. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. **Curr. Opin. Microbiol.** 6: 439-445.

Znad, H., J. Markos and V. Bales. 2004. Production of gluconic acid from glucose by *Aspergillus niger*: growth and non-growth conditions. **Proc. Biochem.** 39: 1341-1345.





**การศึกษาารูปแบบของโปรตีนในซีรัม (Serum Protein Pattern) และอัตราส่วนแอลบูมินต่อกลอบูลิน โดยเทคนิคเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส ตามวิธีการของ Helena Laboratories, สหรัฐอเมริกา**

**เครื่องมือและอุปกรณ์**

1. ชุดเครื่องมือเซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟรีซิส และเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Helena Laboratories, สหรัฐอเมริกา)
2. แผ่นเซลลูโลสอะซิเตท (TITAN III-H) ขนาด 76 x 60 มิลลิเมตร
3. จานแก้ว
4. ตู้อบ (Memmert, Germany)
5. เครื่องวิเคราะห์แผ่นเจล EDC (Electrophoresis Data Center; Helena Laboratories, สหรัฐอเมริกา)
6. กระดาษกรอง
7. แผ่นสไลด์
8. ไมโครปิเปต

**สารเคมี**

1. สารละลาย Tris-barbital-sodium barbital buffer ความเป็นกรด-ด่าง 8.8 สำหรับโปรตีนในซีรัม
2. สีย้อมฟองโซเอส (Staining reagent) ประกอบด้วยฟองโซเอส 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดซัลโฟซาลิไซลิก (Sulfosalicylic acid) 3.5 เปอร์เซ็นต์ และกรดไตรโคลโรอะซิติก (Trichloroacetic acid)
3. สารละลายล้างสีย้อม (Destaining reagent) ประกอบด้วยกรดอะซิติก 5 เปอร์เซ็นต์
4. สารละลาย Clearing ประกอบด้วยกรดอะซิติก 30 ส่วนและเมทานอล 70 ส่วน
5. สารละลายซีรัมมาตรฐาน (Serum control; Helena Laboratories, สหรัฐอเมริกา)

**วิธีการวิเคราะห์**

1. เตรียมสารละลาย Tris-barbital-sodium barbital buffer ความเป็นกรด-ด่าง 8.8 โดยละลายสาร Tris-barbital-sodium barbital buffer จำนวน 18 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 750 มิลลิลิตร นำแผ่นเซลลูโลสอะซิเตทมาแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์เป็นเวลา 20 นาที

2. เทสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในอ่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 ข้างของเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส ใส่กระดาษกรองที่ชุ่มด้วยบัฟเฟอร์ลงในอ่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 ข้างเพื่อเป็นสะพานเชื่อมกระแสไฟฟ้า

3. บรรจุซีรัม 8 ไมโครลิตร ลงในช่องใส่สาร นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทที่แช่ในบัฟเฟอร์มาซับด้วยกระดาษกรอง แล้วนำ Applicator มากดในช่องที่ใส่ซีรัม 3-4 ครั้ง จากนั้นนำ Applicator กดลงบนแผ่นเซลล์โลส นาน 5 วินาที

4. นำแผ่นเซลล์โลสที่ใส่สารเรียบร้อยแล้วมาวางบนอ่างอิเล็กโทรด เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ 180 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที

5. ย้อมสีโดยแช่แผ่นเซลล์โลสอะซิเตทในสารละลายสีย้อมฟองโซเอส เป็นเวลา 5 นาที ล้างสีย้อมในกรดอะซิติก 2 ครั้ง ๆ ละ 2-3 นาที

6. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาแช่ลงในเมทานอล 2 ครั้ง ๆ ละ 2-3 นาที

7. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาแช่ในสารละลาย Clearing เป็นเวลา 10 นาที

8. นำแผ่นเซลล์โลสอะซิเตทมาให้ความร้อน โดยอบที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เปลี่ยนจากแผ่นทึบแสงเป็นแผ่นโปร่งใสและแห้งสนิททั่วทั้งแผ่น นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์แผ่นเจล EDC

### อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture Medium)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey และ Sharpe (MRS) โดยมีส่วนประกอบดังที่แสดง จากนั้นปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง  $5.0 \pm 0.5$  ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N และทำการนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

#### 1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey

Peptone	5.00	กรัม
Lactose	2.50	กรัม
Yeast extracts	3.00	กรัม
Sodium chloride	5.00	กรัม
Neutral red	0.03	กรัม
Di-sodium hydrogen phosphate	3.50	กรัม
Potassium di-hydrogen phosphate	1.50	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Chromogenic mix	20.30	กรัม

Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร
-----------------	---------	-----------

## 2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sharpe (MRS)

D (+) glucose	20.00	กรัม
Peptone	10.00	กรัม
Meat extract	8.00	กรัม
Yeast extract	4.00	กรัม
Di-potassium hydrogen phosphate	2.00	กรัม
Di-ammonium hydrogen citrate	2.00	กรัม
Sodium acetate	5.00	กรัม
Magnesium sulfate	0.20	กรัม
Manganese sulfate	0.04	กรัม
Sorbitan monostearate (Tween 80)	1.00	มิลลิลิตร
Agar	14.00	กรัม
Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

หลักการปฏิบัติงานด้านจุลพยาธิวิทยาเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

### 1. การเก็บตัวอย่าง (Specimen collection)

#### 1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ประกอบด้วย

- 1.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างที่บรรจุสารช่วยคงสภาพเนื้อเยื่อ (Fixative) พร้อมฉลาก
- 1.1.2 บีกเกอร์ใส Normal saline
- 1.1.3 ถาดเทียมน
- 1.1.4 มีดผ่าตัด
- 1.1.5 คีม (Forceps)

#### 1.2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

- 1.2.1 ตัดลำไส้เล็กแยกออกเป็นส่วนต้นและส่วนกลาง ล้างเลือดและสิ่งที่ติดมากับ เนื้อเยื่อด้วย

#### Phosphate buffer saline

- 1.2.2 ใช้คีมคีบเนื้อเยื่อใส่ขวดที่บรรจุสารช่วยคงสภาพเนื้อเยื่อ
- 1.2.3 ใช้ดินสอเขียนระบุว่าเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนใด จากสัตว์ใด วัน เดือน ปีที่เก็บ
- 1.2.4 ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้เนื้อเยื่อแข็งพอที่จะตัดเป็นชิ้นเล็กได้

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

1.2.6 แช่ในสารช่วยคงสภาพเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนใหม่ ปริมาณ 10-20 เท่าของเนื้อเยื่อ

## 2. การคงสภาพเนื้อเยื่อ (Fixation)

การคงสภาพเนื้อเยื่อ เป็นกระบวนการเก็บรักษาเนื้อเยื่อให้มีสภาพใกล้เคียงกับเมื่อมีชีวิตมากที่สุด ทั้งขนาด รูปร่าง และองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งระยะเวลาในการคงสภาพประมาณ 8-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับประเภทของเนื้อเยื่อ โดยสารช่วยคงสภาพที่ใช้ได้แก่ Phosphate buffer formalin เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

ฟอร์มาลิน เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์	100.00	มิลลิลิตร
โมโนโซเดียม ฟอสเฟต ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	18.16	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	4.13	กรัม
น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้	1,000.00	มิลลิลิตร

## 3. การล้าง (Washing)

นำชิ้นเนื้อที่คงสภาพด้วย Phosphate buffer formalin ล้างด้วยน้ำประปา โดยนำชิ้นเนื้อที่คงสภาพแล้วมาวางในบล็อกรับที่ปิดฝา ใส่ภาชนะ ล้างน้ำแบบไหลผ่านตลอดเวลา 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง ถ้าชิ้นเนื้อคงสภาพไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง ให้ล้างน้ำนานประมาณ 10 นาที ทุก ๆ 12 ชั่วโมง

## 4. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue processing)

นำถลับชิ้นเนื้อ (Tissue cassette) ที่ผ่านการล้างแล้วใส่ในตะกร้า แล้วนำตะกร้าไปแขวนกับตะขอของเครื่อง Automatic tissue processor ซึ่งมีภาชนะบรรจุสารเคมี 12 โถ และใช้เวลาในแต่ละขั้นตอนแสดงดังตารางผนวกที่ 1

## 5. การฝังชิ้นเนื้อในพาราฟิน (Embedding)

เมื่อครบเวลาในขั้นตอนที่ 12 ของการเตรียมชิ้นเนื้อ นำตะกร้าบล็อกชิ้นเนื้อออกจากเครื่อง Automatic tissue processor แล้วนำมาใส่ใน Tissue storage tank ของเครื่อง Tissue embedder ที่เปิดทิ้งไว้ไม่ต่ำกว่า 4 ชั่วโมง เพื่อให้พาราฟินละลาย สำหรับขั้นตอนในการทำบล็อกชิ้นเนื้อครั้งนี้

5.1 นำตลับใส่ชิ้นเนื้อ (Tissue cassette) ออกจาก Tissue storage tank ที่ตลับเปิดออก ดูขนาดและจำนวนของชิ้นเนื้อเพื่อเลือก Mold

5.2 เลือก Mold ที่อุ่นไว้ใน Base mold storage oven ตามขนาดของชิ้นเนื้อ

5.3 หยอดพาราฟินเหลวลงใน Mold พอประมาณ ให้ท่วมชิ้นเนื้อ

5.4 ใช้คีมที่อุ่นไว้คีบชิ้นเนื้อ โดยพิจารณาว่าจะวางอย่างไร แล้วรีบวางชิ้นเนื้อฝังลงในพาราฟินเหลว ควรทำอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 นาที

5.5 วางตลับลงบน Mold

5.6 หยดพาราฟินเหลวเติมลงไปอีกให้เต็ม Mold

5.7 วางทิ้งไว้ให้เย็นบน Cool plate แล้วแกะบล็อกชิ้นเนื้อออกจาก Mold

**ตารางผนวกที่ 1** ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ น้ยาเคมี และระยะเวลา โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Automatic tissue processing)

ขั้นตอนที่	สารเคมี	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
1	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์	5.0
2	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์	2.0
3	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์	1.0
4	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์	1.0
5	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	1.0
6	แอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	1.0
7	แอลกอฮอล์บริสุทธิ์	1.0
8	แอลกอฮอล์บริสุทธิ์	1.0
9	ไซลีน	1.0
10	ไซลีน	1.0
11	พาราฟินเหลว	1.5
12	พาราฟินเหลว	1.5

## 6. การตัดชิ้นเนื้อให้เป็นแผ่นบาง (Sectioning)

6.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดประกอบด้วย Rotary microtome, Microtome knife, Tissue floating bath, Hot air oven, Fine pointed forceps, 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 ว่าใช้งานได้  
ดี

6.2.2 เลื่อน Block Holder กลับสู่เครื่องจนสุด

6.2.3 ไล่ Knife holder เลื่อนเข้าใกล้ Block holder เว้นระยะห่างประมาณ  $\frac{1}{2}$  นิ้ว แล้วล็อก  
Knife holder กับฐานตัวเครื่องให้แน่น

6.2.4 ไล่ Microtome knife เข้ากับ Knife holder แล้วขันสกรูล็อกใบมีดให้แน่น

6.3 วิธีการตัดแต่งเนื้อเยื่อ (Trim) และการตัดชิ้นเนื้อให้เป็นแผ่นบาง (Sectioning)

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 เป็นสายริบบิ้น

6.3.5 ใช้คีมจับแถบของ Paraffin section ไปลอยบน Tissue floating bath อุณหภูมิ 40-45  
องศาเซลเซียส ที่เติม Adhesive แล้ว (อาจใช้แอลกอฮอล์ เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้ Section แผลยัดออก)

6.3.6 ใช้คีมแยกเอา Section ออกจากกัน

6.3.7 นำสไลด์มาซ้อน Section ที่ได้

6.3.8 เขียนประเภท และหมายเลขชิ้นเนื้อที่สไลด์ แล้วตากให้แห้งสนิท

6.3.9 นำสไลด์ที่ได้เข้าอบ โดยอบอย่างน้อย 30 นาที ที่อุณหภูมิ 58-61 องศาเซลเซียส เพื่อยึด  
Section ให้ติดกับสไลด์ยิ่งขึ้น

6.3.10 เมื่อครบเวลา นำสไลด์ออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นเพื่อรย้อมสีต่อไป

## 7. การย้อมสี (Staining)

วิธีย้อมสีสไลด์ที่นิยมใช้กันและเป็นวิธีมาตรฐานคือ Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี  
Progressive staining อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้อมสี (Staining equipment) ประกอบด้วย Staining dish พร้อม  
cover, Staining rack พร้อม holder, Slide forceps, Slide tray และ Glass bottle โดยมีกระบวนการย้อมดังนี้  
คือ Deparaffinization, Hydration, Staining, Dehydration, Clearing และ Mounting ขั้นตอนในการย้อมสี  
Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining แสดงในตารางผนวกที่ 2

ตารางผนวกที่ 2 ขั้นตอนในการย้อมสี Haematoxylin และ Eosin stain ด้วยวิธี Progressive staining

ขั้นตอน	วิธีทำ	ระยะเวลา
1	แช่สไลด์ในไซลีน	5 นาที
2	แช่สไลด์ในไซลีน	5 นาที
3	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์	2 นาที
4	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์	2 นาที
5	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	2 นาที
6	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	2 นาที
7	ล้างด้วยน้ำประปา	
8	ย้อมสไลด์ในสี Haematoxylin (สีใหม่)	2-3 นาที
9	แช่ในน้ำประปาไหล	3-5 นาที
10	จุ่มสไลด์ในสารละลายบลูอิง (Blueing solution)	10-20 ครั้ง
11	แช่ในน้ำประปาไหล	1 นาที
12	จุ่มสไลด์ในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	10-20 ครั้ง
13	ย้อมสไลด์ในสี Eosin (สีใหม่)	10-30 วินาที
14	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	15 วินาที
15	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	15 วินาที
16	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์	2 นาที
17	จุ่มและแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์	2 นาที
18	จุ่มและแช่สไลด์ในไซลีน	2 นาที
19	จุ่มและแช่สไลด์ในไซลีน	2 นาที
20	จุ่มและแช่สไลด์ในไซลีน	2 นาที
21	นำขึ้น	

8. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ทำการสุ่มวัด 10 จุดในแต่ละสไลด์ โดยวัดความสูงของวิลลัส (Villous height) จากบริเวณที่สูงสุดของวิลลัสถึงบริเวณฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปต์ (Crypt depth junction) และความลึกของคริปต์ (Crypt depth) โดยวัดจากฐานวิลลัสที่ต่อกับคริปต์ถึงบริเวณต่ำสุดของคริปต์ จากนั้นคำนวณหาอัตราส่วนความสูงวิลลัสต่อความลึกของคริปต์

### การวิเคราะห์กรดไขมันสายสั้น (Short Chain Fatty Acids; SCFAs)

การวิเคราะห์กรดไขมันสายสั้นจากตัวอย่างอาหารในกระป๋องใส่ใหญ่ ทำเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยสุกรในแต่ละซ้าจะถูกการุณฆาต (Euthanasia) และเปิดซากเพื่อนำตัวอย่างอาหารในกระป๋องใส่ใหญ่มาบรรจุลงหลอดปริมาณ 20 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้ผสมกรดไฮโดรคลอริก (6 โมล/ลิตร) และนำไปลดอุณหภูมิลงทันที โดยการแช่ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดกระบวนการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง วิธีการเตรียมตัวอย่างตัดแปลงจาก Biagi *et al.* (2006) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1. นำตัวอย่างอาหารจากกระป๋องใส่ใหญ่ที่แช่แข็งมาทำให้ละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
2. นำอาหารที่ละลายแล้วในหลอด 20 มิลลิลิตร มาเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer
3. ใช้ไมโครปิเปตดูดของเหลวที่ได้บรรจุในหลอดทดลองขนาดเล็ก (Microtube)
4. นำเข้าเครื่องแยกสารโดยการเหวี่ยงหนีศูนย์กลางชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) ที่ความเร็ว 14,000 g. ควบคุมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
5. ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายส่วนใส (Supernatant) ใสในหลอดทดลองขนาดเล็กประมาณ 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทันที จนกว่าจะนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas chromatography เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นต่อไป

### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ เป็นสารเคมีเกรดที่ใช้เพื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas chromatography โดยเฉพาะ (GC Grad) จากบริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน ซึ่งประกอบด้วย กรดอะซิติก (EC label 71251) กรดโพรพิโอนิก (EC label 94425) และกรดบิวทิริก (EC label 19215) ที่ทราบความเข้มข้นชัดเจน นำมาเจือจางในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (GC Grade) ลงครั้งละ 10 เท่า เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas chromatography และบันทึกค่า Retention time ของกรดแต่ละชนิด โดยการวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้ สาร Iso-propanol เป็น Internal standard

### วิธีการทดสอบระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโรคอหิวาต์สุกรโดยวิธี NPLA

ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณลำคอสุกร (Jugular vein) โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร/ตัว ใสหลอดทดลองตั้งทิ้งไว้ จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องแยกสารโดยการเหวี่ยงหนีศูนย์กลางชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เพื่อแยกส่วนของซีรัมและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอการวิเคราะห์ต่อไป การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไวรัสอหิวาต์สุกรด้วยวิธี Neutralizing Peroxidase Linked Assay (NPLA) โดยใช้ชุด

ตรวจสอบสำเร็จรูปของบริษัท IDEXX เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณไวรัสคงที่ แต่เจอจางซีรัม แล้วเพาะลงในเซลล์เพาะเลี้ยง ใช้เอนไซม์ Peroxidase เป็น Indicator สามารถอ่านค่าได้ด้วยตาเปล่า ตามขั้นตอนดังนี้

1. อุ้มนซีรัมที่อุณหภูมิตั้ง 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
2. เจือจางซีรัมด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (Growth medium) แบบ 2-fold ในหลุมเพาะเซลล์ชนิด 96 หลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร ทำ 2 แถวต่อ 1 ตัวอย่าง
3. ใส่เชื้อไวรัสหิวาต์สุกร หลุมละ 100 TCID<sub>50</sub> (100 TCID<sub>50</sub>/50 ไมโครลิตร) เขย่าให้เชื้อไวรัสและซีรัมเข้ากันประมาณ 20 วินาที
4. เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ PK-15 หรือ SK-6 ที่ย่อยแล้ว หลุมละ 100 ไมโครลิตร ( $2 \times 10^5$  เซลล์/มิลลิลิตร)
5. นำเข้า CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิตั้ง 37 องศาเซลเซียส นาน 4-5 วัน
6. ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ถึงแล้วคงสภาพเซลล์ด้วยสารละลายฟอสฟอรัสดีไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ใน PBS-Tween-20 เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิตั้ง นาน 15-20 นาที
7. ทำการล้างตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วย PBS-Tween-20 เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์
8. เติมน้ำเลี้ยงเซลล์แอนติบอดีต่อเชื้อหิวาต์สุกร หลุมละ 50 ไมโครลิตร ที่วางไว้ที่อุณหภูมิตั้ง นาน 30-60 นาที
9. ทำการล้างตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วย PBS-Tween-20 เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์
10. เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ Anti-mouse HRP conjugate หลุมละ 50 ไมโครลิตร ที่วางไว้ที่อุณหภูมิตั้ง 30-60 นาที
11. ทำการล้างตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วย PBS-Tween-20 เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์
12. เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ AEC substrate หลุมละ 50 ไมโครลิตร ที่วางไว้ที่อุณหภูมิตั้ง นาน 15-30 นาที
13. ล้างด้วยน้ำเปล่า และตรวจดูด้วยตาเปล่า เซลล์ที่มีเชื้อไวรัสจะย้อมติดสีน้ำตาลแดง ในกรณีสงสัยให้นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

### วิธีการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) มีหลักการทำงานโดยจะวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 คือ อิเล็กโทรดแก้วและอิเล็กโทรดมาตรฐาน ศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรดแก้วจะเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ซึ่งไวต่อการเปลี่ยนแปลงแต่ไม่ไวต่อประจุชนิดอื่น ส่วนอิเล็กโทรดมาตรฐานจะให้ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน ความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยละลายสารต่างๆ การหาค่าความเป็นกรด-ด่างนี้เป็นการหาจำนวนของ H<sup>+</sup> กับ OH<sup>-</sup> ในหน่วยกรัมสมมูลต่อลิตร (gmE/liter) น้ำบริสุทธิ์จะมีค่าคงที่ (K) เท่ากับ 10<sup>-14</sup> ที่อุณหภูมิตั้ง 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่ความเป็นกลาง (H<sup>+</sup>) = (OH<sup>-</sup>) = 10<sup>-7</sup> ค่าความเป็นกรด-ด่างจะออกมาในรูปลอการิทึม คือ ความเป็นกรด-ด่าง = -log (H<sup>+</sup>)

## เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
2. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. กระจกชนิดมีฝาปิดขนาด 10 มิลลิลิตร
4. กระจกตวง
5. แท่งแก้ว
6. เครื่องชั่งดิจิตอล
7. เครื่อง Vortex mixer
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระดาษทิชชู

## สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ  $7.0 \pm 0.02$  และ  $4.01 \pm 0.01$  อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
2. น้ำกลั่นชนิด Deionized

## วิธีการวิเคราะห์

1. สอบเทียบเครื่อง pH meter ก่อนทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างทุกครั้ง
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (อาหาร มูล และอาหารจากลำไส้) ที่ต้องการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในกระปุก
3. ตวงน้ำกลั่นเพื่อเจือจางตัวอย่างด้วยอัตราส่วน ตัวอย่าง:น้ำกลั่น เท่ากับ 1:3 แล้วปิดฝากระปุก
4. นำมาเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer นาน 1 นาที
5. นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter ใช้เวลา 30 วินาที โดยวัดส่วนของเหลวใส
6. ก่อนวัดตัวอย่างทุกครั้งต้องล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น และใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเล็กโทรดจนแห้ง เพราะอาจทำให้เกิดไฟฟ้าสถิตที่หัวอิเล็กโทรด

### การสอบเทียบเครื่อง pH meter

1. สอบเทียบโดยใช้สารละลายมาตรฐาน 2 จุด คือ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และ 4.01
2. ล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเล็กโทรด
3. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0 แล้วปรับค่าของเครื่องให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
4. จากนั้นล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก
5. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ความเป็นกรด-ด่าง 4.01 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
6. ล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ระหว่างที่รอวัดค่าให้จุ่มหัวอิเล็กโทรดไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่

## ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นายธีรวิทย์ เปี้ยคำภา
วัน เดือน ปี ที่เกิด	13 ตุลาคม 2523
สถานที่เกิด	จังหวัดนครราชสีมา
สถานที่ติดต่อ	53/458 หมู่ 2 ต.คูคต อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี 12130
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	อาจารย์ประจำ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน เลขที่ 50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900