



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

ปริญญญา

พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร

พัฒนาผลิตภัณฑ์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

Development of Dry Canine Food Product Fortified with Probiotic and Prebiotic

นามผู้วิจัย นางสาวสุรณัฐ มณีพันธุ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทานตะวัน พิรัชย์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์จุฬาลักษณ์ จารุณช, M.S.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่

เดือน

พ.ศ.

สิงสิงห์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

Development of Dry Canine Food Product Fortified with Probiotic and Prebiotic

โดย

นางสาวสุรญาณ์ มณีพันธุ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุทธยาณ์ มณีพันธุ์ 2557: การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)
สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ท่านตะวัน พิรัชย์, Ph.D. 132 หน้า

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (*Bacillus subtilis*, *B. subtilis*) และพรีไบโอติก (Fructooligosaccharide, FOS และ Mannanooligosaccharide, MOS) สำหรับสุนัขในประเทศไทย จากผลการสำรวจพฤติกรรมและ ความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัข พบว่า ผู้เลี้ยงสุนัขร้อยละ 90.63 ให้ความสนใจต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก และพรีไบโอติก จากข้อมูลดังกล่าวจึงทำการผลิตอาหารสุนัขสูตรทดลอง 5 สูตร โดยทำการเลียนแบบวัตถุดิบในการประกอบสูตรจากสิทธิบัตรการศึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง และผลิตภัณฑ์ทางการค้า และคำนวณปริมาณสัดส่วนของวัตถุดิบในการประกอบสูตรโดยใช้โปรแกรมเชิงเส้นตรง เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารพื้นฐานที่มีคุณค่าทางโภชนาการตามข้อกำหนดของ Association of American Feed Control Officials (AAFCO) ประกอบด้วย ข้าวโพดบด ร้อยละ 55.78 กากถั่วเหลืองร้อยละ 15.46 ปลาข้าวบดร้อยละ 11.75 น้ำมันปาล์มร้อยละ 6.94 เกลือร้อยละ 0.50 ปลาป่นร้อยละ 5.75 โปรตีนข้าวโพดร้อยละ 3.00 และไคเคลเซียมฟอสเฟตร้อยละ 0.82 นำสูตรพื้นฐานผลิตเป็นอาหารสุนัขชนิดเม็ดเพื่อดูแลระบบทางเดินอาหารโดยการเติมสารพรีไบโอติกผสมระหว่าง FOS และ MOS 3 ระดับ ร้อยละ 0 (T1) 1 (T2) และ 2 (T3) ผลจากการทดลอง พบว่าการเติมสารพรีไบโอติกร้อยละ 2 (T3) ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดอาหารเพิ่มขึ้น ความแข็งและขนาดเม็ดอาหารลดลง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตร T1 และ T2 จากนั้นนำอาหารสูตร T2 และ T3 มาเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* ปริมาณร้อยละ 1 นำอาหารทดลองสูตรควบคุม (T1) สูตรอาหารเสริม *B. subtilis* และพรีไบโอติกผสมร้อยละ 1 (T2+C) และสูตรอาหารเสริม *B. subtilis* และพรีไบโอติกผสมร้อยละ 2 (T3+C) มาเลี้ยงสุนัขทดสอบเป็นเวลา 21 วัน พบว่า สูตรอาหารที่ดีที่สุดคืออาหารทดลองสูตร เสริม *B. subtilis* และพรีไบโอติกผสมร้อยละ 1 (T2+C) เนื่องจากทำให้คะแนนลักษณะปรากฏทางกายภาพของมูลสุนัขเฉลี่ยดีขึ้น โดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 4.29 และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนมูลสุนัขที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (T1) และยังมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้แก่ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli* (*E. coli*) มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมพรีไบโอติกผสม และโปรไบโอติก (T1) ในอาหารสุนัข

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Suttaya Maneepan 2014: Development of Dry Canine Food Product Fortified with Probiotic and Prebiotic. Master of Science (Agro-Industrial Product Development), Major Field: Agro-Industrial Product Development, Department of Product Development.

Thesis Advisor: Assistant Professor Tantawan Pirak, Ph.D. 132 pages.

This research was aimed to develop a dry canine food fortifying probiotics (*Bacillus subtilis*, *B. subtilis*) and prebiotics (Fructooligosaccharide, FOS and Mannanooligosaccharide, MOS) for dogs in Thailand. From the result of surveying of dog's owner behavior and needs found that 90.63% of dog's owner are interested in dry canine food product fortifying probiotic and prebiotic. The five experimental formulas were designed by choosing from patent, several related research and commercial product and formulated using linear regression program. The chosen basic formula has nutrition which followed the regulation of Association of American Feed Control Officials (AAFCO). Basic formula consisted of 55.78% corn, 15.46% soybean meal, 11.75% broken rice, 6.94% palm oil, 0.5% salt, 5.75% fish meal, 3.00% corn gluten meal, 0.82% Dicalciumphosphate (P18). The production of dried dog food with gastrointestinal care by adding 3 levels, 0% (T1) 1% (T2) and 2% (T3) of prebiotic mixture (Fructooligosaccharide, FOS and Mannanooligosaccharide, MOS). The result found that the addition of prebiotic mixture at 2% (T3) significantly increased bulk density of pellet, decreased hardness and diameter of pellet size ($p \leq 0.05$) when comparing with T1 and T2 formula. The formula T2 and T3 were added 1% of *B. subtilis* and brought the 3 formulas; control formula (T1), added *B. subtilis* and 1% prebiotic mixture (T2+C) and added *B. subtilis* and 2% prebiotic mixture (T3+C) to the experimental dogs for 21 days. The result found that the best formula was added *B. subtilis* and 1% prebiotic mixture (T2+C) because of the average physical feces score to better, average feces score had 4.29 and had significant ($p \leq 0.05$) when compared with the feces score of dog's that were fed control formula (T1). And also had an efficiency tend to increase in number of beneficial intestinal microorganisms such as *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. and tend to decrease in amount of pathogenic microorganisms including *Escherichia coli* (*E.coli*) when compared the control formula (T1), no added prebiotic and probiotic.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆ แก่ข้าพเจ้า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผศ.ดร.ทานตะวัน พิทักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รศ.ดร.กมลวรรณ แจ่มชัด และ อาจารย์ จุฬาลักษณ์ จารุณข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำระหว่างการดำเนินการวิจัยตลอดทั้งการ ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ยุวเรศ เรืองพานิช ที่กรุณาช่วยประสานขอความอนุเคราะห์ ในการขอสถานที่และเครื่องมือสำหรับ วิเคราะห์ตัวอย่าง ของภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ขอขอบพระคุณสถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาจารย์จุฬาลักษณ์ จารุณข ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เครื่องเอกซเรย์เตอร์ของ สถาบันเพื่อเป็น เครื่องมือผลิตอาหารสุนัข ขอขอบพระคุณนายวรพล เพ็ญพิณิจ และ เจ้าหน้าที่ฝ่ายโรงงานผลิต 1 สำหรับคำแนะนำ และความช่วยเหลือในการผลิตอาหารสุนัขทดลอง ตลอดการดำเนินการวิจัย

ขอขอบพระคุณโรงพยาบาลสุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ สุนัขทดลอง และสถานที่ในการดำเนินการวิจัย ขอขอบพระคุณ อ.น.สพ.ดร.ศุภวิวัฒน์ พงษ์เลาหพันธ์ และนายจินดา สิงห์ลอ ที่ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำเกี่ยวกับ สุนัขทดสอบ และความช่วยเหลือตลอดการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ทุกท่าน ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโทและเอกทุกท่าน ที่ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความอนุเคราะห์และช่วยแก้ปัญหาในด้านต่างๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จไปได้อย่างสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอมอบส่วนที่ดีของวิทยานิพนธ์ ให้แก่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากมีความผิดพลาดประการใดข้าพเจ้าน้อมรับไว้เพียงผู้เดียวข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติสนิทมิตรสหาย รวมทั้งผู้มีพระคุณที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ทุกท่าน สำหรับความรัก ความห่วงใย ความเข้าใจ และกำลังใจที่มีให้มาตลอดจนสำเร็จการศึกษา

สุธญาณ์ มณีพันธุ์

มีนาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	39
อุปกรณ์	39
วิธีการ	42
ผลและวิจารณ์	52
สรุปและข้อเสนอแนะ	87
สรุป	87
ข้อเสนอแนะ	89
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	90
ภาคผนวก	101
ภาคผนวก ก การอภิปรายแบบกลุ่มของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย แบบสอบถาม สำรวจความคิดเห็น พฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัข วิธี วิเคราะห์ทางสถิติของ Friedman และวิธี Analog Fishe Fisher's LSD_{rank}	102
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ	112
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	114
ภาคผนวก ง ปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	120
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	132

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณแป้งในวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสุนัข	6
2 กรดอะมิโนจำเป็น และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นสำหรับสุนัข	9
3 วิตามิน-แหล่งของวิตามิน หน้าที่ ผลของการขาด และการได้รับวิตามินมากเกินไปของสุนัข	10
4 เกลือแร่-แหล่งของเกลือแร่ หน้าที่ ผลของการขาด และการได้รับเกลือแร่มากเกินไปของสุนัข	12
5 ปริมาณสารอาหารสำหรับสุนัข	16
6 การแบ่งประเภทสุนัขตามขนาดน้ำหนักของร่างกาย	19
7 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารสุนัขสูตรทดลอง 5 สูตร	47
8 หลักเกณฑ์คุณสมบัติทางกายภาพและปริมาณสารอาหารในการพิจารณาเลือกอาหารสุนัขสูตรพื้นฐานสำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย	48
9 ผลการอภิปรายกลุ่มตัวแทนผู้บริโภคร่วมเป้าหมายต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด	53
10 ข้อมูลทางด้านประชากรศาสตร์ของกลุ่มผู้บริโภคร่วมเป้าหมาย	55
11 ข้อมูลจำนวนของกลุ่มผู้เลี้ยงสุนัข จำแนกตามขนาดของสายพันธุ์สุนัข	56
12 ข้อมูลจำนวนสุนัข จำแนกตามขนาดของสายพันธุ์ และช่วงอายุ	56
13 จำนวนของกลุ่มประชากร จำแนกตามพฤติกรรมการให้อาหารสุนัขชนิดเม็ด	57
14 จำนวนของกลุ่มประชากร จำแนกตามพฤติกรรม หลักเกณฑ์ และเหตุผลในการใช้/ซื้อ อาหารสุนัขชนิดเม็ด	59
15 ลำดับการตัดสินใจของผู้เลี้ยงสุนัขต่อเกณฑ์ที่ใช้พิจารณาเลือกซื้ออาหารสุนัข	61
16 จำนวนของกลุ่มประชากรจำแนกตามความคิดเห็นต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก	62
17 ลำดับเกณฑ์ความสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
18 รายละเอียดผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดทางการแพทย์สำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย	65
19 ความหนาแน่นโดยรวม และ ค่าสีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการแพทย์	67
20 ความแข็ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาของเม็ดอาหารของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการแพทย์	68
21 ค่าคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการแพทย์	69
22 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 1	70
23 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารทดลองที่ 1	71
24 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 2	71
25 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารทดลองที่ 2	72
26 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 3	72
27 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารทดลองที่ 3	73
28 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 4	73
29 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารทดลองที่ 4	74
30 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 5	74
31 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารทดลองที่ 5	75
32 ค่าทางกายภาพของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการแพทย์ลำตราสินค้า) และอาหารสูตรทดลอง	77
33 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการแพทย์ลำตราสินค้า) และอาหารสูตรทดลอง	77
34 ค่าทางเคมีของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการแพทย์ลำตราสินค้า) และอาหารสูตรทดลอง	78
35 ค่าความหนาแน่น ความแข็ง และขนาดเม็ดของอาหารสุนัขสูตร T1 สูตร T2 และ T3	79
36 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตรควบคุม (T1) สูตรสูตรที่มีการเสริมฟิโอบีโอติก (T2 และ T3)	79
37 ค่าทางเคมีของอาหารสูตร T1 สูตรเสริมฟิโอบีโอติกผสมร้อยละ 1 (T2) และ 2 (T3)	80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
38 ปริมาณ <i>B. subtilis</i> ในอาหารสุนัขหลังผ่านกระบวนการผลิต	81
39 ค่าทางกายภาพ ความชื้น และปริมาณน้ำอิสระของอาหารสุนัขสูตร T2 และ T3 เปรียบเทียบกับอาหารสุนัขคลือบผงสปอร์ <i>B. subtilis</i>	82
40 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตร T2 และ T3 หลังเคลือบผงสปอร์ <i>B. subtilis</i>	82
41a ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 1-4 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน	83
41b ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 5-8 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน	83
41c ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 9-12 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน	83
42 คะแนนลักษณะปรากฏของมูลสุนัขเฉลี่ย	85
43 ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลอง	86
ตารางผนวกที่	
ง1 ปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน	121

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์	22
2	การหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่	26
3	ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า ๘ ตราสินค้า	66
4	ลักษณะปรากฏของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้าD) และอาหารสูตรทดลอง	76
5	ลักษณะปรากฏของอาหารสุนัขสูตรอาหารควบคุม(T1 สูตรอาหารพื้นฐานที่ไม่มี การเติมพรีไบโอติกและโปรไบโอติก) สูตรเสริม FOS และ MOS ร้อยละ 1 (T2) และ 2 (T3)	78
6	ลักษณะมูลสุนัขตามความหมายของคะแนนลักษณะปรากฏ สเกล 1-5	81
ภาพผนวกที่		
ง3	ขั้นตอนการทำ Dilution	126

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

Development of Dry Canine Food Product Fortified with Probiotic and Prebiotic

คำนำ

อุตสาหกรรมอาหารสัตว์เลี้ยงนับเป็นธุรกิจด้านการเกษตรที่มีแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่องเนื่องจากหลายปัจจัยสนับสนุน โดยเฉพาะการเพิ่มขึ้นของจำนวนสัตว์เลี้ยง ทำให้ตลาดอาหารสัตว์เลี้ยงสำเร็จรูปขยายตัว อย่างรวดเร็ว ปัจจุบันธุรกิจสัตว์เลี้ยงมีมูลค่ารวมราว 10,000 ล้านบาท แบ่งเป็นตลาดผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง ทั้งอาหารเม็ดและอาหารกระป๋อง 7,000 ล้านบาท และผลิตภัณฑ์อื่นๆ อีกประมาณ 3,000 ล้านบาท (ไม่นับรวมธุรกิจการเพาะพันธุ์สุนัข) โดยประเทศไทยนับเป็น 1 ใน 3 ประเทศที่มีการขยายตัวเร็วที่สุดในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก มีปริมาณการส่งออกอาหารสัตว์เลี้ยงเป็นอันดับ 5 ของโลก (กองบรรณาธิการฐานเศรษฐกิจ, 2555) จากลักษณะการเลี้ยงที่เปลี่ยนแปลงไปและความเข้าใจต่อความสำคัญในการดูแลสุขภาพของสุนัข เป็นเหตุผลให้เจ้าของสุนัขเปลี่ยนมาใช้อาหารสุนัขสำเร็จรูปเพิ่มสูงขึ้น และแนวโน้มผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขมีความใกล้เคียงกับอาหารของมนุษย์มากขึ้น อีกทั้งเจ้าของสุนัขมีความยินดีที่จะลงทุนเพื่อซื้อผลิตภัณฑ์ที่ดีและมีประโยชน์ให้กับสุนัขของตน จึงทำให้ผู้ประกอบการจำเป็นต้องมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคและมีคุณภาพดียิ่งขึ้น

ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด โดยเสริมโปรไบโอติก (Probiotic) และพรีไบโอติก (Prebiotics) เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ป้องกันโรกระบบทางเดินอาหาร และกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับสุนัข ได้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเพื่อสุขภาพที่มีคุณภาพ และเป็นที่ยอมรับของสุนัขและผู้เลี้ยงสุนัข

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาพฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด
2. เพื่อสำรวจข้อมูลและศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดสำหรับสุนัขพันธุ์กลางช่วงอายุโตเต็มวัยที่มีจำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติกสำหรับสุนัขพันธุ์กลางช่วงอายุโตเต็มวัย ผลิตโดยใช้กระบวนการเอกซ์ทรูชัน เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของสุนัข และผู้เลี้ยงสุนัข
4. เพื่อศึกษาผลของการเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติกในอาหารสุนัขต่อการเพิ่มสุขภาพโดยรวม ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และการลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค

การตรวจเอกสาร

1. อาหารสัตว์เลี้ยง

อาหารสัตว์เลี้ยง คือ อาหารสำหรับสัตว์เลี้ยง ซึ่งคำนวณสูตรตามสารอาหารที่สัตว์เลี้ยงต้องการ มีไว้เพื่อให้สัตว์เลี้ยงช่วยในการเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของพลังงาน ได้ (National Research Council [NRC], 1993) โดยทั่วไปอาหารสัตว์เลี้ยงจะประกอบด้วย เนื้อ ของเหลือจากเนื้อ เมล็ดธัญพืช เมล็ดข้าว (grain) วิตามิน แร่ธาตุ โปรตีนจากพืชและสัตว์ ผลผลิตพลอยได้จากถั่วเหลือง เปลือกหุ้มเมล็ดถั่ว เป็นต้น (ณัฐชนก, 2551)

อาหารมีความสำคัญและมีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายของสุนัข ในการช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และให้พลังงานแก่ร่างกาย ช่วยในการทำงานของร่างกาย ให้เป็นปกติ อีกทั้งยังมีส่วนช่วยให้สุนัขมีสุขภาพจิตที่ดี ในอาหารจะประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ หลายชนิดที่สำคัญกับสุนัขคือ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน แร่ธาตุ และสิ่งที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ น้ำ

1.1 ประเภทของอาหารสัตว์เลี้ยงสามารถแบ่งตาม ปริมาณระดับน้ำที่เป็นส่วนประกอบ ที่แตกต่างกัน ออกเป็น 4 ประเภท (Kazemzadeh, 1998) คือ

1.1.1 อาหารแบบแห้ง หรืออาหารที่มีความชื้นต่ำ ประกอบด้วยความชื้นน้อยกว่า 15% โดยน้ำหนักความชื้น มีความคงตัว เพราะค่า water activity อยู่ในช่วง 0.2-0.4 ราและแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ส่วนประกอบหลักจะเป็นพวกธัญพืช และถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังประกอบด้วยผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผลพลอยได้ต่าง ๆ เช่น กระดูกป่น ผลิตภัณฑ์นม เช่น เวย์ เนยแข็ง และเวย์ที่ปราศจากแลคโตส มีปริมาณวัตถุแห้งประมาณร้อยละ 90 และไขมันประมาณร้อยละ 5-12 โดยจะผ่านเคลือบที่ผิวของผลิตภัณฑ์ก่อนผ่านความร้อนเพื่อเพิ่มความน่ากิน แต่มีข้อเสีย คือ เป็นการเพิ่มการออกซิเดชัน กรรมวิธีการผลิตส่วนใหญ่ใช้วิธีเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) และการอบ (Baking)

1.1.2 อาหารแบบเปียก หรืออาหารสัตว์เลี้ยงที่ประกอบด้วยความชื้นสูง ประมาณร้อยละ 85 โดยน้ำหนักความชื้น ต้องการการฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการเน่าเสีย

1.1.3 อาหารกึ่งแห้ง หรืออาหารสัตว์เลี้ยงที่มีความชื้นกลาง ๆ ประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 20-40 ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ โดยปกติแล้วมีลักษณะผิวสัมผัสนุ่ม หักง่าย และความหนาแน่นเทียบได้กับผลิตภัณฑ์เนื้อหรือหนัง แม้ว่าผลิตภัณฑ์นี้จะมีปริมาณความชื้นที่สูง ทำให้ไวต่อการเจริญเติบโตของราและแบคทีเรีย แต่ผลิตภัณฑ์นี้สามารถถูกทำให้คงตัวได้ด้วยส่วนประกอบของกรดต่างๆและตัวละลาย ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ทำให้ค่า water activity ลดลง อยู่ในระดับที่ป้องกันการเจริญเติบโตของราและแบคทีเรียได้

1.1.4 อาหารกินเล่นที่มีเนื้อเป็นส่วนประกอบหลัก หรืออาหารประเภท jerky อาหารประเภทนี้มีความหนึบ (chewy) ค่า yeild ของผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วง ร้อยละ 40-45 ความชื้นอยู่ในช่วง ร้อยละ 20-40 แต่ค่อนข้างน้อย และความหนาแน่นเทียบได้กับอาหารชนิดกึ่งแห้ง ผลิตภัณฑ์นี้ถูกบรรจุสำหรับเก็บในอุณหภูมิห้อง มีความคงตัว เนื่องจาก ค่า water activity ต่ำ ลักษณะสำคัญของอาหารกินเล่นแบบ jerky ก็คือความนุ่ม การอืด และการเกาะติดกันอย่างธรรมชาติ

2. โภชนาการและปริมาณความต้องการของสุนัข

โภชนาการที่ดีสำหรับสัตว์เลี้ยง หมายถึง การที่สัตว์เลี้ยงได้รับอาหารที่มีสารอาหารครบถ้วนทุกชนิดในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการ และในสัดส่วนที่เหมาะสม (อุดรา, 2551) โดยส่วนใหญ่การให้อาหารแก่สัตว์เลี้ยง เจ้าของสัตว์เลี้ยงมักเป็นผู้ตัดสินใจและจัดหาอาหารให้แก่วัยเลี้ยง ซึ่งส่วนมากสัตว์เลี้ยงมักได้รับอาหารเพียงประเภทเดียวในแต่ละมื้ออาหาร ทำให้สัตว์เลี้ยงได้รับอาหารในปริมาณ และสัดส่วนที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นเจ้าของสัตว์เลี้ยงจึงควรคำนึงถึงโภชนาการที่ดีที่สัตว์เลี้ยงควรได้รับ

2.1 พลังงาน

พลังงานไม่ใช่สารอาหารโดยตรง แต่เป็นคุณสมบัติที่ได้จากสารอาหาร 3 แหล่ง ได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ซึ่งถูกใช้เพื่อการปฏิบัติงานของกล้ามเนื้อ และกระบวนการต่างๆ ในร่างกายของสุนัข เช่น การรักษาอุณหภูมิของร่างกายให้ได้ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นความต้องการประการแรกที่สุนัขต้องการจากอาหาร คือ พลังงาน พลังงานเป็นตัวควบคุมปริมาณการกินอาหาร และควบคุมให้ได้ในปริมาณที่ร่างกายต้องการ ความต้องการพลังงานขึ้นกับอายุ สภาพร่างกาย กิจกรรม ลักษณะการปกคลุมร่างกายของขน สภาพแวดล้อม และอุณหภูมิ เมื่อพลังงานในอาหาร สุนัขจะกินอาหารน้อยลง อาหารแต่ละชนิดจะมีปริมาณพลังงานที่ต่างกันขึ้นกับ

ปริมาณน้ำที่เป็นส่วนประกอบ ร่างกายสุนัขได้รับพลังงานโดยการออกซิไดซ์อาหารที่กินเข้าไป ปริมาณพลังงานที่ร่างกายสุนัขนำไปใช้ประโยชน์ได้นั้นเรียกว่า Metabolized Energy (ME) ซึ่งค่าพลังงานโดยทั่วไปที่พบในอาหารสุนัขสำเร็จรูป มีค่าพลังงานประมาณ 3,000-3,500 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม ค่าพลังงานในผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปทำได้โดยการคำนวณจาก

$$\text{ME (กิโลแคลอรี)} = (4 \times \text{กรัมโปรตีน}) + (9 \times \text{กรัมไขมัน}) + (4 \times \text{กรัม NFE}) \text{ (NRC, 2006)}$$

2.2 สารอาหารสำหรับสุนัข

สารอาหาร คือ องค์ประกอบหลักของอาหารซึ่งมีหน้าที่จำเพาะภายในร่างกาย ช่วยในการเจริญเติบโต การดำรงชีวิต การทำกิจกรรมต่างๆซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และเพื่อสุขภาพที่เหมาะสมของสัตว์เลี้ยง สารอาหารประเภทต่างๆ ที่สัตว์เลี้ยงต้องการแบ่งออกเป็น 6 ประเภท คือ (Case *et al.*, 2011)

2.2.1 คาร์โบไฮเดรตและเส้นใย

เป็นแหล่งอาหารสำคัญที่ให้พลังงานแก่สุนัข ในอาหารสุนัขจะไม่มี การกำหนดปริมาณต่ำสุดที่สัตว์ต้องการหรือจำเป็นต้องมี สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มของ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ ได้แก่ แป้ง น้ำตาล และเดกตริน สารอาหารกลุ่มนี้ร่างกายสามารถดูดซึม และนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน กลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ ได้แก่ เส้นใยในอาหาร เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน เพ็นโตซาน และลิกนิน คาร์โบไฮเดรตกลุ่มนี้มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของลำไส้ทำให้สุนัขขับถ่ายง่าย มูลเป็นก้อนไม่เหลว ช่วยควบคุมน้ำหนัก เนื่องจากเส้นใยจะ ทำให้สุนัขเกิดความรู้สึกอิ่มเร็วขึ้น

แหล่งของแป้งที่เหมาะสมสำหรับสุนัข ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต และมันฝรั่ง (NRC, 1974) สุนัขสามารถย่อยแป้งได้ดีกว่าแป้งดิบ ถ้าสุนัขกินแป้งดิบอาจ เกิดอาการท้องเสียและท้องอืดได้ เนื่องจากการหมักของแป้งดิบโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ สุนัขโตเต็มวัยสามารถใช้ประโยชน์จากสารเด็กซ์ตริน มอลโตส กลูโคส และซูโครสได้ทันทีที่รับสารเหล่านี้ การกินซูโครสในปริมาณมากถึงร้อยละ 54 ของปริมาณพลังงานที่ได้รับเข้าไป จะทำให้มีผล ต่อปริมาณซูโครส และฟรุคโตสในปัสสาวะได้ สุนัขสามารถย่อยน้ำตาลซูโครส และแลคโตสได้ เนื่องจากมีเอนไซม์ซูเครส (Sucrase, β -fructofuronidase) และแลคเตส (Lactase, β -galactosidase)

อยู่ในลำไส้เล็ก โดยปกติเอนไซม์ทั้งสองตัวนี้จะมีมากในลูกสุนัข ดังนั้นในสุนัขโตเต็มวัยถ้าได้รับปริมาณซูโครสและแลคโตสจำนวนมากเกินไป จะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ เนื่องจากเกิดการปรับแรงดันออสโมซิส และการหมักคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (Kienholz, 1977)

ตารางที่ 1 ปริมาณแป้งในวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสุนัข

วัตถุดิบ	ปริมาณแป้ง (กรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักแห้ง)
ข้าวบาร์เลย์	500-516
ข้าวโอ๊ต	400
ข้าวฟ่าง	620-741
ข้าวโพด	630-728
ข้าวสาลี	580-621
ข้าวเจ้า	810
รำข้าวโพด	260
รำข้าว (ปริมาณแกลบ <3 เปอร์เซนต์)	270
รำข้าว (ปริมาณแกลบ 3 – 10 เปอร์เซนต์)	230
รำข้าวสาลี	140

ที่มา: NRC (2006)

2.2.2 ไขมัน

ไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในสารอาหารสำหรับสัตว์ เนื่องจากเป็นแหล่งของพลังงานสูงกว่าโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย และช่วยละลายวิตามิน เอ ดี อี และเค เข้าสู่ร่างกาย ช่วยเพิ่มความน่ากิน และคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสที่ดี นอกจากนี้ไขมันและกรดไขมันเป็นส่วนประกอบของขนและผิวหนัง ถ้าขาดจะทำให้สุนัขผิวหนังแห้ง ตกเป็นสะเก็ด ขนแห้งหยาบ ร่วงและทำให้ร่างกายขาดวิตามิน เอ ดี อี และเค ทำให้ลูกสุนัขเจริญเติบโตช้า และอาจถึงตายได้ถ้าขาดติดต่อกันเป็นเวลานาน กรดไขมันยังมีส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์เนื้อเยื่อ และการทำงานของระบบสืบพันธุ์ ถ้าขาดจะทำให้โลหิตจาง และเป็นหมัน แหล่งไขมันที่ดีควรมาจากไขมันสัตว์เพราะสุนัขสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าไขมัน

จากพืช ปริมาณต่ำสุดของไขมันที่ร่างกายสุนัขต้องการ คือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนักแห้งของอาหาร ซึ่งคิดเป็นปริมาณร้อยละ 11 ของพลังงานที่สุนัขได้รับ กรดไขมันที่จำเป็นในสุนัข คือ กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) และกรดอะราชีดิก (Arachidonic acid) แต่ร่างกายสุนัขสามารถสังเคราะห์กรดอะราชีดิกเองได้ ดังนั้นกรดไขมันที่จำเป็นจริง ๆ คือ กรดลิโนเลอิกเท่านั้น และปริมาณกรดลิโนเลอิกต่ำสุดกำหนดโดย Association of American Feed Control Officials, AAFCO (2008) ที่ร่างกายสุนัขโตเต็มวัยควรได้รับ คือ ร้อยละ 1 ของน้ำหนักแห้งของอาหาร (NRC, 2006)

2.2.3 โปรตีน

ปาริฉัตร (2548) กล่าวว่า สารประกอบโปรตีนเกิดจากกรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งเป็นโมโนเมอร์เชื่อมต่อกันเป็นสายพอลิเปปไทด์ด้วยพันธะเปปไทด์ กรดอะมิโนที่เป็นโมโนเมอร์หลักของโปรตีนมีประมาณ 20 ชนิด ทำหน้าที่ทางชีวภาพ ซึ่งได้แก่ การเป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยา (interactions) ในสิ่งมีชีวิต ช่วยขนถ่ายสารชนิดต่าง ๆ เพื่อการดำรงสภาพปกติของร่างกาย (transport protein) เช่น ฮีโมโกลบินทำหน้าที่เชื่อมจับและขนถ่ายก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนั้นโปรตีนยังทำหน้าที่เป็นโครงสร้างเพื่อรักษาสภาพเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ (structural protein) เป็นผลจากการถอดรหัสพันธุกรรม เป็นฮอร์โมนเพื่อควบคุมกิจกรรมทางชีวเคมีของเซลล์ตัวสูงขึ้นสูง และทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย (immunological properties) จากการที่พอลิเปปไทด์ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด ดังนั้นคุณสมบัติและโครงสร้างของโปรตีนจะขึ้นอยู่กับชนิด จำนวน และลำดับของกรดอะมิโนในสายพอลิเปปไทด์ เนื่องจากกรดอะมิโนแต่ละชนิดมีสายโซ่ข้าง (side chain) ที่มีคุณสมบัติต่างกัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิต เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความแรงของไอออน ชนิดของไอออน จะทำให้โปรตีนที่มาจากแหล่งต่างกันมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่างกันไป

สายโซ่ข้างที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง (basic side chain) เกิดจากการที่มีหมู่เอพซิลอนอะมิโน (ϵ -amino group) ของไลซีน (lysine) และหมู่กวานิดิโนอะมิโน (guanidine-amino group) ของอาร์จินีน (arginine) มีประจุเป็นบวกในช่วง pH กว้างซึ่งครอบคลุม pH ของอาหารทั่วไป หมู่เอพซิลอนอะมิโนของไลซีนจึงมีคุณสมบัติเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) และปฏิกิริยาต่างๆได้ง่าย เช่น การเกิดเอซิลเลชัน (acylation) แอลคิลเลชัน (alkylation) และการสูญเสียหมู่เอไมด์ (deamidation) โดยทั่วไปแล้วกระบวนการแปรรูปที่ใช้อยู่ในปัจจุบันอาจทำให้เกิดการสูญเสียกรดอะมิโนจำเป็นในระดับสูงถึงร้อยละ 40 (lysine)

ไลซีน (Lysine) เป็นกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) ที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ จึงต้องได้รับจากอาหาร ไลซีนพบมากในโปรตีนจากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก นม เป็นต้น ส่วนโปรตีนจากพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพดจะพบไลซีนในปริมาณต่ำ แต่ในแกนกลางของเมล็ดข้าวสาลี (wheat germ) จะพบไลซีนในปริมาณสูงหน้าที่ของไลซีน ได้แก่ การสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น กระดูก ผิวหนัง คอลลาเจน (collagen) และ อีลาสติน (elastin) การสังเคราะห์คาร์นิทีน (Carnitine) ซึ่งมีผลในการเปลี่ยนกรดไขมันมาเป็นพลังงาน มีผลในการเสริมสร้างพัฒนาการและการเจริญเติบโต รวมถึงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (NRC, 2006)

NRC (2006) ความต้องการโปรตีนในสุนัขมีด้วยกันสองเหตุผล คือ โปรตีนเป็นสารที่ให้กรดอะมิโนซึ่งร่างกายสุนัขไม่สามารถสร้างเองได้ เรียกว่า กรดอะมิโนจำเป็น และกรดอะมิโน เป็นแหล่งของไนโตรเจนและคาร์บอน ซึ่งมีความจำเป็นต่อร่างกายสัตว์เพื่อใช้ในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ, การเจริญเติบโต, การตั้งครรภ์ และการสร้างน้ำนม โดยคาร์บอน มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการ Gluconeogenesis และการให้พลังงานแก่ร่างกาย ส่วนไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบที่ช่วยในการสร้างสารที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย เช่น purines, pyrimidines, heme, ฮอร์โมนหลายชนิด และสารสื่อประสาท การขาดโปรตีนจะเกิดผลแตกต่างกันไปตามแต่ละสุนัขแต่ละตัว โดยทั่วไปจะพบว่าการเจริญเติบโตลดลง น้ำหนักลดลง ลดความอยากอาหารและการสร้างอีโมโกลบิน พลาสมาโปรตีน เม็ดเลือดแดง และแอนติบอดี ขนหยาบกร้าน และอาจเกิดอาการบวม น้ำได้ด้วย

AAFCO (2008) กล่าวว่า อาหารสำเร็จรูปสำหรับสุนัขโตเต็มวัยควรมีปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 18 ของน้ำหนักแห้ง สำหรับลูกสุนัขและแม่พันธุ์ที่กำลังตั้งท้องหรือเลี้ยงลูก (ให้นมลูกสุนัข) ควรมีปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 22 ของน้ำหนักอาหาร (แบบแห้ง) โดยปริมาณโปรตีนที่ร่างกายสุนัขได้รับขึ้นกับการย่อยได้ของโปรตีน หรือองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนนั้นๆ

ในอาหารสัตว์กรดอะมิโนที่มักจะขาด คือ เมทไธโอนีน (methionine) และไลซีน (lysine) ปริมาณโปรตีนที่ได้รับควรมีปริมาณสูงกว่าความต้องการโปรตีนต่ำสุดของสุนัข เพื่อการเสริมสร้างความต้านทานโรค แต่ไม่ควรได้รับในปริมาณที่มากเกินไปเพราะจะทำให้ไตทำงานมากขึ้น เพื่อการขับกลุ่มอะมิโนที่เกิดจากการใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานออกไป ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองและก่อให้เกิดปัญหาต่อระบบเมตาโบลิซึมในร่างกาย

ตารางที่ 2 กรดอะมิโนจำเป็น และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นสำหรับสุนัข

กรดอะมิโนจำเป็น	กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น
อาร์จีนีน	อะลานีน
ฮิสทีดีน	แอสพาราจีน
ไลซีน	กลูตาเมท
เมทไทโอนีน	กลูตามีน
ฟีนิลอะลานีน	ไกลซีน
ทรีโอนีน	ไฮดรอกซีไลซีน
ทริปโตเฟน	ไฮดรอกซีโพรลีน
วาลีน	โพรลีน
	ซีลีน
	ไทโรซีน

ที่มา: Case *et al.* (2011)

2.2.4 วิตามินและเกลือแร่

Kienholz (1977) วิตามิน เป็นสารที่ ช่วยให้กระบวนการทำงานต่าง ๆ ของร่างกายนั้นเป็นไปได้อย่างเรียบร้อย วิตามิน A ช่วยบำรุงสายตาและการมองเห็น วิตามิน B ช่วยเรื่องระบบประสาท วิตามิน D ช่วยเรื่องกระดูก วิตามิน E ช่วยปกป้องผิวหนัง และวิตามิน K ช่วยการแข็งตัวของเลือดได้ แต่มีเพียงวิตามิน C เพียงอย่างเดียวที่ไม่จำเป็นต้องมีในอาหารสุนัข เพราะร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองอยู่แล้ว

วิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค ร่างกายจะเก็บสะสมวิตามินชนิดนี้ได้ดีกว่าวิตามินที่ละลายในน้ำ ถ้าได้รับมากเกินไปเกินความต้องการของร่างกายจะทำให้เกิดโทษได้ โดยเฉพาะวิตามินเอและวิตามินดี

วิตามินที่ละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 วิตามินบี 5 วิตามินบี 6 วิตามินบี 7 วิตามินบี 9 วิตามินบี 12 โคเลีน และวิตามินซี วิตามินกลุ่มนี้ถ้าได้รับในปริมาณมากเกินไปเกินความต้องการของร่างกาย ร่างกายสามารถขับออกทางปัสสาวะได้

แร่ธาตุ เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการพัฒนาของกระดูกและเนื้อเยื่อ ตลอดจนการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย การได้รับมากหรือน้อยเกินไปจะทำให้เกิดโทษ ควรเลือกรับประทานอาหารที่มีแร่ธาตุต่างๆ ในปริมาณ และสัดส่วนที่เหมาะสมต่อความต้องการของร่างกาย

ตารางที่ 3 วิตามิน-แหล่งของวิตามิน หน้าที่ ผลของการขาด และการได้รับวิตามินมากเกินไปของสุนัข

วิตามิน	แหล่งของวิตามิน	หน้าที่	ผลของการขาด	ผลการได้รับมากเกินไป
วิตามินเอ	น้ำมันตับปลา นม เนย เนยแข็ง	รักษาสุขภาพเยื่อ ผิว ช่วยในการ สร้างกระดูก	เนื้อเยื่อแห้งตา อักเสบ ผิวหนังหนา เยื่อผิวแข็ง ความ ต้านทานโรคต่ำ ประสาทเสื่อม	เบื่ออาหาร ปวด กระดูก มีอาการ เลือดออกของ กระดูกอ่อน
วิตามินดี	น้ำมันตับปลา ไข่ นม เนย เห็ด เนื้อ	ช่วยในการ เจริญเติบโต ดูด ซึมแคลเซียม และฟอสฟอรัส ช่วยในการใช้ เกลือแร่ของ กระดูก	โรคกระดูกอ่อน ลักษณะกระดูก ผิดปกติ	เบื่ออาหาร ท้องเสีย เกิดการ สะสมแคลเซียม ในเนื้อเยื่อ
วิตามินอี	ผักสีเขียว เนย เห็ด ธัญพืช	เป็นสารกันหืน เกี่ยวข้องกับ หน้าที่ของเมม เบรน	โรคโลหิตจาง แท้ง กล้ามเนื้อลีบ	ไม่มีอันตรายต่อ สุนัข
วิตามินเค	ผักสีเขียว เนื้อ ธัญพืช	ช่วยในการสร้าง โปรทอมบิน ใน การแข็งตัวของ เลือด	มักไม่พบการขาดมี อาการเลือดออก	ไม่ปรากฏในสุนัข อาจทำให้เกิด อาการโรคฮีซ่าน

ตารางที่ 3 (ต่อ)

วิตามิน	แหล่งของ วิตามิน	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
วิตามินบี 1 (ไทอามีน)	เนื้อสุกร เครื่องใน ถั่ว ธัญพืช	โคเอนไซม์ในเม ทาบอลิซึมของ คาร์โบไฮเดรต	เบื่ออาหาร อาเจียน หัวใจล้มเหลว ประสาทเสื่อม	ไม่ปรากฏสาเหตุ จากอาหาร
วิตามินบี 2 (ไรโบฟลา วิน)	ในอาหาร ส่วนใหญ่	ส่วนประกอบ ของโคเอนไซม์ ในเมทาบอลิซึม ของพลังงาน	น้ำหนักลด เบื่อ อาหาร โรคโลหิต จาง อาการผิดปกติ ของตา	ไม่ปรากฏ
วิตามินบี 3 (ไนอะซิน)	ตับ เนื้อ ธัญพืช ถั่ว	ส่วนประกอบ ของโคเอนไซม์ NADP และ NAD	โรคหนังกระ (Pellagra) สูญเสีย น้ำหนัก แผลใน ปาก ท้องเสีย	ไม่มีผลในสุนัข
วิตามินบี 5 (กรดเพน โททินิก)	อาหารส่วน ใหญ่	โคเอนไซม์ใน การใช้ประโยชน์ ของพลังงาน	เจริญเติบโตช้า ลด ความอยาก อาหาร ขมขื่น ประสาท เสื่อม ท้องเสีย	ไม่ปรากฏในสุนัข
วิตามินบี 6 (ไพริดอก ซิน)	เนื้อ ผัก ธัญพืช	โคเอนไซม์ของเม ทาบอลิซึมของ กรดอะมิโน	เบื่ออาหาร เจริญเติบโตช้า อาการชัก ขมขื่น	ไม่ปรากฏในสุนัข
วิตามินบี 7 (ไบโอติน)	เนื้อ ถั่ว ผัก	อาจเกี่ยวข้องกั บเมทาบอลิซึม กรดอะมิโน	ไม่มีรายงาน แต่ อาจเกี่ยวข้องกั บการที่ผิวหนังเป็น เกล็ด	ไม่มีรายงาน
วิตามินบี 12 (ไซยาโนโค บาลามีน)	เนื้อ ไข่ นม โปรตีนจาก สัตว์	เกี่ยวข้องกับการ ส่งถ่ายคาร์บอนด์	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน

ตารางที่ 3 (ต่อ)

วิตามิน	แหล่งของ วิตามิน	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
กรดโฟลิก	ถั่ว ผักสีเขียว ข้าวสาลี และ สังเคราะห์ได้ ในลำไส้	เกี่ยวข้องกับเมทา บอลิซึมของกรด นิวคลีอิกและ กรดอะมิโน	ลดความอยาก อาหาร น้ำหนักตัว ไม่ดี โรคโลหิตจาง Watery eyes	ไม่ปรากฏ
โคลีน	ไข่แดง ตับ ธัญพืช ถั่ว	ให้กลุ่มเมทิลซึ่ง เกี่ยวข้องกับเมทา บอลิซึมของ ไขมัน	การแข็งตัวของ เลือดช้า สะสม ไขมันในตับ	ไม่มีรายงาน

ที่มา: Anonymous (1987)

ตารางที่ 4 เกลือแร่-แหล่งของเกลือแร่ หน้าที่ ผลของการขาด และการได้รับเกลือแร่มากเกินไปของ
สุนัข

เกลือแร่	แหล่งของ เกลือแร่	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
ฟอสฟอรัส	กระดูก นม เนย แข็ง เนื้อ	การสร้างกระดูก และฟันจำเป็นต่อ เมทาบอลิซึม การ ใช้ประโยชน์ของ พลังงานสมดุล กรด-ด่าง	พบน้อยมาก ลด ความอยาก	เกิดการ เปลี่ยนแปลงของ พาราไธรอยด์ และการเกิด สะสมของ แคลเซียมใน เนื้อเยื่อ
โซเดียม และ คลอไรด์	เกลือ ธัญพืช	สมดุลกรด-ด่าง และน้ำย่อยใน กระเพาะอาหาร	อาการเมื่อยล้า ลดการกินน้ำ ขน ร่วง เจริญเติบโต ไม่เต็มที่	อาการกระหายน้ำ แต่ไม่เป็นพิษถ้า ได้รับน้ำ

ตารางที่ 4 (ต่อ)

เกลือแร่	แหล่งของ เกลือแร่	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
แคลเซียม	กระดูก นม เนย แข็ง ขนมอบัง	การสร้างกระดูก และฟัน การ ทำงานของระบบ ประสาท การ แข็งตัวของเลือด การยืดหดตัวของ กล้ามเนื้อ ต้องการวิตามินดี และฟอสฟอรัส อย่างเพียงพอ	การเจริญเติบโต ไม่เต็มที่ ในทาง โภชนาการเป็น ปัจจัยรองที่ทำให้ เกิด Hyperpara thyroidism อาการชัก	ขาเจ็บ (Lameness) ปัญหาเกี่ยวกับข้อ ต่อต่างๆ
กำมะถัน	โปรตีนที่มี กรดอะมิโน และซัลเฟอร์เป็น องค์ประกอบ เช่น เนื้อ ไข่	เป็นส่วนหนึ่ง ของกรดอะมิโน	การเจริญเติบโต ไม่เต็มที่ รวมทั้ง การงอกของขน ด้วย อาการขาด เช่นเกี่ยวกับการ ขาดกรดอะมิโน	ยังไม่มีรายงาน
โพแทสเซียม	เนื้อ นม	สมดุลของน้ำและ กรด – ด่าง เกี่ยวข้องกับ หน้าที่ของระบบ ประสาท	การเจริญเติบโต ไม่เต็มที่ อาการ ผิดปกติของ กล้ามเนื้อในไต และหัวใจ อาการ กระวนกระวาย	กล้ามเนื้ออ่อน เปลี้ย
แมกนีเซียม	ธัญพืช ผักสี เขียว กระดูก ปลา	ส่วนประกอบ กระดูกและฟัน เกี่ยวกับเอนไซม์ ในการสังเคราะห์ โปรตีน	เบื่ออาหาร กล้ามเนื้ออ่อนแอ อาเจียน อาการ ชัก	ท้องเสีย

ตารางที่ 4 (ต่อ)

เกลือแร่	แหล่งของ เกลือแร่	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
เหล็ก	ไข่ เนื้อ ขนมอบีง ธัญพืช ผักสี เขียว	ส่วนประกอบ ของฮีโมโกลบิน จำเป็นในการ หายใจ และเมตา บอลิซึมของ พลังงาน	โรคโลหิตจาง ความดัน ต้านทานโรค ต่ำลง	เบื่ออาหาร เสีย น้ำหนักตัว ทางเดินอาหาร เสื่อม
ทองแดง	เนื้อ กระดุก	ช่วยการรวมตัว ของเหล็กใน ฮีโมโกลบิน	โรคโลหิตจาง	ยังไม่มีรายงาน
สังกะสี	อาหารหลายชนิด	ส่วนประกอบ ของเอนไซม์ใน การย่อยอาหาร การซ่อมแซม เนื้อเยื่อ	ผิวหนังผิดปกติ เติบโตช้า ชุ่ม ผอม	ท้องเสีย
แมงกานีส	อาหารหลายชนิด	เกี่ยวกับเอนไซม์ ต่างๆ เมตาบอลิ ซึมของไขมัน	การเจริญเติบโต ไม่เต็มที่ ความ ผิดปกติของ ระบบสืบพันธุ์	ยังไม่มีรายงาน
ไอโอดีน	ปลา นม เกลือ ผัก	ส่วนประกอบ ของฮอร์โมนจาก ต่อมไทรอยด์	โรคคอพอก ใน ลูกสุนัขเกิดใหม่ จะไม่มีขน	อาจเกิดอาการ เป็นพิษ การ ลดลงของไทร รอยด์
โคบอลต์	วิตามินบี 12 เครื่องในสัตว์ เนื้อ นม	ส่วนประกอบ ของวิตามินบี 12	ไม่ปรากฏเมื่อมี ปริมาณบี 12 เพียงพอ	พบน้อยมาก

ตารางที่ 4 (ต่อ)

เกลือแร่	แหล่งของ เกลือแร่	หน้าที่	ผลการขาด	ผลการได้รับมาก เกินไป
ซีลีเนียม	ธัญพืช ปลา เนื้อ	เกี่ยวข้องกับ วิตามินอี	กล้ามเนื้อซีดและ ลีบ	ท้องเสีย

ที่มา: Anonymous (1987)

2.2.5 น้ำ

น้ำเป็นสารอาหารที่สำคัญ และจำเป็นต่อร่างกายสัตว์ มีหน้าที่หลายอย่างในร่างกาย เช่น ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายในปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลล์ เป็นองค์ประกอบให้กับเนื้อเยื่อและของเหลวภายในร่างกาย ได้แก่ เลือด การลำเลียงออกซิเจนและสารอาหารไปยังทุกส่วนของร่างกาย มีความสำคัญต่อการย่อยอาหาร การควบคุมอุณหภูมิ และระบบการขับถ่ายของสัตว์ (NRC, 2006)

2.3 ความต้องการสารอาหารต่างๆของสุนัข

ความต้องการน้อยที่สุดในแต่ละวันของสุนัข (Minimum Daily Requirement, MDR) คือ ปริมาณของสารอาหารน้อยที่สุดที่ ร่างกายสุนัขต้องการให้ร่างกายมีเมตาบอลิซึมที่เหมาะสม และเพียงพอต่อการเจริญเติบโต ปริมาณที่แนะนำให้สุนัขกินในแต่ละวัน (Recommended Daily Allowance, RDA) เป็นปริมาณที่แนะนำให้กินเพื่อให้สุนัขที่มีสุขภาพแข็งแรง ได้รับสารอาหารอย่างพอเพียง และครอบคลุมปริมาณอาหารที่สุนัขจำเป็นต้องได้รับ ซึ่งจะมีค่ามากกว่า MDR และปริมาณสารอาหารที่สุนัขต้องการจะน้อยกว่าที่กำหนดใน RDA ดังนั้นอาหารอาจจะมีปริมาณสารอาหารน้อยกว่าที่ RDA กำหนดไว้ แต่ยังคงให้สารอาหารที่เพียงพอกับสุนัข AAFCO (2008) ได้กำหนดปริมาณสารอาหารต่างๆ ที่สุนัขควรจะได้รับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณสารอาหารสำหรับสุนัข

สารอาหาร	หน่วย (เทียบน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณต่ำสุด		ปริมาณ สูงสุด
		ลูกสุนัขและ สุนัขตั้งท้อง	สุนัขโตและ สุนัขแก่	
โปรตีน	ร้อยละ	22.00	18.00	-
อะจินีน	ร้อยละ	0.62	0.51	-
ฮีสทีดีน	ร้อยละ	0.22	0.18	-
ไอโซลิวซีน	ร้อยละ	0.45	0.37	-
ลิวซีน	ร้อยละ	0.72	0.59	-
ไลซีน	ร้อยละ	0.77	0.63	-
เมทไทโอนีน-ซิสทีน	ร้อยละ	0.53	0.43	-
ฟีนิลอะลานีน-ไทโรซีน	ร้อยละ	0.89	0.73	-
ทรีโอนีน	ร้อยละ	0.58	0.48	-
ทริปโตเฟน	ร้อยละ	0.20	0.16	-
วาเลีน	ร้อยละ	0.48	0.39	-
ไขมัน	ร้อยละ	8.00	5.0	-
กรดลิโนเลอิก	ร้อยละ	1.00	1.00	-
แร่ธาตุ				
แคลเซียม	ร้อยละ	1.00	0.60	2.50
ฟอสฟอรัส	ร้อยละ	0.80	0.50	1.60
แคลเซียม : ฟอสฟอรัส	ร้อยละ	1:1	1 : 1	2:1
โพแทสเซียม	ร้อยละ	0.60	0.60	-
โซเดียม	ร้อยละ	0.30	0.30	-
คลอไรด์	ร้อยละ	0.45	0.45	-
แมกนีเซียม	ร้อยละ	0.04	0.04	-
เหล็ก	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	80.00	80.00	3000.00
ทองแดง	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	7.30	7.30	250.00
แมงกานีส	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	5.00	5.00	-
สังกะสี	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	120.00	120.00	1000.00
ไอโอดีน	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	1.50	1.50	50.00

ตารางที่ 5 (ต่อ)

สารอาหาร	หน่วย (เทียบน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณต่ำสุด		ปริมาณ สูงสุด
		ลูกสุนัขและ สุนัขตั้งท้อง	สุนัขโตและ สุนัขแก่	
แร่ธาตุ				
ซีลีเนียม	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	0.11	0.11	2.00
วิตามิน				
วิตามินเอ	IU/กิโลกรัม	5000.00	5000.00	250,000.00
วิตามินดี	IU/กิโลกรัม	500.00	500.00	5000.00
วิตามินอี	IU/กิโลกรัม	50.00	50.00	1000.00
วิตามินบี 1 (ไทอามีน)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	1.00	1.00	-
วิตามินบี 2 (ไรโบฟลาวิน)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	2.20	2.20	-
วิตามินบี 3 (ไนอะซิน)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	11.40	11.40	-
วิตามินบี 5 (กรดเพนโททีนิก)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	10.00	10.00	-
วิตามินบี 6 (ไพริดอกซิน)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	1.00	1.00	-
วิตามินบี 12 (ไซยาโนโคบาลามิน)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	0.022	0.022	-
กรดโฟลิก	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	0.18	0.18	-
โคลีน	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	1200.00	1200.00	-

ที่มา: AAFCO (2008)

หมายเหตุ ช่วงอายุแรกเกิด-1 ปี คือ ลูกสุนัข อายุ 1-7 ปี คือ สุนัขโต อายุ 7 ปีขึ้นไป คือสุนัขแก่

อาหารสุนัขสำเร็จรูปไม่จำเป็นต้องเป็นอาหารแบบสมบูรณ์ (Complete Food) เนื่องจากอาหารสมบูรณ์แบบ หมายถึง อาหารที่มีสารอาหารครบ และเพียงพอตลอดทุกระยะชีวิตของสุนัข

โดยที่สุนัขไม่ต้องได้รับสารอาหารอื่น ๆ เพิ่มเติมนอกจากน้ำ ในสหรัฐอเมริกา การตรวจสอบและการควบคุมคุณภาพอาหารสุนัขจะกระทำเช่นเดียวกับอาหารสำหรับเด็ก และกฎหมายหรือข้อกำหนดมักจะครอบคลุมทั้งอาหารคนและอาหารสุนัข ซึ่งมาจากหน่วยงานเดียวกันรวมทั้งเรื่องของฉลากด้วย (ยูดี, 2533) หน่วยงานที่กำหนดปริมาณความต้องการต่ำสุดของสารอาหารสำหรับสุนัขคือ National Research Council (NRC) ส่วนการควบคุมการผลิตและฉลากของอาหารสุนัข หน่วยงานที่รับผิดชอบ คือ องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration) ในระดับของมลรัฐจะมีกฎหมายหรือข้อกำหนดสำหรับอาหารสุนัขของตนเอง โดยจะใช้กฎหมายหรือข้อกำหนดของรัฐบาลกลางเป็นแนวทาง กฎหมายหรือข้อกำหนดของมลรัฐจะกำหนดตาม The Uniform Feed Bill ซึ่งกำหนดและตรวจสอบโดย The Association of American Feed Control Officials, Inc. (AAFCO) คณะกรรมการของ AAFCO จะตรวจสอบฉลากตามข้อกำหนด ดังนี้คือ ชื่อผลิตภัณฑ์ที่ชัดเจนและเหมาะสม และยังกำหนดให้ผู้ผลิตแสดงค่าองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate Analysis) ของอาหารนั้น ๆ ซึ่งเรียกว่า Guaranteed Analysis ประกอบด้วยค่าต่อไปนี้ คือ ปริมาณโปรตีน (Crude Protein, Minimum Amount) ปริมาณไขมัน (Crude Fiber, Maximum Amount) และปริมาณความชื้น (Moisture, Maximum Amount) และอาหารใดที่จะเป็นอาหารสมบูรณ์จะต้องผ่านการทดสอบของ AAFCO หรือผ่านการทดสอบว่าได้มาตรฐานของ NRC ก่อน (Norback, 1981)

ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปนั้น ตามมาตรฐานอาหารสุนัขของประเทศแคนาดา (National Standard of Canada, 1983) ข้อความที่ฉลากจะต้องมีการระบุทางโภชนาการของสุนัขว่าผลิตภัณฑ์นั้นเหมาะสมกับสุนัขในกรณีต่างๆ ได้แก่ เพียงพอสำหรับระยะตั้งครรภ์และให้นม เพียงพอสำหรับระยะการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยง เพื่อสุขภาพที่ดีของสัตว์เลี้ยง และเป็นอาหารสมบูรณ์และสมดุลสำหรับสัตว์เลี้ยง

3. การแบ่งประเภทสุนัขตามขนาดน้ำหนักร่างกาย

มาตรฐานการแบ่งพันธุ์สุนัขทั่วไป จะยึดตามหลักเกณฑ์ของสมาคม The American Kennel Club (AKC) โดยการแบ่งสายพันธุ์สุนัขจะ อาศัยลักษณะประจำพันธุ์ของสุนัข เป็นเกณฑ์ในการจำแนกสายพันธุ์ ได้แก่ รูปร่าง ขนาด สีขน และลักษณะการเคลื่อนไหว สำหรับการจำแนกขนาดสุนัข จะใช้เกณฑ์ตามขนาดร่างกายของสุนัข โดยใช้น้ำหนักเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์ในช่วงอายุโตเต็มวัยโดยประมาณ สามารถแบ่งกลุ่มสุนัขได้ 3 กลุ่ม คือ น้ำหนักตัวน้อยกว่า 10 กิโลกรัม เป็นกลุ่ม

ของพันธุ์สุนัขขนาดเล็ก 10-25 กิโลกรัม เป็นกลุ่มของ พันธุ์สุนัขขนาดกลาง และ มากกว่า 25 กิโลกรัม เป็นกลุ่มของพันธุ์สุนัขขนาดใหญ่ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6 (Cusick, 1997)

ตารางที่ 6 การแบ่งประเภทสุนัขตามขนาดน้ำหนักของร่างกาย

สุนัขพันธุ์ขนาดเล็ก	สุนัขพันธุ์ขนาดกลาง	สุนัขพันธุ์ขนาดใหญ่
Beagle	American Cocker	Afghan Hound
Brussels Griffon	Bangkaew	Alaskan Malamute
Chihuahau	Basenji	Clumber Spaniel
Dachshund	Basset Hound	German Shepherd
Jack Russel Terrier	Bull Terrier	Golden Retriever
Japanese Chin	Bull Dog	Labrador Retriever
Maltese	Chow Chow	Rottweiler
Miniature Pinscher	Dalmatian	Saint Bernnard
Pekingese	French Bull Dog	
Pomeranian	Siberian Husky	
Poodle	Stafford Terrier	
Pug	Thai Ridgeback	
Schnauzer		
Silky Terrier		
West Highland		
Yorkshire Terrier		

ที่มา: Cusick (1997)

4. วัตถุดิบอาหารสัตว์

วัตถุดิบอาหารสัตว์ หมายถึง สารใดๆ ก็ตามที่ให้คุณค่าทางโภชนาหรือสารอาหารที่ทำให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกายสัตว์ ซึ่งได้จากพืช สัตว์หรือจากการสังเคราะห์ ตามปกติวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมีสารอาหารเป็นองค์ประกอบ หรือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นด้วยกระบวนการใดๆ ซึ่งสามารถจำแนกส่วนประกอบสารอาหารได้ด้วยการวิเคราะห์ทางเคมี วัตถุดิบ

เหล่านี้มีมากมายหลายชนิดนำมาใช้ประโยชน์ได้แตกต่างกัน การนำเอาวัตถุดิบอาหารเหล่านี้ไปเลี้ยงสัตว์อย่างเดียวหรือผสมรวมให้สัตว์กิน การมีความเข้าใจ คุณสมบัติและส่วนประกอบของสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม อาจแบ่งวัตถุดิบอาหารออกเป็น วัตถุดิบแหล่งอาหารพลังงาน วัตถุดิบแหล่งอาหารเสริมวิตามิน

นอกจากวัตถุดิบอาหารที่มาจากธรรมชาติแล้วยังมีวัตถุดิบเติมในอาหาร ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ได้รับอนุญาตให้ผสมในอาหารสัตว์นั้น แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ วัตถุที่เติมเป็นพวกอาหาร และพวกที่ไม่ใช่สารอาหารแต่เสริมเข้าไปเพื่อให้อาหาร มีคุณภาพของสารอาหารดี มีคุณภาพดีทั้งทางกายภาพและเคมี ดังนั้นวัตถุ ดิบเติมในอาหารจึงมีหลายชนิดขึ้นกับจุดประสงค์ของการใช้ เช่น วิตามิน แร่ธาตุ กรดอะมิโน ยาปฏิชีวนะ ฮอร์โมน และสารคล้ายฮอร์โมน สารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาใช้แทนฮอร์โมนและยาปฏิชีวนะ สารกันหืน สารกันบูด สารกันเสีย สารป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ สารปรุงแต่งรสและกลิ่น สารปรุงแต่งสี สารช่วยย่อยอาหารและเอนไซม์ สารประสานเม็ดหรือปรุงแต่งเม็ดอาหาร สารกระตุ้นหรือเร่งการเจริญเติบโตและยาป้องกันโรค ควรศึกษาส่วนประกอบ สารเคมีที่ออกฤทธิ์และระดับในการใช้อย่างระมัดระวัง เนื่องจากมักเป็นสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์มากทำให้การใช้อาหารของสัตว์มีประสิทธิภาพสูงวัตถุดิบเหล่านี้มีมากมายหลายชนิดและจำเป็นต้องศึกษารายละเอียดให้ดีก่อนนำไปใช้ คุณภาพของวัตถุดิบสำหรับใช้ในการผสมอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญมากต่อคุณภาพอาหาร เนื่องด้วยสภาพภูมิอากาศที่ร้อนชื้นของประเทศ การเสื่อมของอาหารเกิดขึ้นได้เสมอโดยเริ่มจากการปลูก การเก็บเกี่ยว ขั้นตอนในการผลิต การแปรรูป การประกอบ การบรรจุ การขนส่งและการเก็บรักษาก่อนใช้ ดังนั้นจึงควรมีการตรวจ สอบคุณภาพของวัตถุดิบก่อนการผลิตและคุณภาพของอาหารหลังการผลิต (ณัฐสิทธิ์, 2555)

5. สารเสริมในอาหารสัตว์ (Animal feed additive)

อาหารสัตว์เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงสัตว์ เพื่อให้สัตว์เจริญเติบโตได้ดี มีประสิทธิภาพ และให้ผลตรงตามความต้องการของผู้บริโภค ทำให้การใช้สารเสริมอาหารในอาหารสัตว์เป็นสิ่งจำเป็นและได้รับความนิยม สารเสริมอาหารมีหลายชนิด และมีวัตถุประสงค์ในการใช้ที่แตกต่างกัน จึงควรทราบประเภท วัตถุประสงค์การใช้ การนำไปใช้ ตลอดจนคำนึงถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อ ทั้งคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม AAFCO (2008) ให้คำนิยามคำว่า สารเสริมอาหารสัตว์ หมายถึง ยา หรือ สารใดๆอาจเป็นชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกันก็ได้ ที่เติมผสมเข้าไปในอาหารสัตว์ที่ผสมจากวัตถุดิบหลัก หรือผสมจากส่วนอื่นๆเพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์อย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะ

สารเสริมในอาหารสัตว์ หมายถึง สารหรือวัตถุที่ใช้เติมลงไปในการอาหารเพื่อจุดประสงค์ต่าง ๆ กัน ไม่ใช่เป็นการให้สารอาหารโดยตรงกับสัตว์ แต่เป็นกระตุ้นการเจริญเติบโต การให้ผลผลิต หรือช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหาร เช่น เพื่อให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้น ป้องกันรักษา โรค เพื่อเพิ่มผลผลิต หรือปรับปรุงคุณภาพอาหารสัตว์ (ณัฐสิทธิ์, 2555)

5.1 หน้าที่ของสารเสริมอาหาร โดยทั่วไป สารเสริมอาหารจะมีหน้าที่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด และวัตถุประสงค์ของการใช้ อาจกล่าวโดยรวมได้ว่า สารเสริมอาหารจะมีหน้าที่ต่าง ๆ เช่น ช่วยลดความเครียด ยับยั้ง การเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพื่อช่วยถนอมคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหาร ช่วยเพิ่มความต้านทานโรค รวมถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคบางชนิด ป้องกันการเกิดอาการท้องเสียในสัตว์ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้หรือดูดซึมสารอาหาร ฯลฯ (ณัฐสิทธิ์, 2555)

5.2 ตัวอย่างกลุ่มของสารเสริมอาหารสัตว์ ได้แก่ สารปฏิชีวนะ (Antibiotic agents) สารเพิ่มสภาพกรด (Acidifier agents) สารต้านปรสิต (Antiparasitic agents) สารช่วยปรับสภาพการสันดาป (Metabolic modifiers) สารใยอาหารพรีไบโอติก หรือ อาหารเสริมชีวนะ (Prebiotics) สารเสริมชีวนะ (Probiotics) และสารพฤษาธรรมชาติ (Natural botanicals)

ในงานวิจัยนี้เน้นการใช้สารเสริมอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารเสริมชีวนะ (prebiotic) และสารเสริมชีวนะ (probiotic)

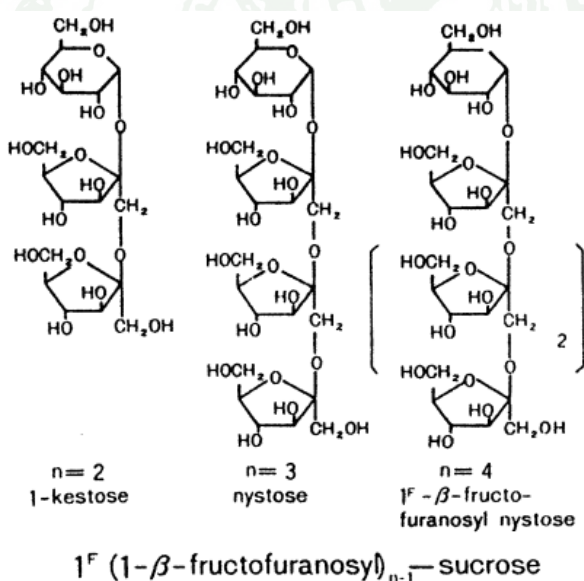
5.2.1 สารใยอาหารพรีไบโอติก (Prebiotics)

พรีไบโอติก (Prebiotics) เป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต มีองค์ประกอบที่ไม่ถูกย่อย หรือดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน มักถูกย่อยได้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร สามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษลง ทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น (Gibson และ Roberfrid, 1995) พรีไบโอติกบางชนิดมีตำแหน่งจับจำเพาะสำหรับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) เช่น *Salmonella* และ *E.coli* ซึ่งต่อมาจะถูกกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับมูล ในขณะที่พรีไบโอติกชนิดอื่น ๆ ก็สามารถ กระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* spp. และ *Lactobacillus* spp. โดยการเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรีย ทำให้ลำไส้เกิดความสมดุลและยังช่วยเพิ่มการนำสารอาหาร

ไปใช้ด้วย ฟรีโบโอติกพบได้ทั่วไปในพืช ผัก และผลไม้หลายชนิด โดยมีองค์ประกอบ ที่จัดเป็นฟรีโบโอติก ได้แก่ อินนูลิน (Inulin) และโอลิโกแซคคาไรด์ เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide; FOS) ซิโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylooligosaccharide; XOS) และการแตกตัวของโอลิโกแซคคาไรด์ (Galactooligosaccharide; GOS) (ณัฐสิทธิ์, 2555)

5.2.2 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide; FOS)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นการโพลีเมอร์โมเลกุลเชิงซ้อนของ เบต้า -ดีฟรุคแทน (β-D fructans) สายโซ่สั้นและปานกลาง ประกอบด้วย ฟรุคโตซิล (fructosyl) ต่อกันด้วยพันธะเบต้า 2-1 ไกลโคซิดิก (β-2-1 glycosidic linkage) (Campbell *et al.*, 1997) สามารถสังเคราะห์ได้จากน้ำตาลซูโครส (sucrose) โดยใช้เอนไซม์ทรานสฟรุคโตซิลเลส (transfructosylase) จะมีโครงสร้างของกลูโคสเชื่อมกับฟรุคโตส 2-4 หน่วย มีสูตรโครงสร้าง $\alpha\text{-D-Glu-(1-2)-}[\beta\text{-D-Fru-(1-2)}]_n$ (n=2-4) ดังแสดงในภาพที่ 1 (Gibson and Roberfroid, 1995)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ที่มา : Gibson and Roberfroid (1995)

Younes *et al.* (1994) ได้ทดลองใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ในอาหารหนูทดลองพบว่า ยูเรียในพลาสมาต่ำลง 20 เปอร์เซ็นต์ และช่วยเพิ่มการเคลื่อนย้ายยูเรีย ไปที่ลำไส้

ใหญ่และซึ่กั่ม แล้วจึงถูกเอนไซม์ยูรีเอสที่อยู่ใน cecum lumen ย่อยสลายพันธะกลายเป็นแอมโมเนีย ซึ่งแอมโมเนียที่ได้จะเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์หรือแบคทีเรีย ตลอดจนการดูดซึมของแอมโมเนียบนซึ่กั่ม โดยกลุ่มที่ได้รับฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) พบว่ามีปริมาณไนโตรเจนมากกว่ากลุ่มอื่นๆ แสดงว่าจุลินทรีย์นำไนโตรเจนไปใช้ได้มากกว่ากลุ่มอื่น ส่งผลให้ลดปริมาณไนโตรเจนที่ถูกขับออกมาในรูปของแอมโมเนีย ลดปัญหาการแพร่กระจายของก๊าซแอมโมเนีย

Farnworth *et al.* (1992) กล่าวว่า สุกอร์ที่ได้รับฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) พบว่าที่ลำไส้ของสุกรจะมีจุลินทรีย์กลุ่ม *Bifidobacteria* เพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดตัวอื่น ๆ เช่น แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (pathogenic microorganism) เช่น เชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* จากการที่สามารถสร้างกรดแลคติก และกรดอะซิติกนี้ และเมื่อสังเกตที่สีของมูลสุกรพบว่าจะมีสีจางหรืออ่อนกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ

5.2.3 แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannanoligosaccharide; MOS)

สารแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ จัดเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ซึ่งมีน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบ (mannos containing carbohydrate) มีความคงตัวสูงและไม่ถูกกระทบ หรือย่อยได้โดยกรดหรือด่าง แต่จะถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ที่หลั่งจากแบคทีเรียแกรมบวก และสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและฟอสเฟตได้ แมนแนน โอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ยีสต์ชั้นนอก โดยพบในส่วนของแมนโนโปรตีน (mannoprotein) ซึ่งทำหน้าที่ในการยึดเกาะองค์ประกอบต่างๆ ของผนังเซลล์ให้คงอยู่ด้วยกัน ผนังเซลล์ยีสต์ประกอบด้วย เบต้า 1, 3 กลูแคน (β -1,3 glucan) ร้อยละ 50 เบต้า 1, 6 กลูแคน (β -1,6 glucan) ร้อยละ 10 แมนแนน (mannan) ร้อยละ 40 และไคติน (chitin) ร้อยละ 1-3 ซึ่งพบว่ากว่า ร้อยละ 50-95 เป็นคาร์โบไฮเดรต (Lipke and Ovalle, 1998) ซึ่งเป็นพวกน้ำตาลแมนโนสเกาะเป็นกิ่งก้านอยู่ด้วยพันธะแอลฟา (α) โดยโครงสร้างหลักจะจับกันด้วยพันธะ α -1, 6 และจับกันด้วยพันธะ α -1,2 และ α -1,3 เป็นแขนงยื่นออกไป (Walker, 1998) แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์มี ชื่อทางการค้าหลายชื่อด้วยกัน เช่น Mycosob หรือ Bio-Mos ซึ่งสกัดได้จากผนังเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยการนำเซลล์ยีสต์มาทำให้เกิดการแตกตัว (lysed yeast culture) โดยวิธีการปั่นแยก (Sipring *et al.*, 2000) หรือโดยการใช้เอนไซม์ในการสกัด (Parodi, 1979)

กลไกการทำงานของสารแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา ได้แก่ 1. เลือกระกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์โดยกลไกช่วยในการเลือกทำงาน 2 กลไก คือ การแย่งแย่งเพื่อขจัดเอนไซม์จำเพาะของจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ β -fructosidase และ β -galactosidase สามารถย่อยอาหารเสริมชีวนะโอลิโกแซคคาไรด์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ และสามารถเกาะจับกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ แล้วถูกขับออกไป เช่น *Salmonella* spp. *Clostridium* spp. และ *E.coli* (Newman, 1995) 2. กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยทำปฏิกิริยากับ protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อผนังลำไส้ มีผลทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น 3. เพิ่มจำนวน goblet cell ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้เล็ก ที่ช่วยปกป้องลำไส้จากการติดเชื้อ และ 4. อาจมีผลในการช่วยยับยั้งมะเร็ง โดยการออกฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์และการต้านอนุมูลอิสระ

Miguel *et al.* (2004) ศึกษาการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารของสัตว์บกจากการอนุบาลลูกหมู และ White *et al.* (2002) ลูกหมูที่เพิ่งหย่านม พบว่าส่งผลให้ลูกหมูนํ้าหนักเพิ่มมากขึ้น และมีความแข็งแรงมากกว่าลูกหมูที่ไม่ได้รับการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหาร

มีการใช้สารแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Bacillus licheniformis* ช่วยให้สร้างสารที่มีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะ (Bacitracin) ได้มากขึ้น (Murphy *et al.*, 2007) รวมไปถึงช่วยลดระดับความเป็นพิษของสาร Alfatoxins (Basptista *et al.*, 2004) และมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Bland *et al.*, 2004)

จิณณพัต (2551) ศึกษาผลของการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 0.2, 0.4 และ 0.6 ในอาหารลูกปลานิลที่ผสมฮอร์โมนเพศผู้ 17 α -methyl testosterone ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) หลังการทดลองให้อาหารเป็นเวลา 21 วัน พบว่า ระดับของการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่ร้อยละ 0.4 และ 0.6 ส่งผลให้มีนํ้าหนัก ความยาว และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) สูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้รับการเสริม แต่ไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดของลูกปลานิล

Lji *et al.* (2001) กล่าวว่า การเพิ่มปริมาณของแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารทำให้มีการดูดซึม L-tryptophan ได้มากขึ้นทั้งบริเวณลำไส้ส่วนเจจูนัม (jejunum) และ ไอ์

เลียล (ileal) ซึ่ง L-tryptophan เป็นกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งซีโรโทนิน (serotonin) ออกมา เพื่อทำให้ร่างกายรู้สึกผ่อนคลายหรือหลับไปในที่สุดทำให้มีการใช้พลังงานในร่างกายลดลง

Torrecillas *et al.* (2010) พบว่าการเสริมเมเนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารทำให้มีการสะสมไขมันที่ตับของปลา European sea bass ลดลงเนื่องจากทำให้การทำงานของเอนไซม์ acetyl-CoA carboxylase ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนกลูโคสให้เป็น กรดไขมันนั้นลดลง

Santos *et al.* (1995) ศึกษาแหล่งพลังงานของกล้ามเนื้อและการนำสารอาหารไปใช้ในร่างกายเพื่อการเจริญเติบโต และการเสริมเมเนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารช่วยเสริมให้ผนังลำไส้มีความสมบูรณ์จึงมีพื้นที่ในการดูดซึมอาหารได้มากขึ้น

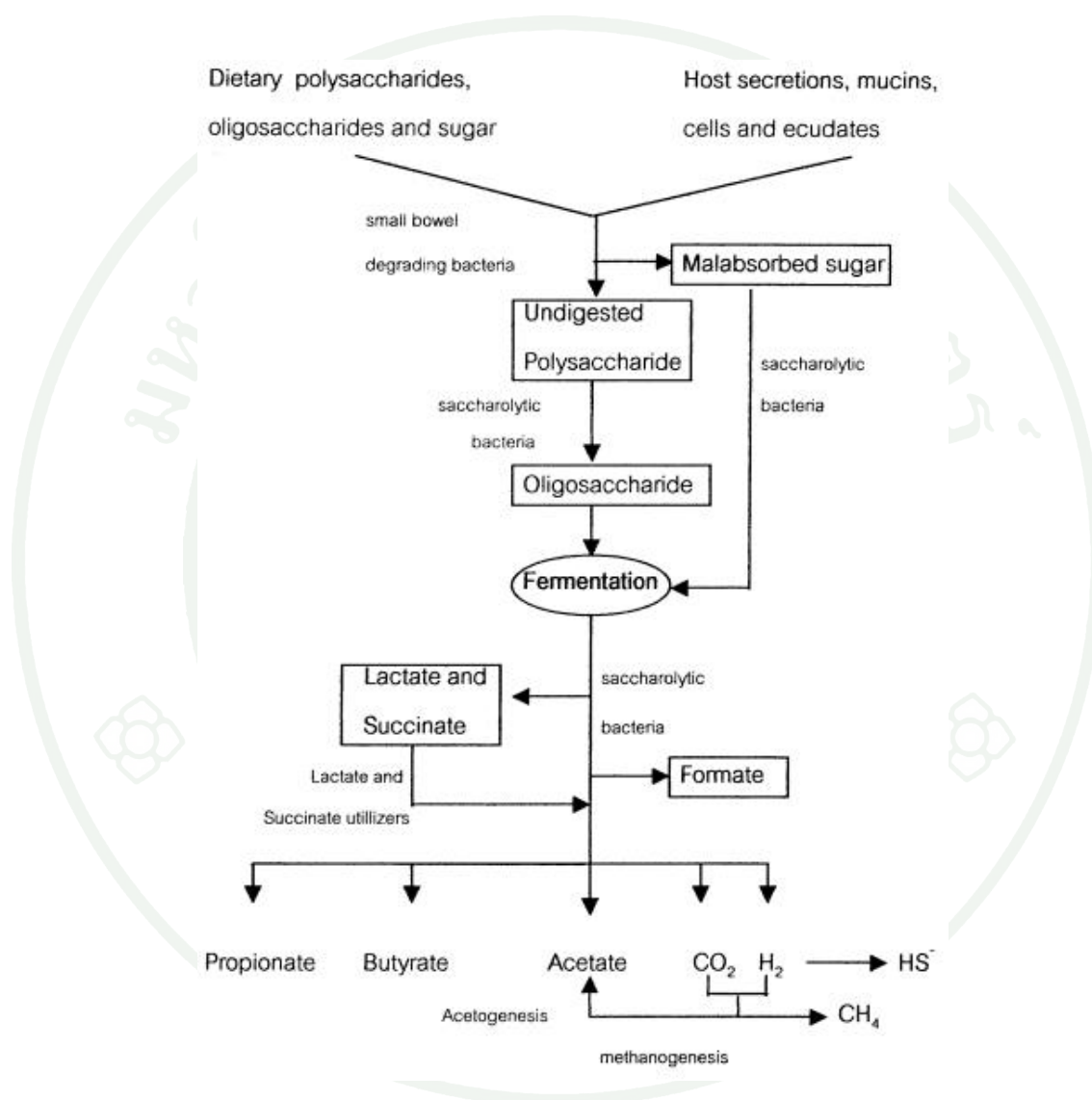
6. การหมักย่อยพรีไบโอติกโดยจุลินทรีย์ในลำไส้

พรีไบโอติกจะไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้ส่วนต้นของคนและสัตว์กระเพาะเดี่ยว Robert (1993) รายงานว่าโดยปกติแป้งจะถูกย่อยโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) หรือแอลฟา-1, 4 กลูแคน-4-กลูโคโนไฮโดรเลส (α -1, 4 glucan-4-gluconohydrolase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำลาย และตับอ่อน จะย่อยพันธะแอลฟา (1-4) ไกลโคซิดิกของแป้งแต่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถย่อยพันธะเบต้า-ไกลโคซิดิก ทำให้พรีไบโอติกไม่ถูกย่อย แต่จะถูกคัดเลือกใช้เป็นอาหาร และหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ (colonic fermentation) ในลำไส้

พรีไบโอติกมีคุณสมบัติเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะ ซึ่งจะถูกเลือกใช้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ แต่จะไม่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนจำเพาะซึ่งถูกคัดเลือกให้เป็นอาหารโดย บิฟิโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัสมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวน ในขณะที่จุลินทรีย์ในกลุ่มเป็นโทษ เช่น ครอสติเดียม เอนเทอโรแบคทีเรีย และโคลิฟอร์มจะใช้น้ำตาลนี้เป็นอาหาร ได้ต่ำ ซึ่งจัดเป็นคุณสมบัติของพรีไบโอติก (Moonsan *et al.*, 1995)

พรีไบโอติกเป็นสารอาหารที่ถูกคัดเลือกใช้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าว เช่น แลคโตบาซิลลัส บิฟิโดแบคทีเรีย รูมิโนคอคคัส และยูแบคทีเรีย เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มแซคคาโรไลติก (Saccharolytic) ซึ่งมีความสามารถในการ

การผลิตเอนไซม์โพลีไฮโดรเลส (polyhydrolase) และไกลโคซิเดส (glycosidase) ได้หลายชนิด จึงสามารถหมักย่อยสลายโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต หรือพรีไบโอติกได้ดี ในขณะที่จุลินทรีย์บางชนิด เช่น แบคทีเรียกรดแลคติก กรดอะซิติก เอ็นเทอโรคอคคัส ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มโปรติโอไลติก (proteolytic) มีความสามารถในการย่อย พรีไบโอติกได้ต่ำ หรือไม่สามารย่อย และนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Gibson and Roberfroid, 1995; Hudson and Marsh, 1995)



ภาพที่ 2 การหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่

ที่มา : Hudson and Marsh (1995)

ผลผลิตที่ได้จากการหมักย่อยจะถูกจุลินทรีย์หรือตัวสัตว์ (host) นำไปใช้ประโยชน์ เช่น ก๊าซไฮโดรเจน จะถูกจุลินทรีย์นำกลับไปใช้ และส่วนที่เหลือจะถูกขับออกมากับลมหายใจของสัตว์

ส่วนสารตัวกลางในวิถีเมทาบอลิซึม จะถูกย่อยต่อไปจนได้กรดไขมันสายโซ่สั้น เพื่อเป็นแหล่งพลังงานให้กับแบคทีเรียและตัวสัตว์ (Gibson and Roberfroid, 1995) กรดไขมันสายโซ่สั้นประกอบด้วย อะซิเตท บิวทีเรท และโพรพิโอเนท จะถูกเมทาบอลิซึมโดยตัวสัตว์และจุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ เช่น บิวทีเรทจะถูกจุลินทรีย์เข้าสู่เยื่อหุ้ม (epithelium cell) ของลำไส้ใหญ่ และเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์ลำไส้ ได้พลังงานออกมาในส่วนของ colonic mucosa และบางส่วนถูกขับออกทางมูล (Campbell *et al.*, 1997) นอกจากนี้จุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นประโยชน์ยังสามารถสะสมผลผลิตสุดท้ายจากการหมัก เช่น แอมโมเนีย ส่วนประกอบที่เป็นฟีนอลิก และเอมีน เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์เอง (Gibson and Roberfroid, 1995)

7. ประโยชน์ของพรีไบโอติก

7.1 ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ

การเสริมพรีไบโอติก เป็นการเสริมสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในร่างกาย หรือจุลินทรีย์ที่จัดเป็นโปรไบโอติก ใช้เป็นอาหารในการหมักย่อยจะช่วยเหนี่ยวนำให้เพิ่มกิจกรรม และเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในลำไส้ขึ้น เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ก่อโทษ โดยการแข่งขันหรือกีดกันการเกาะจับพื้นที่ผิวในลำไส้และช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในให้เหมาะสมเพื่อลดการติดเชื้อ (Brigitta *et al.*, 1997) และในการหมักย่อยพรีไบโอติกของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ผลผลิตสุดท้ายที่ได้จะเป็นกรดไขมันสายโซ่สั้น รวมถึงสารตัวกลางในวิถีเมทาบอลิซึม เช่น ไพรูเวท ซัคซิเนท แลคเตท เป็นต้น ซึ่งมีสถานะความเป็นกรด ส่งผลให้สถานะความเป็นกรด-ด่าง ในลำไส้ลดลงจนไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ตลอดจนช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษลงด้วย (Gibson, 1998) นอกจากนี้ Gibson and Wang (1994) พบว่าแบคทีเรียกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลลัส ยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น แลคโทลิน แอซิฟิลิน แอซิโดลิน ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นโทษได้ทั้งที่เป็นแกรมลบ และแกรมบวก

7.2 ผลิตวิตามิน

Gibson and Roberfroid (1995) กล่าวว่าแบคทีเรียกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียและกลุ่มแลคโตบาซิลลัสสามารถผลิตวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 8 วิตามินบี 12 และไบโอติน

7.3 ลดความเสี่ยงจากการเกิดมะเร็งลำไส้ (colon cancer)

เอนไซม์ที่สังเคราะห์จากจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เช่น เบต้า-กลูคูรานิเดส (β -glucuronidase) ไนเตรดรีดักเตส (nitrate reductase) ไนโตรรีดักเตส (nitroreductase) และอะโซรีดักเตส (azoreductase) สามารถเหนี่ยวนำการเกิดมะเร็งได้ แต่บีฟิโดแบคทีเรียและจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นการเสริมฟรีไบโอติกในอาหารจะมีผลทางอ้อมในการสร้างเอนไซม์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งลดลง และกรดไขมันสายโซ่สั้นที่ได้จากการหมักย่อยฟรีไบโอติกจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโน ซึ่งได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นสารก่อมะเร็งพวก ฟีนอล อินโนโซล เอมีน และแอมโมเนีย นอกจากนี้ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สามารถนำสารกลุ่มดังกล่าวไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในตัวจุลินทรีย์เอง มีผลในการช่วยลดปริมาณของสารก่อมะเร็ง (Ross, 1999)

8. ผลของการใช้ฟรีไบโอติกชนิดต่างๆ ที่มีต่อการเพิ่มประโยชน์ด้านต่างๆ ของร่างกายคนและสัตว์

จากการที่ฟรีไบโอติก ทนต่อการย่อยในทางเดินอาหารส่วนบน ไม่ย่อยสลายและคงอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ จึงกลายเป็นที่อยู่อาศัยและเป็นอาหารให้กับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ และช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bifidobacteria* ทำให้แบคทีเรียนำไปใช้ให้เกิดพลังงาน และให้สารที่เป็นประโยชน์ เช่น Inulin-type fructans ให้กรดแลคติก (lactic acid) และกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acid) ในสภาวะความเป็นกรดจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* ในลำไส้ นอกจากนี้ ด้วยคุณสมบัติคล้ายใยอาหารจึงช่วยบรรเทาอาการท้องผูก มีผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้ จึงช่วยให้ขับถ่ายง่าย อีกทั้งอาจช่วยในการปลดปล่อยแร่ธาตุจากการไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก และภาวะกรดอ่อนๆจากการหมักก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุ นอกจากนี้ยังเชื่อว่าฟรีไบโอติกอาจช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และคอเลสเตอรอล (cholesterol)

Djouzi *et al.* (1997) ศึกษาผลการเปรียบเทียบการให้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และแอลฟา-กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารคนและหนูต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของบีฟิโดแบคทีเรีย พบว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ให้ผลดีกว่า

รายงานวิจัยของ Gibson *et al.* (1999) พบว่า ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ถูกหมักย่อยโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ออกฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของบีฟิโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลลัสได้ดี กว่าคาร์โบไฮเดรตกลุ่มอื่น สำหรับกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ เช่น อินนูลิน หรือรีซิสแตนท์ สตาร์ท มีรายงานว่ามีการออกฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มบีฟิโดแบคทีเรียในมูล และลดจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มเอนเทอโรคอคคัส (*enterococcus*)

Gibson *et al.* (1995) ได้รายงานผลการเปรียบเทียบการเสริม มินินูลินและโอลิโกฟรุคโตส ในอาหารคน พบว่าอินนูลินแสดงผลการเป็นพรีไบโอติกเหมือนกับโอลิโกฟรุคโตสแต่จะให้ผลต่ำกว่าโดยดูจากการที่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จะถูกเลือกให้ และกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแลคโตบาซิลลัส และบีฟิโดแบคทีเรียได้มากกว่าอินนูลินและคาร์โบไฮเดรตกลุ่มอื่น

กรรณิการ์ (2545) ศึกษาผลการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอินทรีย์รวมในอาหารสุกรหย่านม พบว่าการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอินทรีย์รวมมีผลช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตทั้งอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของลูกสุกร เทียบเท่ากับการเสริมสารปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยเพิ่มปริมาณของแลคโตบาซิลลัส และบีฟิโดแบคทีเรีย และช่วยลดปริมาณของ *E. coli*

9. โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (Probiotics) มาจากภาษากรีก มีความหมายว่า เพื่อชีวิต แต่ยังไม่มีการจัดกักความที่ชัดเจน จนกระทั่งในปี 1965 โดย Lilly and Stillwell ได้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกอย่างชัดเจนว่า โพรไบโอติก คือ สารที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง และมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ จากนั้นมีนักวิทยาศาสตร์ให้ความหมายและคำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้อย่างมากมาย Fuller (1989) กล่าวว่า โพรไบโอติก คือ อาหารเสริมที่เป็นจุลินทรีย์มีชีวิต มีประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ โดยปรับปรุงจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ให้เกิดความสมดุล องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration; FDA) ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารที่สามารถกินโดยตรง และจัดเป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) ingredients ซึ่งเป็นอาหาร และสารที่เติมในอาหารที่ปลอดภัย สามารถใช้เป็นอาหารมนุษย์ได้ โดยผ่านการพิจารณาจากเภสัชกร และนักพิษวิทยาแล้ว (Pollman, 1986) และในปัจจุบันคำจำกัดความของ

โปรไบโอติก ที่ใช้กันโดยทั่วไปคือ เป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต สามารถส่งเสริม หรือสนับสนุนความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้น (Holzapfel *et al.*, 2001)

ในสภาวะการณปัจจุบันจุลินทรีย์โปรไบโอติก ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญ และเป็นที่ยอมรับใช้กันโดยแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ ไม่ว่าจะเป็นสัตว์บกหรือสัตว์น้ำ มีการนำโปรไบโอติกมาทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะซึ่งใช้เพื่อช่วยเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันโรคในสัตว์เลี้ยง เนื่องจากการใช้สารปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์ ก่อให้เกิดการดกตัวของสารต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและชีวิตของผู้บริโภค ในขณะที่จุลินทรีย์โปรไบโอติกไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง แต่กลับมีประโยชน์ในแง่ของการก่อให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และสร้างสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และขับออกมานอกเซลล์โดยเฉพาะ ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์จะนำโปรไบโอติกมาใช้ในรูปสารละลายหรือเสริมกับอาหารสัตว์ โดยพบว่าสามารถลดความเครียดของสัตว์ เพิ่มความต้านทานโรค และทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้อย่างแข็งแรง คุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดี ได้แก่ เป็นสายพันธุ์ที่ให้ประโยชน์ต่อสัตว์ โดยการเพิ่มการเจริญเติบโต หรือต้านทานต่อโรค ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรค จุลินทรีย์โปรไบโอติกและองค์ประกอบของเซลล์ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ของเซลล์ต้องไม่สร้างปฏิกริยาที่เป็นพิษต่อสัตว์ สามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในลำไส้ มีความสามารถยึดเกาะกับผนังลำไส้ ทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในระบบทางเดินอาหารได้ดี เช่น ทนต่อน้ำดี น้ำย่อย และสภาพกรดในกระเพาะอาหาร สามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ เพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และลดคอเลสเตอรอลในเลือดได้ (Fuller, 1992; Bayane *et al.*, 2006) โปรไบโอติกออกฤทธิ์ได้หลายรูปแบบในการช่วยเสริมสร้างสุขภาพและป้องกันหรือรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เช่น ช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ Salmonellosis *Escherichia coli* Campylobacteriosis Shigellosis Typhoid และเชื้ออหิวาห์ ช่วยลดปริมาณน้ำตาลแลคโตสในอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของท้องเสีย โดยกลุ่ม *Lactobacilli* สร้างน้ำย่อย β -galactosidase อีกทั้งยังสามารถสร้างสารหลายชนิดที่ช่วยทำหน้าที่เป็นยาปฏิชีวนะ เช่น organic acids, free fatty acids, ammonia, hydrogen peroxide และ bacteriocins ช่วยกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ปะปนในอาหาร น้ำย่อยบางชนิดจากโปรไบโอติก ช่วยยับยั้งสารพิษจากแบคทีเรีย โดยปิดกั้นส่วนที่พิษจะเข้าเซลล์ และสามารถแย่งจับตำแหน่งต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อในลำไส้ เพื่อไม่ให้แบคทีเรียก่อโรคเข้าเกาะกุมได้ และป้องกันการขยายตัวในลำไส้ นอกจากนี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งในลำไส้และในกระแสเลือด หรือกระตุ้นการทำงานของเซลล์อื่น ๆ ทั่วตัวสู้กับเชื้อโรค และกระตุ้นการสร้างสารป้องกันโรคในร่างกาย (อุทัย, 2549)

โปรไบโอติกถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1907 โดย Metchinikoff แต่ความสนใจในการนำมาเป็นสารเสริมในการเลี้ยงสัตว์ (feed supplement) เกิดขึ้นอย่างจริงจังในปี ค.ศ. 1974 เพื่อประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ในการปรับสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์และต้านจุลินทรีย์ก่อโรค โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะเกาะอยู่กับผนังลำไส้และสร้างสภาวะกรดอ่อนๆได้แก่ กรดแลคติก ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค นอกจากนี้ยังสร้างเอนไซม์ วิตามิน อีกทั้งเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ และขจัดสารพิษจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่ขับออกมา (จินตนา, 2549) ปัจจุบันมีจุลินทรีย์มากกว่า 20 ชนิดที่มีคุณสมบัติเหล่านี้ และให้ประโยชน์ในการรักษาและป้องกันโรคเกือบ 10 ชนิด แม้ว่าผลข้างเคียงจากการใช้จุลินทรีย์เหล่านี้จะมีน้อยเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ แต่ก็ยังต้องระวังในการใช้ จุลินทรีย์แต่ละประเภทให้ตรงกับโรค และต้องพิจารณาการใช้ในแง่ปริมาณ ส่วนประกอบ และระยะเวลาในการรักษาแต่ละโรค

9.1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกได้นั้น จะต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยมีระดับการใช้ในอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปไม่น้อยกว่า 1×10^5 colony forming unit (CFU) ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม (ฉัฐสิทธิ์, 2555) จุลินทรีย์ที่ใช้ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรีย เช่น *Bacillus coagulans*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* (สายพันธุ์ที่มีสร้างสารปฏิชีวนะ), *B. subtilis strain BN*, *B. toyo*, *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides suis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. cellobiosus*, *L. curates*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuterii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Peddiococcus acidilactocii*, *P. cerevisiae*, *P. pentosaceus*, *Propionibacterium shermanii*, *Lactococcus cremoris*, *L. lactis*, *L. diacetyllactis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus faecium* *cemelle 68*, *S. intermedius* และ *S. thermophilus*. กลุ่มเชื้อรา เช่น *Aspergillus niger*, *A. oryzae* และ กลุ่มยีสต์ เช่น *Candida pintolepessi*, *Pediococcus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*

Baillon et al. (2004) ทำการศึกษา *Lactobacillus acidophilus* ในอาหารสุนัขแบบแห้ง เพื่อประเมินความสามารถของเซลล์ที่รอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารของสุนัข พบว่า ปริมาณแบคทีเรียในอาหารสุนัขเริ่มต้นคือ ร้อยละ 71 หลังจากผ่านกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา คงเหลือร้อยละ 63 สรุปได้ว่าแบคทีเรียดังกล่าวสามารถรอดชีวิตจากระบวนการผลิตและระหว่าง

การเก็บรักษา อีกทั้ง *Lactobacillus acidophilus* ยังสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของลำไส้เล็ก และสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสุนัขด้วย

Beynen (n.d.) รวบรวมผลงานตีพิมพ์เกี่ยวกับประสิทธิภาพของโปรไบโอติกในโภชนศาสตร์สัตว์ โดยรวบรวมข้อมูลการรอดชีวิตของโปรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* และ *Enterococcus faecium* ในระบบทางเดินอาหารของสุนัขและแมว การลดลงของการแพร่พันธุ์ของ *clostridia* และการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ พบว่า เมื่อสุนัขและแมวได้รับโปรไบโอติกดังกล่าวในปริมาณ 10^9 โคโลนีต่อยูนิต/วัน จะมีประสิทธิภาพในการต้านการติดเชื้อ และการพัฒนาของเชื้อโรคท้องร่วง

9.1.1 บาซิลลัส ซับทิลิส (*B. subtilis*)

ปัจจุบันมีแนวโน้มการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหารสัตว์สูงขึ้น เนื่องจากช่วยทำให้สัตว์มีสุขภาพแข็งแรง ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตดี และช่วยลดการใช้ยาปฏิชีวนะ *B. subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นโปรไบโอติก เนื่องจากมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทนความร้อน และมีการสร้างสปอร์ ทำให้ง่ายต่อการผลิตเชิงการค้า อนุกรมวิธาน (Taxonomy) ของ *B. subtilis*

Kingdom	Bacteria
Subkingdom	Firmicutes
Division	Bacilli
Class	Bacillales
Subclass	Bacillaceae
Genus	Bacillaceae
Species	<i>B. subtilis</i>

รูปร่างเซลล์เป็นรูปท่อนตรง ขนาด $0.3-2.2 \times 1.2-7.0$ ไมโครเมตร ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดิคัสแกรมบวก หรือแกรมบวกเฉพาะระยะแรกของการเติบโต กระบวนการสร้างและการสลายเป็นการหายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย บางชนิดอาจใช้ไนเตรต มีการหมัก เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเติบโต หรือเฟล็กเททีฟ แอนแอโรบ ปริมาณจี+ซี ร้อยละ 32-62 สร้างเอนโดสปอร์ทนความร้อน รูปร่างและตำแหน่งเอนโดสปอร์แตกต่างกัน เช่น *B. subtilis* *B. licheniformis* *B. cereus* *B. anthracis* *B. megaterium* สปอร์รูปรี ตำแหน่งอยู่ตรง

กลางเซลล์ *B. macerans* *B. stearothermophilus* สปอร์รูปรีตำแหน่งปลายเซลล์หรือก่อนปลายเซลล์ *B. sphaerices* *B. pasteurii* สปอร์รูปกลมตำแหน่งปลายเซลล์หรือก่อนปลายเซลล์ บางชนิดเป็นพวกมิโซไฟล์ เช่น *B. subtilis* อุณหภูมิสูงสุดในการเติบโต 45-55 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 5-20 องศาเซลเซียส มีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 4.5-8.5 แต่พีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 6.8-7.2 บางชนิดเป็นพวกออบลิเกต เทอร์โมไฟล์ เช่น *B. stearothermophilus* อุณหภูมิสูงสุดในการเติบโต 65-75 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 30-45 องศาเซลเซียส บางชนิดเป็นพวกเฟลล์เท ทิฟ เทอร์โมไฟล์ เช่น *B. coagulans* อุณหภูมิสูงสุด 55-60 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 15-25 องศาเซลเซียส *Bacillus* มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (a_w) ต่ำสุดที่ 0.90-0.99

B. subtilis มีคุณสมบัติเป็น adherence resistance และ tactical responses โดยบริเวณผิวของเซลล์จะเป็นแผ่นโคร จสร้างจะประกอบด้วย capsule, proteinaceous surface layer, several layers ของ peptidoglycan sheeting และ protein บริเวณส่วนนอกของพื้นผิว plasma membrane *B. subtilis* ส่วนมากอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำและอาหาร พบได้ทั่วไปในดิน เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลายของ ซากพืช ซากสัตว์ และอื่น ๆ แบบที่เรียจำพวก *B. subtilis* สร้างและหลั่งเอนไซม์ช่วยย่อยพวกโปรตีนและแป้ง เช่น protease amylase hemi-cellulase ทำให้อาหารดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์สูงขึ้น และยังช่วยคลกกลืนมูลในสัตว์ (จินตนา, 2549) ส่วนใหญ่จะพบประมาณ 10^7 - 10^8 เซลล์ในดิน 1 กรัม แต่ถ้าในดินที่มีสารอาหารน้อยก็อาจจะพบในจำนวนน้อย

สุชาดา (2535) ทำการผลิตสารปฏิชีวนะจากเชื้อ *B. subtilis* โดยนำ *B. subtilis* NGT 259 มาทำให้กลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 0-100 วินาที ได้ 4 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต B31, B35, B36, และ B39 จากนั้นนำไอโซเลต B31 มาศึกษาต่อเนื่องจากผลิตสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อตรวจสอบได้ดีที่สุด และสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้คืบหน้าอาหารแห้งและเหลว สารปฏิชีวนะที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ทนความร้อนได้ถึง 90 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทนต่อพีเอช 3-11 ที่ 0-10 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บรักษาได้ดีที่ -20 องศาเซลเซียส สามารถแสดงฤทธิ์ได้ดีที่พีเอช 7 เมื่อนำสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้มาทดลองใส่ในสูตรอาหารเลี้ยงนกกกระทา เปรียบเทียบกับการใช้ สารปฏิชีวนะ สังเกตการเจริญเติบโตของนกกกระทา พบว่า นกกกระทาที่เลี้ยงไว้ทุกการทดลอง เจริญเติบโตดี มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ไม่มีการตาย และให้ไข่ได้ตามปกติ แสดงว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้มีความปลอดภัยในระดับหนึ่ง

ภทริดา (2554) ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*Aeromonas hydrophila*, ABRCA 1 และ *Streptococcus agalactiae*, ABRCs 1) ในปลานิลโดยวิธี cross streak method พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ABRCA 1 ส่วนเชื้อ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถลดจำนวน ABRCs 1 ได้ร้อยละ 46.79 53.58 และ 44.22 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปใช้ลดปริมาณเชื้อก่อโรคในการเลี้ยงปลานิล

10. กระบวนการผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด

การผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ได้แก่ การประกอบสูตรอาหารสุนัขชนิดเม็ดโดยใช้โปรแกรมเชิงเส้นตรง และกระบวนการผลิต

10.1 การประกอบสูตรอาหารสุนัขชนิดเม็ดโดยใช้โปรแกรมเชิงเส้นตรง การคำนวณสูตรอาหารสัตว์นิยมคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรมเชิงเส้นตรง (Linear Programming) ที่เรียกว่าสูตรต้นทุนต่ำสุด (Least Cost of Formulation) เทคนิคนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ต่าง ๆ โปรแกรมเชิงเส้นตรงนี้เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์ ที่ช่วยในการเลือกใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ ที่มีส่วนประกอบทางเคมี และราคาแตกต่างกัน มาผสมกันให้ได้สูตรอาหารที่มีโภชนาชนิดต่าง ๆ ครบตามความต้องการและมีราคาต่ำสุด

ขั้นตอนการประกอบสูตรอาหารสุนัขชนิดเม็ด ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน โดยเริ่มต้นจากขั้นตอนที่ 1. กรอกข้อมูลด้านปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบ ได้แก่ กรดอะมิโน วิตามิน แร่ธาตุ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น เถ้า แคลเซียม ฟอสฟอรัส และราคา 2. กรอกข้อมูลด้านปริมาณคุณค่าทางโภชนาการที่สุนัขต้องการ โดยอ้างอิงตาม AAFCO (2008) และ 3. เมื่อกรอกข้อมูลในส่วนที่ 1 และ 2 ลงในโปรแกรมแล้ว โปรแกรมคำนวณสูตรอาหารสำเร็จรูปจะคำนวณสูตรอาหารที่มีราคาต่ำสุดและมีปริมาณโภชนาการตามที่ต้องการ

10.2 ขั้นตอนการผลิต ประกอบด้วย การบดวัตถุดิบ การผสมวัตถุดิบ การคลุก ให้น้ำ การเอ็กซ์ทรูชัน การทำแห้งและเย็น การเคลือบเม็ดอาหาร (ณัฐชนก, 2548)

10.2.1 การบด คือ การลดขนาดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ให้ได้รูปร่างสม่ำเสมอและขนาดใกล้เคียงกัน โดยส่วนมากจะบดให้อยู่ในช่วงระหว่าง 400-1000 ไมครอน ในการบดวัตถุดิบให้เป็นชิ้นเล็กจะต้องใช้แรงสามแรงผสมผสานกัน ประกอบด้วย แรงบีบอัด (compression) แรงกระแทก (impact) และแรงเฉือน (shear) ซึ่งขึ้นกับลักษณะและชนิดของเครื่องมือที่ใช้บด วัตถุประสงค์ของการบด เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในวัตถุดิบอาหารที่บด เพิ่มระดับการเข้าย่อยได้ของเอนไซม์ในวัตถุดิบอาหารที่บด เพิ่มประสิทธิภาพการผสม เพิ่มคุณภาพของเม็ดอาหาร และสร้างความพึงพอใจให้กับลูกค้าผู้ซื้อ (ณัฐชนก, 2548)

10.2.2 การผสม คือ การทำให้วัตถุดิบอาหารสัตว์ในสูตรอาหารผสมและคลุกเคล้าอย่างทั่วถึงในถังผสม และจะเป็นการผสมระหว่างของแข็งและของแข็ง โดยการผสมเป็นขั้นตอนสำคัญในการผลิตอาหารสัตว์ทั้งในรูปอาหารผงหรืออาหารเม็ดวัตถุประสงค์ของการผสม เพื่อเพิ่มการกระจายอนุภาคของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในอาหารสัตว์ผสม และสร้างความพึงพอใจให้กับลูกค้าผู้ซื้อ (ณัฐชนก, 2548)

10.2.3 การคลุกไอน้ำ วัตถุประสงค์ของการคลุกไอน้ำ เพื่อช่วยทำให้บริเวณโดยรอบของอนุภาควัตถุดิบนิ่ม ลดภาระของมอเตอร์ ช่วยลดค่าพลังงาน เพิ่มความเป็นเนื้อเดียวกันของอนุภาควัตถุดิบภายหลังจากผ่านกระบวนการคลุกไอน้ำเพิ่มกำลังผลิต เนื่องจากวัตถุดิบนิ่มขึ้นทำให้ผลิตได้เร็วขึ้น เพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อนระหว่างวัตถุดิบและพลังงานความร้อนในเครื่องเอกซ์ทราซัน เพิ่มระดับความสุกของแป้งในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น เนื่องจากประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อนที่ดีขึ้น และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารในร่างกายสัตว์ (ณัฐชนก, 2548)

10.2.4 การทำให้แห้งและเย็น คือ การช่วยลดอุณหภูมิและความชื้นของเม็ดอาหาร เพื่อความปลอดภัยในการเก็บรักษา วัตถุประสงค์ของการทำให้แห้งและเย็น เพื่อระเหยความชื้นและความร้อนที่เพิ่มเข้าจากในส่วนของการคลุกไอน้ำและอัดเม็ดออกจาก เม็ดอาหาร (ณัฐชนก, 2548)

10.2.5 การเคลือบเม็ดอาหาร คือ การใช้น้ำมันหรือ สารเพิ่มความน่ากิน (palatability enhancer, PE) เคลือบเม็ดอาหารเพื่อเพิ่มความน่ากินให้กับอาหาร (ณัฐชนก, 2548)

การเอกซ์ทราซัน เป็นกระบวนการการผลิตที่มีการหมุน ผลัก พาวัตถุดิบ ให้ไหลไปตามแนวสกรูภายในท่อทรงกระบอก วัตถุดิบจะถูกดันผ่านรูหน้าแปลน ให้มีรูปร่างตามต้องการ ขณะที่วัตถุดิบเคลื่อนที่จะทำให้เกิดความดันและความร้อน ซึ่งเกิดจากแรงเสียดทานระหว่างอนุภาคของวัตถุดิบเอง หรือระหว่างอนุภาคของวัตถุดิบกับผนังบาร์เรลในขณะที่เคลื่อนที่ไปตามสกรู โดยความดันและความร้อนที่เกิดขึ้นมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของแป้งและโปรตีนในสูตรอาหาร เป็นโครงสร้างของเม็ดอาหาร วัตถุประสงค์ของการเอกซ์ทราซัน เพื่อขึ้นรูปร่างของอาหารเม็ดความ

หนาแน่นต่ำ ทำให้ได้เป็นอาหารเม็ดลอย กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของแป้งและโปรตีนให้เกิดเป็นโครงสร้างของเม็ดอาหาร และลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากอุณหภูมิสูงที่เกิดขึ้นในกระบวนการ (ณัฐชนก, 2548)

หลักการทำงานของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ เป็นการรวมเอาหน่วยปฏิบัติการหลาย ๆ หน่วยเข้าด้วยกัน ซึ่งประกอบด้วย การผสม การทำให้สุก การนวด การเนียน และการขึ้นรูป โดยบังคับให้เคลื่อนไปตามแนวเกลียวของสกรูภายในท่อนบาร์เรล ในระหว่างที่วัตถุดิบผสมและเคลื่อนที่ จะเกิดความร้อนและความดันที่สูงจนทำให้แป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ คือ การทำให้แป้งสุกภายใต้สภาวะปริมาณน้ำจำกัด ความชื้นภายในเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์อยู่ในช่วง 20-30 เปอร์เซ็นต์ แรงเนียนและความร้อนที่เกิดในระหว่างการเคลื่อนที่ของวัตถุดิบไปตามแนวของสกรู ทำให้เม็ดแป้งเปิดออก และโมเลกุลภายในเคลื่อนไหลออกมา โดยบางโมเลกุลที่ใหญ่จะถูกตัดด้วยแรงเนียนทำให้มีโมเลกุลเล็กลง การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน อันเนื่องจากแรงเนียน ความร้อน และความดันที่เกิดขึ้นในกระบวนการ จะเปลี่ยนรูปร่างของโปรตีนที่มีรูปร่างที่พับซ้อน ให้กลายเป็นโครงสร้างเส้นตรง และเมื่ออุณหภูมิการผลิตสูงขึ้นจะทำให้เกิดพันธะข้ามระหว่างเส้นสายหลักของโปรตีน เกิดโครงสร้างเป็นร่างแห ทำให้ได้เนื้อสัมผัสที่คล้ายกับโปรตีนจากสัตว์ (รุ่งนภา, 2541)

ผลของกระบวนการเอกซ์ทรูชันที่มีต่อคุณภาพทางกายภาพ และคุณค่าทางโภชนาการในอาหารด้านต่างๆ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ

Lankhorst *et al.* (2007) ศึกษาผลของสภาวะต่อลักษณะทางกายภาพของเม็ดอาหาร โดยมีการออกแบบการสภาวะทดลองเป็น แฟคทอเรียล 3x2x2 คือ อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 110 130 และ 150 องศาเซลเซียส จำนวนครั้งการทำเอกซ์ทรูชัน คือ 1 และ 2 ครั้ง และปริมาณความชื้น 2 ระดับ คือ 200 และ 300 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่า ค่าความคงทนและความแข็งของเม็ดอาหารมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิของสภาวะเอกซ์ทรูชันเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสภาวะที่มีปริมาณความชื้น 300 กรัม/กิโลกรัมอาหารจะให้ค่าความคงทนและความแข็งของเม็ดอาหารมากกว่าที่สภาวะ 200 กรัม/กิโลกรัมอาหาร Noguchi *et al.* (1982) ศึกษาผลของสภาวะเอกซ์ทรูชัน (อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบของสกรู 80 รอบ/นาที ปริมาณความชื้น ร้อยละ 13 เวลา 1 นาที และอัตราการป้อนอาหาร 640 กรัม/นาที) ต่อปริมาณไลซีนในผลิตภัณฑ์ธัญพืช พบว่า ปริมาณไลซีนทั้งหมดและไลซีนที่ไวต่อปฏิกิริยาลดลง Bjorck *et al.* (1984) ศึกษาผลของสภาวะเอกซ์ทรูชัน (อุณหภูมิ 156-171 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบสกรู ≥ 150 ความชื้นร้อยละ 15-20 เวลา 1 นาที และอัตราการป้อนอาหาร 200 กรัม/นาที) ต่อปริมาณไลซีนในผลิตภัณฑ์ธัญพืช พบว่า ปริมาณไลซีนในผลิตภัณฑ์

ลดลง Linko *et al.* (1981) ศึกษาผลของสภาวะเอกซ์ทรูชันที่มีต่อระดับการเกิดเจลลิต์ไนซ์ของแป้ง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้แป้งเกิดเจลลิต์ไนซ์ที่สมบูรณ์ คือ อุณหภูมิ ≥ 120 องศาเซลเซียส และปริมาณความชื้นประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ Lankhorst *et al.* (2007) ศึกษาผลของสภาวะเอกซ์ทรูชันต่อระดับการเกิดเจลลิต์ไนซ์ของแป้ง โดยมีการออกแบบการทดลองเป็น แฟกทอเรียล $3 \times 2 \times 2$ คือ อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 110 130 และ 150 องศาเซลเซียส จำนวนครั้งการทำเอกซ์ทรูชัน คือ 1 และ 2 ครั้ง และปริมาณความชื้น 2 ระดับ คือ 200 และ 300 กรัม/กิโลกรัมอาหาร พบว่า ระดับการเกิดเจลลิต์ไนซ์ของแป้งเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิ จำนวนครั้งการทำเอกซ์ทรูชัน และปริมาณความชื้นสูงขึ้น Cheftel (1986) ศึกษาผลของสภาวะเอกซ์ทรูชันต่อการย่อยของแป้งในหนูทดลอง พบว่า ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส ความชื้นร้อยละ 15 และความเร็วรอบของสกรู 200 รอบ/นาที มีผลทำให้ระดับกลูโคสในพลาสมาของหนูทดลองมีค่าสูงกว่าระดับกลูโคสในหนูทดลองที่ได้รับตัวอย่างแป้ง ที่ผ่านสภาวะเอกซ์ทรูชันที่ไม่รุนแรง Bjorck *et al.* (1984) ศึกษาสภาวะเอกซ์ทรูชันที่มีต่อการเปลี่ยนรูปแบบของแซคคาไรด์ ด้านคุณสมบัติการละลายน้ำในแป้งสาลี พบว่า แซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อใยในตัวอย่างข้าวสาลีที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน จะมีคุณสมบัติการละลายน้ำได้เพิ่มมากกว่าแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อใยในตัวอย่างข้าวสาลีที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน โดยมีค่าการละลายน้ำได้เท่ากับ ร้อยละ 50-70 และ 40 ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัติการละลายน้ำทำให้เกิดการหมักที่ลำไส้เล็กตอนปลายและลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้น สุดท้ายส่งผลให้มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ดีต่อร่างกายเพิ่มมากขึ้นด้วย Cheftel (1986) ศึกษาสภาวะเอกซ์ทรูชันต่อการใช้ประโยชน์จากไขมันของสิ่งมีชีวิต พบว่าสภาวะเอกซ์ทรูชันสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์จากไขมันได้ โดยทำให้กระบวนการต่าง ๆ เหล่านี้ลดลง ได้แก่ กระบวนการออกซิเดชัน ไฮโดรจีเนชัน ไอโซเมอไรเซชัน พอลิเมอไรเซชัน และการเปลี่ยนโครงสร้างของไขมันจาก cis เป็น trans Cheftel (1986) ศึกษาผลของอัตราการป้อนอาหารที่แตกต่างกันต่อระดับการคงอยู่ของวิตามินในผลิตภัณฑ์ขนมปังกรอบพบว่า การเพิ่มอัตราการป้อนอาหารสามารถช่วยลดปริมาณวิตามินที่เสื่อมเสียเนื่องจากความร้อนของกระบวนการได้ เป็นเพราะเมื่ออัตราการป้อนอาหารเร็วขึ้นจะเป็นการช่วยลดระยะเวลาที่อาหารอยู่ในเครื่องเอกซ์ทรูชันได้ Anderson *et al.* (1981) ศึกษาสภาวะเอกซ์ทรูชันต่อระดับแร่ธาตุในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของรำข้าวสาลีและกลูเตนพบว่า สภาวะเอกซ์ทรูชันมีผลทำให้ระดับแร่ธาตุที่พบในผลิตภัณฑ์รำข้าวสาลีและกลูเตนเพิ่มขึ้น เนื่องจากสามารถลดระดับของไฟเตตได้โดยการทำลายโครงสร้าง ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีลักษณะเป็นวงแหวน และมีแร่ธาตุที่อยู่ภายในโครงสร้าง เมื่อ โครงสร้างถูกทำลายจึงทำให้แร่ธาตุที่อยู่ภายในถูกปล่อยออกมา

ดังนั้นจากการศึกษางานวิจัยทั้งหมดที่ได้กล่าวข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า สภาพต่างๆ ที่ใช้
 ในกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ได้แก่ ปริมาณความชื้น อุณหภูมิ ความเร็วรอบของสกรู อัตราการป้อน
 อาหาร ล้วนแต่ส่งผลโดยตรงต่อคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพทางกายภาพของอาหารที่ผลิตได้
 อย่างไรก็ตามการศึกษาลักษณะที่เหมาะสมจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการผลิตอาหารสุนัขชนิด
 เม็ดด้วยวิธีเอกซ์ทรูชัน จากผลการศึกษา งานวิจัยและสิทธิบัตรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสภาพที่ใช้ใน
 การผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด สามารถสรุปได้ดังนี้ สภาพเอกซ์ทรูชันที่ใช้ในการผลิตอาหารสุนัขที่
 มีส่วนประกอบหลักเป็น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งถั่วเหลือง ข้าวโพด กากถั่วเหลือง เนื้อและ
 กระดูกป่น น้ำมันถั่วเหลือง วิตามินและแร่ธาตุได้แก่ 1. อุณหภูมิ 157 องศาเซลเซียส ความดัน
 ประมาณ 20 บาร์ ปริมาณความชื้น ร้อยละ 10-20 (Patricia.C *et al.*, 2004) 2. อุณหภูมิ 140 องศา
 เซลเซียส ความดัน 20 บาร์ ปริมาณความชื้น ร้อยละ 23 (Pitchon *et al.*, 1983) 3. อุณหภูมิ 180 องศา
 เซลเซียส ปริมาณความชื้น ร้อยละ 25 อัตราการป้อนอาหาร 3.2 กิโลกรัม/นาทีก (Pitchon, 1980) 4.
 อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ความดัน 20 บรรยากาศ ปริมาณความชื้น ร้อยละ 15 (McCulloch and
 Nelson, 1977) แต่ละสภาพมีความเหมาะสมกับวัตถุดิบ และเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ที่ต่างกัน ดังนั้น
 ก่อนจะผลิตอาหารควรมีการทดสอบสภาพที่เหมาะสมก่อนการผลิตจริงทุกครั้ง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ข้าวโพดบด (บริษัทเกษมชัย ฟาร์ม กรู๊ป จำกัด)
- 1.2 กากถั่วเหลือง (บริษัทเกษมชัย ฟาร์ม กรู๊ป จำกัด)
- 1.3 ปลาขี้บด (บริษัทเกษมชัย ฟาร์ม กรู๊ป จำกัด)
- 1.4 ปลาป่น (บริษัทเกษมชัย ฟาร์ม กรู๊ป จำกัด)
- 1.5 โปรตีนข้าวโพด (บริษัทเกษมชัย ฟาร์ม กรู๊ป จำกัด)
- 1.6 เกล็ดข้าวโพด (บริษัท แป้งข้าวสาลีไทยมาร์เก็ตติ้ง)
- 1.7 น้ำมันปาล์ม (ตรามรกต บริษัท มรกตอินดัสตรีส์ จำกัด (มหาชน))
- 1.8 เกลือ (ตราปฐกิติย์ บริษัท สหพัฒนพิบูล จำกัด ประเทศไทย)
- 1.9 ไดแคลเซียมฟอสเฟต (บริษัท พี.เค.พี โอเวอร์ซีส์ เทคคิง จำกัด)
- 1.10 สารเพิ่มความน่ากิน (บริษัท นิวไวเทค จำกัด ประเทศไทย)
- 1.11 แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (Biolex[®]-MB40) (ตรา Leiber GmbH บริษัท นิวไวเทค จำกัด ประเทศไทย)
- 1.12 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Prebiofeed 88[®]) (ตรา SOCODE บริษัท นิวไวเทค จำกัด ประเทศไทย)
- 1.13 โปรไบโอติกรูปแบบผง (*B. subtilis* endospore) (ตรา Orvera บริษัท นิวไวเทค จำกัด ประเทศไทย)

2. เครื่องมืออุปกรณ์สำหรับใช้ในกระบวนการผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด

- 2.1 เครื่องผสม (รุ่น Bearmixed ประเทศเดนมาร์ก)
- 2.2 เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูคู่ (Twin Screw Extruder) ยี่ห้อ Berstorff (รุ่น ZE25x33D, Germany)
- 2.3 เครื่องชั่งดิจิตอลที่มีความละเอียด 2 และ 4 ตำแหน่ง (Electronic Balance ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS 224S ประเทศเยอรมนี)
- 2.4 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven ยี่ห้อ BINDER รุ่น VD53 ประเทศเยอรมนี)

3. เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพด้านกายภาพ

3.1 เครื่องวัดสี (Spectrophotometer ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-3500d ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyze ยี่ห้อ Lloyd รุ่น TA 500 ประเทศเยอรมนี)

3.3 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Water activity meter ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น CX3TE ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.4 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper ยี่ห้อ Sylvac รุ่น s_cal pro ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)

4. เครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีสำหรับตรวจสอบคุณภาพด้านเคมี

4.1 เครื่องมืออุปกรณ์

4.1.1 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

4.1.2 โถดูดความชื้น (Desiccator)

4.1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Electronic Balance ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS 224S ประเทศเยอรมนี)

4.1.4 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven ยี่ห้อ BINDER รุ่น VD53 ประเทศเยอรมนี)

4.1.5 เตาเผาถ่าน (Muffle furnace ยี่ห้อ STUART ประเทศอังกฤษ)

4.1.6 ชุดเครื่องย่อยโปรตีน (ยี่ห้อ BÜCHI รุ่น K-345 และ Scrubber B-414 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)

4.1.7 ชุดเครื่องกลั่นโปรตีน (ยี่ห้อ BÜCHI รุ่น KjelFlex K360 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)

4.1.8 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ยี่ห้อ Foss รุ่น Soxtec 2050 ประเทศสหรัฐอเมริกา)

4.1.9 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ (ยี่ห้อ Foss รุ่น 1020 hot extractor ประเทศสวีเดน)

4.2 สารเคมี

4.2.1 Petroleum ether (บริษัท ยูเออนด์วีไฮส์ดิง ประเทศไทย)

4.2.2 Sodium hydroxide (บริษัท เมิร์ก ประเทศเยอรมนี)

- 4.2.3 Phenolphthalein (บริษัท ยูเออนด์วีโฮลด์ดิ้ง ประเทศไทย)
- 4.2.4 Ethyl alcohol (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 4.2.5 Sulfuric acid (บริษัท Baker analyzed ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 4.2.6 Copper sulfate (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 4.2.7 Potassium sulfate (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 4.2.8 Hydrochloric acid (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 4.2.9 Boric acid (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 4.2.10 Potassium hydroxide (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 4.2.11 Sodium chloride (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

5. เครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีสำหรับตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์

- 5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ (media) (แสดงในภาคผนวก จ)
- 5.2 อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 5.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115 ประเทศเยอรมนี)
- 5.4 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Incubator ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115 ประเทศเยอรมนี)
- 5.5 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave ยี่ห้อ Tuttnauer รุ่น 3850M ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 5.6 เครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher ยี่ห้อ Stomacher lab-blender 400 รุ่น BA 7021 ประเทศอังกฤษ)
- 5.7 Anaerobic jar
- 5.8 Anaerobic pack A mini (gas pak disposable hydrogen and carbon dioxide generator envelop)

6. สุนัขทดลอง การศึกษานี้ใช้สุนัขพันธุ์บีเกิล (Beagle) คละเพศ อายุระหว่าง 1-4 ปี จำนวน 12 ตัว สุนัขมีสุขภาพดีทุกตัว และผ่านการตรวจร่างกายจากสัตวแพทย์ก่อนทำการทดลอง

7. อุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผลข้อมูล

- 7.1 โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 12.0, SPSS Inc., Thailand

วิธีการ

1. การสำรวจพฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด

ในขั้นตอนนี้ทำการสำรวจพฤติกรรมและความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดกับผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายในเขตจังหวัดกรุงเทพฯ ด้วยวิธีการอภิปรายกลุ่ม และการออกแบบสอบถาม ดังแสดงในข้อ 1.1-1.3

1.1 การศึกษาเชิงคุณภาพด้วยวิธีการอภิปรายกลุ่ม (Focus group discussion)

การอภิปรายกลุ่มเพื่อสำรวจพฤติกรรมและความต้องการของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด โดยทำการอภิปรายกลุ่มกับตัวแทน ผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย คือ กลุ่มผู้เลี้ยงสุนัข ที่ให้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดกับสุนัขเป็นประจำ (เป็นอาหารหลัก) ทำการสำรวจกับผู้บริโภค จำนวน 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 คน ตามขั้นตอนของ Lawless and Heymann (1999) ด้วยแบบสอบถามดังแสดงในภาคผนวก ก 1 โดยทำการสอบถามผู้อภิปรายเกี่ยวกับข้อมูลสุนัขที่เลี้ยง พฤติกรรมการซื้อ /ให้ผลิตภัณฑ์ หลักเกณฑ์ ในการเลือกซื้อ /ให้ผลิตภัณฑ์ ปัญหา และคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้พัฒนา บันทึกและเก็บรวบรวมข้อมูลของผู้บริโภคระหว่างการอภิปราย เพื่อรวบรวมพฤติกรรม แนวความคิด และความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ โดยข้อมูลที่รวบรวมได้จะนำมาวิเคราะห์ และนำไปใช้ในการสร้าง แบบสอบถามสำหรับการสำรวจพฤติกรรมและความต้องการของผู้บริโภคในขั้นตอนต่อไป

1.2 การศึกษาเชิงปริมาณ โดยการออกแบบสอบถาม

นำผลจากการอภิปรายกลุ่ม (Focus group discussion) จากข้อ 1.1 มาเป็นแนวทางในการออกแบบสอบถามดังแสดงใน ภาคผนวก ก 2 และทำการสำรวจผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย คือ ผู้เลี้ยงสุนัขที่ให้อาหารสุนัขชนิดเม็ดแก่สุนัขเป็นอาหารหลัก โดยใช้แบบสอบถาม กับผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย จำนวน 250 คน ที่โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และคลินิกรักษาสัตว์เลี้ยง ในเขตกรุงเทพมหานคร จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากแบบ สอบถามมาเจงน้ำหนักของแต่ละรายการ นำเสนอข้อมูลในรูปของตารางเปรียบเทียบร้อยละ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ สำหรับข้อมูลในการสำรวจแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลด้านประชากรศาสตร์ของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย

ส่วนที่ 2 ข้อมูลทั่วไปของสุนัข ประกอบด้วยข้อมูลเกี่ยวกับขนาด สายพันธุ์ อายุ และจำนวนประชากรสุนัขที่เลี้ยงโดยผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านพฤติกรรม ศาสตร์ของผู้เลี้ยงสุนัขที่เกี่ยวกับการใช้/ซื้อ และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

ส่วนที่ 4 ข้อมูลด้านความคิดเห็น และความคาดหวังของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเม็ดเสริมโปรไบโอติก คือ *Bacillus subtilis* และฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ คือ Fructooligosaccharide (FOS) และ มานโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ (MOS)

การกำหนดขนาดตัวอย่างทำโดยคำนวณสูตรการคำนวณจำนวนตัวอย่างจากประชากรเป้าหมาย (Cooper and Schindler, 1998)

$$n = z^2 PQ / d^2$$

โดยที่ P = สัดส่วนของประชากรที่คาดว่าจะสนใจซื้อผลิตภัณฑ์

Q = 1-P

z = ความเชื่อมั่นที่กำหนด

d = ความคลาดเคลื่อนที่ยอมให้เกิดขึ้น

$$n = (1.96^2 \times 0.2 \times 0.8) / 0.05^2 = 246$$

ข้อมูลตัวเลขที่แทนในสมการได้มาจากการสำรวจครัวเรือนที่เลี้ยงสุนัขในเขตกรุงเทพมหานครเบื้องต้น เพื่อหาสัดส่วนของครัวเรือนที่เลี้ยงสุนัข พบว่า จำนวนครัวเรือนในเขตกรุงเทพมหานครมีทั้งสิ้นประมาณ 1,942,800 ครัวเรือน เป็นครัวเรือนที่เลี้ยงสุนัขไว้ในครัวเรือนจำนวน 389,097 ครัวเรือน (สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2549) คิดเป็นสัดส่วนค่า $P = (389,097 / 1,942,800) \times 100 = 20\%$ หรือเท่ากับ 0.20 และ $Q = 0.80$ เมื่อนำไปแทนค่าในสมการจะได้ขนาดของกลุ่มตัวอย่างจำนวนเท่ากับ 246 คน แต่เพื่อป้องกันความผิดพลาดจากการตอบแบบสอบถามที่ไม่สมบูรณ์ จึงได้ประมาณกลุ่มผู้บริโภคมเป้าหมายเท่ากับ 250 คน สำหรับตอบแบบสอบถามที่ใช้ในการสำรวจพฤติกรรมและความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัข

1.3 การสำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่จำหน่ายในท้องตลาด

นำผลข้อมูลจากการสำรวจพฤติกรรมและความต้องการของผู้บริโภคเชิงปริมาณ เพื่อทำการกำหนดขอบเขตของผลิตภัณฑ์ อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด ที่ทำการสำรวจ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีความหลากหลายทั้งชนิดและประเภทของอาหาร และจากข้อมูลดังกล่าวจึงทำการสำรวจและรวบรวมข้อมูลของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด สำหรับสุนัขพันธุ์กลางช่วงอายุโตเต็มวัย ที่มีจำหน่ายในกรุงเทพมหานคร โดยมีขั้นตอนในการดำเนินการ คือ สำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด โดยสำรวจแหล่งจำหน่ายสินค้าอุปโภคบริโภค และผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับสัตว์เลี้ยงในกรุงเทพมหานคร จำนวน 4 แหล่ง (10 ร้าน) ได้แก่ ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง โรงพยาบาลสัตว์ ร้านจำหน่ายสินค้าลดราคาขนาดใหญ่ เช่น เทสโก้ โลตัส บิ๊กซี คาร์ฟูร์ และห้างสรรพสินค้า ในเขตกรุงเทพมหานคร ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน 2555 สำรวจเพื่อให้ทราบถึงรายละเอียดเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ อาหารสุนัขชนิดเม็ด ได้แก่ ตราสินค้า ราคา รูปแบบ ขนาด น้ำหนักบรรจุ และส่วนประกอบของอาหารสุนัข ข้อมูลที่ได้จะนำไปเป็นแนวทางในการ พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด เสริมโปรไบโอติก และพรีไบโอติกต่อไป

2. การศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดทางการค้า

นำผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด ทางการค้า ที่ได้จากการสำรวจข้างต้น มาศึกษาค่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี เพื่อให้ทราบคุณลักษณะ ทางคุณภาพของเม็ดอาหารและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสุนัข และนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาอาหารสุนัขชนิดเม็ด คสูตรพื้นฐาน การวัดค่าทางกายภาพและเคมี มีรายละเอียดดังนี้

2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

2.1.1 การวัดค่าสี (Color) ตามวิธีของ Macdougall (1994) วิเคราะห์โดยเครื่อง Spectrophotometer โดยเตรียมตัวอย่างเป็นผงละเอียด บรรจุตัวอย่างครึ่งหนึ่งของความสูงที่ได้ตัวอย่าง ค่าที่วัดได้รายงานเป็นค่า $L^* a^* b^*$ โดยค่า L^* บอกถึงความสว่างของตัวอย่างมีค่าตั้งแต่ 0 (วัตถุมีความสว่างสีดำ) ถึง 100 (วัตถุมีความสว่างสีขาว) ค่า a^* บอกถึงค่าสีเขียวและแดง โดย a^* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุที่ออกสีเขียว ถ้า a^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุที่ออกสีแดง ค่า b^* บอกถึง

ค่าสีน้ำเงินและเหลือง โดย b^* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุที่ออกสีน้ำเงิน ถ้า b^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุที่ออกสีเหลือง

2.1.2 การวัดความหนาแน่นของเม็ดอาหาร (ณัฐชนก, 2553) เป็นการวิเคราะห์ที่ง่ายและรวดเร็วที่สุด และยังเป็นดัชนีที่ทางโรงงานผลิตอาหารสัตว์เลี้ยงส่วนใหญ่ใช้เป็นการวัดหน้างาน ซึ่งในทางปฏิบัติของโรงงานทำโดยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างในภาชนะบรรจุที่ทราบปริมาตรที่แน่นอน โดยทำการทดลองหาค่าความหนาแน่นจำนวน 5 ซ้ำ สำหรับการวัดความหนาแน่นคำนวณได้จากสมการ

$$\text{ความหนาแน่นโดยรวม (กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรบรรจุตัวอย่าง (ลูกบาศก์เซนติเมตร)}}$$

2.1.3 การวัดความแข็งของเม็ดอาหาร (คู่มือปฏิบัติการวิชา 01054-343 การวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ, 2554) ด้วยเครื่อง Lloyd รุ่น TA 500 ที่ Loading cell 500N หัววัดแบบกลม (Ball) ความเร็วในการกด 20 มิลลิเมตรต่อวินาที ระยะในการกด 0.3 มิลลิเมตร

2.1.4 การวัดขนาดของเม็ดอาหาร ทำโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหารด้วยเครื่องมือวัดแบบเวอร์เนียคาลิเปอร์ รุ่น s_cal pro ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ และบันทึกค่าในหน่วยเซนติเมตร

2.1.5 การวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (water activity, a_w) ตามคู่มือการใช้งานเครื่องวัดวอเตอร์แอกติวิตีในอาหาร สำหรับเครื่อง Aqua Lab series 3 (2550) โดยใช้เครื่องยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น CX3TE ประเทศสหรัฐอเมริกา ทดสอบโดยเตรียมตัวอย่างเป็นผงละเอียด บรรจุตัวอย่างครึ่งหนึ่งของความสูงที่ใส่ตัวอย่าง และใส่เครื่องวอเตอร์แอกติวิตี รอจนสัญญาณเครื่องนิ่ง แล้วจดบันทึกค่าที่อ่านได้

2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate Analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)

3. การคัดเลือกและพัฒนาอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตรพื้นฐาน

ผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ดสำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย สูตรทดลอง 5 สูตร ดังแสดงใน ตารางที่ 7 โดยทำการเลียนแบบวัตถุดิบในการประกอบ บสูตรจากสิทธิบัตร การศึกษาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องและผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้าที่ได้รับความนิยม ในการ

เลือกใช้เป็นอาหารให้กับสุนัข มากที่สุด (ผลจากการออกแบบสอบถาม) และประกอบสูตรอาหาร ทดลองผ่านการคำนวณโดยใช้ โปรแกรมคำนวณสูตรอาหาร FeedLIVE® โดยโปรแกรมจะคำนวณ ผ่านข้อมูล 3 ส่วน คือ 1. คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบที่นำมาใช้ 2. ราคาวัตถุดิบ และ 3. ความ ต้องการทางโภชนาการของสุนัขช่วงอายุโตเต็มวัย ตามข้อกำหนดของ Association of American Feed Control Officials (AAFCO) (2008) จากนั้นโปรแกรมจะประมวลผลออกมาเป็น สูตรอาหารที่มี คุณค่าทางโภชนาการ ตามความต้องการ และมีราคาถูกที่สุด ทำการผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด ด้วย กระบวนการเอกซ์ทรูชัน โดยป้อนวัตถุดิบที่ผ่านการผสมให้เข้ากันดีแล้ว ผ่านเข้าเครื่องเอกซ์ทรู เดอร์สกรูว์ ปรับสภาวะการผลิตให้เหมาะสมทั้งอุณหภูมิของบารเรล ความเร็วรอบสกรู และความชื้น ของวัตถุดิบขณะ ป้อนอาหาร ให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะ ปรากฏทางกายภาพ และรูปลักษณะ เหมาะสำหรับเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด สำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็ม วัย จากนั้นตรวจสอบค่าคุณภาพทางกายภาพ ของเม็ดอาหาร (ค่าสี ความหนาแน่นโดยรวม ความ แข็ง และขนาดของเม็ดอาหาร) และคุณภาพทางเคมีของเม็ดอาหาร (การวิเคราะห์องค์ประกอบทาง เคมีโดยประมาณ) ดังแสดงในข้อ 3.1 และ 3.2 นำผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ความ แปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล ทางสถิติสำเร็จรูป SPSS for windows version 12.0 เพื่อให้ได้ ผลิตภัณฑ์สูตรพื้นฐานหรือผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (prototype) ที่จะนำไปพัฒนาเป็นอาหารสุนัขเสริม โปรไบโอติก และพรีไบโอติกผสมต่อไป เมื่อคัดเลือกสูตรอาหารพื้นฐานได้แล้ว นำมาเติมสารเพิ่ม ความน่ากิน (palatability enhancer, PE) ปริมาณร้อยละ 2 ในสูตรอาหารพื้นฐาน สำหรับใช้เป็น แนวทาง ในการศึกษาการเสริมสารโปรไบโอติก คือ *B. subtilis* และ พรีไบโอติกผสม คือ Fructooligosaccharide (FOS) และ Mannanooligosaccharide (MOS) ในอาหารสุนัขสูตรพื้นฐาน

3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- 3.1.1 การวัดค่าสี ดังข้อ 2.1.1
- 3.1.2 การวัดความหนาแน่นโดยรวม ดังข้อ 2.1.2
- 3.1.3 การวัดความแข็งของเม็ดอาหาร ดังข้อ 2.1.3
- 3.1.4 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร ดังข้อ 2.1.4
- 3.1.5 การวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w) ดังข้อ 2.1.5

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate Analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารสุนัขสูตรทดลอง 5 สูตร

วัตถุดิบ	สูตร 1 (ร้อยละ)	สูตร 2 (ร้อยละ)	สูตร 3 (ร้อยละ)	สูตร 4 (ร้อยละ)	สูตร 5 (ร้อยละ)
ข้าวโพดบด	45.00	39.83	43.47	55.78	49.38
กากถั่วเหลือง	12.75	3.55	15.64	15.46	10.41
ปลายข้าวบด	21.15	29.43	20.00	11.75	10.00
เนื้อกระดูกป่น	3.00	-	-	-	-
แป้งสาลี	-	3.00	1.00	-	-
รำข้าว	-	-	3.70	-	10.00
น้ำมันปาล์ม	7.10	6.97	7.25	6.94	5.92
เกลือ	-	-	-	0.50	2.76
ปลาป่น	5.00	5.00	-	5.75	-
นมผง	5.00	0.74	-	-	-
ชนไก่ป่น	-	5.00	-	-	3.00
โปรตีนข้าวโพด	-	5.00	7.30	3.00	7.00
Di-Ca phosphate	1.00	1.48	1.64	0.82	1.53

หมายเหตุ สูตรที่ 1 คือ สูตรจากการดัดแปลงสูตรของ Douglas *et al.* (1969)

สูตรที่ 2 คือ สูตรจากการดัดแปลงสูตรของ Miller *et al.* (1975)

สูตรที่ 3 คือ สูตรจากการดัดแปลงสูตรของ Sea pets (2009)

สูตรที่ 4 คือ สูตรจากการดัดแปลงสูตรของ Freeman and Rush (2003)

สูตรที่ 5 คือ สูตรจากการดัดแปลงสูตรของอาหารสุนัขทางการค้าที่ได้รับความนิยมมากที่สุด (จากการออกแบบสอบถาม)

ตารางที่ 8 หลักเกณฑ์คุณสมบัติทางกายภาพและปริมาณสารอาหารในการพิจารณาเลือกอาหาร
สุนัขสูตรพื้นฐานสำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย

คุณสมบัติทางกายภาพ ⁽¹⁾	
ค่าความหนาแน่น (กรัม/ลิตร)	450-600
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดอาหาร (เซนติเมตร)	0.5-1
ปริมาณสารอาหาร ⁽²⁾	
โปรตีน (ร้อยละ)	≥18
ไขมัน (ร้อยละ)	≥ 5
เยื่อใย (ร้อยละ)	≤3

ที่มา (1) ฌัฐชนก (2553)

(2) AAFCO (2008)

**4. การพัฒนาสูตรและศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมฟรีไบโอติกผสม
(Fructooligosaccharide, FOS และ Mannanooligosaccharide, MOS) และโปรไบโอติก (*B. subtilis*)**

ในขั้นตอนนี้ทำการศึกษา 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 ทำการศึกษาผลของการเติมสารฟรีไบโอติกผสมระหว่าง FOS และ MOS ต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเม็ดอาหาร ดังแสดงในข้อ 4.1 และการศึกษาส่วนที่ 2 ทำการศึกษาปริมาณ และวิธีการในการเตรียมโปรไบโอติกเพื่อเคลือบบนเม็ดอาหารสุนัขดังแสดงในข้อ 4.2

4.1 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของอาหารสุนัขสูตรพื้นฐานที่มีการเสริมสารฟรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS)

จากผลการทดลองข้อ 3 นำสูตรอาหารพื้นฐาน มาเติมสารฟรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS) ในอัตราส่วน 1:1 โดยใส่ฟรีไบโอติกผสมในสูตรพื้นฐาน 3 ระดับ ได้แก่ ระดับร้อยละ 0 (T1) คืออาหารสูตรพื้นฐาน ระดับร้อยละ 1 (T2) คือ อาหารสูตรพื้นฐานผสมฟรีไบโอติกผสมในสูตรพื้นฐานร้อยละ 1 และ ร้อยละ 2 (T3) คือ อาหารสูตรพื้นฐานผสมฟรีไบโอติกผสมในสูตรพื้นฐาน

ร้อยละ 2 ทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 12.0

4.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดค่าสี ดังข้อ 2.1.1 การวัดความหนาแน่น โดยรวม ดังข้อ 2.1.2 การวัดความแข็งของเมล็ดอาหาร ดังข้อ 2.1.3 การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดอาหาร ดังข้อ 2.1.4 การวัดค่าวอเตอร์แอคทีวิตี (water activity, a_w) ดังข้อ 2.1.5

4.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate Analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)

4.2 การศึกษาปริมาณ โปรไบโอติก (*B. subtilis*) ที่เหมาะสมในการ เคลือบบนเมล็ดอาหาร สุนัขสูตร T1 และ T2 โดยทำการนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในอาหารสุนัขที่ผ่านการเคลือบ โดยมีวิธีการเตรียมโปรไบโอติกเพื่อเคลือบบนเมล็ดอาหารสุนัขดังแสดงในข้อ 4.2.1

4.2.1 นำเชื้อ *B. subtilis* ในรูปแบบสปอร์ผงปริมาณ 3 ระดับคือ 13 และ 5 กรัม นำไปละลายใน Maximum recovery diluents (MRD) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเคลือบบนเมล็ดอาหารสุนัขทั้ง 2 สูตร (T1 และ T2) ปริมาณ 500 กรัม อบในตู้อบลมร้อน 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.2.2 นำอาหารสุนัขจากข้อ 4.2.1 วัดปริมาณเชื้อ *B. subtilis* (BAM, 2002) เพื่อเลือกปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ที่เหมาะสมสำหรับเคลือบบนเมล็ดอาหาร เพื่อนำไปเลี้ยงสุนัขทดสอบต่อไป

4.3 นำอาหารสุนัขชนิดเม็ดจากข้อ 4.2 ที่ผ่านการเคลือบโปรไบโอติก และการอบแล้ว มีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในอาหารสุนัขมากกว่า หรือเท่ากับ 10^5 โคโลนีต่อยูนิต/วัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 ไปวัดค่าทางกายภาพของเมล็ดอาหาร

4.3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสี วิเคราะห์โดยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น CM-3500d ดังข้อ 2.1.1 การวัดความหนาแน่นของเม็ดอาหาร ดังข้อ 2.1.2 การวัดความแข็งของเม็ดอาหาร ด้วยเครื่อง Lloyd รุ่น TA 500 ดังข้อ 2.1.3 การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร ด้วยเครื่องมือวัดแบบเวอร์เนียคาลิเปอร์ ดังข้อ 2.1.4 และการวัดค่าออกฤทธิ์แอคทีวิตี้ (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง Water activity meter ดังข้อ 2.1.5

5 การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัข เสริมโปรไบโอติก (*B. subtilis*) และพรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS) ในสุนัขทดลอง

5.1 ศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัข โดยทำการศึกษาในสุนัขทดลองสายพันธุ์บีเกิล (Beagle) คละเพศ อายุระหว่าง 1-4 ปี จำนวน 12 ตัว โดยสุนัขมีสุขภาพดีทุกตัว เริ่มเลี้ยงสุนัขในสภาพแวดล้อมเดียวกันกับการทดลองเป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้สุนัขปรับตัวก่อนเริ่มการทดลอง สุนัขได้รับอาหารชนิดเดียวกัน ซึ่งเป็นอาหารที่ผลิตตามมาตรฐานความต้องการสารอาหารของสุนัข

5.2 ศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัข โดยนำอาหารสุนัขสูตรควบคุม (control) T1 และ T2 ที่ผ่านการเคลือบโปรไบโอติกแล้ว นำไปเลี้ยงสุนัขที่ผ่านการฝึกฝนเพื่อเป็นสุนัขทดสอบอาหาร ทำการทดสอบกับสุนัขจำนวน 12 ตัว โดยอาหาร 1 สูตรต่อสุนัข 4 ตัว (ทำการทดลอง 4 ซ้ำ) สุนัขแต่ละตัวได้รับอาหารวันละ 300 กรัม ช่วงเวลา 07.00 น. เป็นเวลา 21 วัน ทำการเก็บข้อมูลปริมาณการกินอาหาร (feed intake) ของสุนัขโดยการชั่งอาหารสุนัขที่เหลือในชามอาหารของเช้าวันถัดไป

5.3 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของมูลสุนัข ทำการ วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของมูลสุนัข โดยการให้คะแนนลักษณะ ปรากฏของมูลสุนัข (feces score) ความหมายของคะแนนลักษณะ ปรากฏของมูลสุนัขมีดังนี้ คือ คะแนนที่ 1 หมายถึง มูลสุนัขนุ่มมากถึงขั้นเหลว (very soft feces) คะแนนที่ 2 หมายถึง มูลสุนัขนุ่ม ไม่มีรูปร่าง (soft, unshaped feces that took the shape of the collection vessel) คะแนนที่ 3 หมายถึง มูลสุนัขนุ่ม มีรูปร่าง และมีน้ำออกมากที่พื้น (soft, shaped and moist feces that left a mark on the floor) คะแนนที่ 4 หมายถึง มูลสุนัขมีรูปร่าง และมีลักษณะเป็นของแข็งซึ่งไม่ติดบนพื้น (shaped and solid feces that did not adhere the the floor) และ คะแนนที่ 5 หมายถึง มูลสุนัขมีรูปร่าง แห้งสนิทและค่อนข้างแข็ง (shaped, dry and hard feces)

(Sa-fortes, 2000) ทำการบันทึกลักษณะของมูลและให้คะแนนโดยการสังเกตรูปร่างด้วยตาเปล่า ทำการประเมินลักษณะของมูลสุนัขในช่วงเช้า ประมาณ 07.00 น. ของทุกวัน

5.4 การวิเคราะห์ปริมาณ จุลินทรีย์ในมูลสุนัข โดยตรวจนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี คือ *Bifidobacteria* s และ *Lactobacillus* ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค คือ *E. coli* ในมูลสุนัข

5.4.1 การตรวจนับเชื้อ *Bifidobacteria* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Beeren's agar ตามวิธีของ Beeren (1990) และ *Lactobacillus* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Man Rogosa Sharpe agar (MRS-agar) ตามวิธีของ DeMan *et al.* (1960)

5.4.2 การตรวจนับเชื้อ *E. coli* ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Coliform agar ตามวิธีของ Christen *et al.* (1992)

5.4.3 การจำแนกชนิดของ *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* (Identification) เพื่อแยกชนิดจุลินทรีย์ ตามวิธีของ Bergey's manual (Sneath *et al.*, 1986)

5.4.4 การตรวจนับเชื้อ *B. subtilis* ตาม BAM (2002)

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจพฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด

1.1 การศึกษาเชิงคุณภาพด้วยวิธีการอภิปรายกลุ่ม (Focus group discussion)

จากผลการอภิปรายกลุ่มกับตัวแทนผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายกลุ่มละ 8 คนจำนวน 2 กลุ่ม ซึ่งเป็นผู้ที่ให้อาหารสุนัขชนิดเม็ดกับสุนัขเป็นประจำ โดยทำการสอบถามผู้ร่วมอภิปรายในด้านข้อมูลเกี่ยวกับสุนัข พฤติกรรมการใช้ /ซื้อ ปัญหา และความคิดเห็นต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขเพื่อสุขภาพที่ดีขึ้นซึ่งผลการศึกษาได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 9

ข้อมูลเกี่ยวกับสุนัข พบว่า ผู้อภิปรายเลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดเล็ก ก กลาง และใหญ่ อยู่ในช่วงอายุน้อยกว่า 1 ปี (ลูกสุนัข) 1-7 ปี (โตเต็มวัย) และอายุมากกว่า 7 ปีขึ้นไป (สุนัขแก่)

ข้อมูลพฤติกรรมเกี่ยวกับการใช้ /ซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ผู้ร่วมอภิปรายใช้มีหลากหลายกลิ่นรส ได้แก่ รสเนื้อ ดับ และไ ก่ ตรายีนส์ที่ผู้อภิปรายซื้อ คือ เพดกรี สมาร์ทฮาร์ท เอ- โปร โรยัลคานิน ฮิลล์ ไชน์ ไคเอท ยูคานูบา และโปรแพค ผู้อภิปราย นิยมซื้อผลิตภัณฑ์ที่ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง ร้านขายสินค้าขนาดใหญ่ ห้างสรรพสินค้า คลินิกกักยาสัตว์ และโรงพยาบาลสัตว์ ความถี่ในการซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัข ได้แก่ ซื้อมากกว่า 1 ครั้ง/เดือน และ 1 ครั้ง/2-3 เดือน ซึ่งเหตุผลในการเลือกใช้อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดตรายีนส์ดังกล่าว คือ ผลิตภัณฑ์มีลักษณะตรงตามความต้องการของสุนัข คุณค่าทางโภชนาการ แพทย์แนะนำ การโฆษณา ราคาและความเชื่อมั่นในตรายีนส์ ลักษณะการให้อาหารกับสุนัข ให้ 1 และ 2 มื้อต่อวัน ความถี่ในการให้อาหาร คือ ทุกวัน 2-3 ครั้ง/อาทิตย์ และ 1 ครั้ง/อาทิตย์ จุดประสงค์ในการใช้อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเป็นอาหารมื้อหลักของสุนัข คือ มีความสะดวก ง่ายต่อการจัดเตรียม คุณค่าทางโภชนาการ ที่ครบถ้วน และทำให้คุณภาพของมูลสุนัขดีขึ้น (เป็นก้อน เก็บง่าย) ปัญหาที่พบในผลิตภัณฑ์ คือ เมื่อเปิดใช้และเก็บไว้ทำให้อาหารเกิดกลิ่นหืน เป็นผง เม็ดนุ่มในระหว่างการให้ ทำให้สุนัขไม่กินอาหารนั้นอีก และในผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขขนาดใหญ่ (15-20 กิโลกรัม) สุนัขมักเบื่ออาหาร (ดูจากปริมาณที่กินลดลง) ผู้บริโภคมีความต้องการให้มีการพัฒนาอาหารสุนัขเพื่อสุขภาพ และป้องกันโรคต่าง ๆ เช่น โรคพยาธิหัวใจ โรคไต โรคผิวหนัง และโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งยังมีความต้องการให้อาหารสุนัขมีส่วนช่วยในการบำรุงขน และกระดูก ป้องกันเห็บหมัด เป็นอาหารที่มีปริมาณโปรตีน พลังงาน และแคลเซียมสูง

ปริมาณไขมันต่ำ ความคาดหวังต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขที่ผ่านการพัฒนา คือ ควรมีประโยชน์จริงตามที่ผลิตภัณฑ์กล่าวอ้าง ควรมีสถาบันที่เกี่ยวข้องรับรองคุณภาพอาหารและคุณประโยชน์ที่สุนัขจะได้รับจากอาหาร คุณภาพเหมาะสม กับราคา มีบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการเสื่อมคุณภาพของเม็ดอาหารได้ และมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมว่า ในผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขบรรจุภัณฑ์ขนาดใหญ่ (15-20 กิโลกรัม) ควรมีหลายกลิ่นรส เป็นซองขนาดเล็กสำหรับให้สุนัขในแต่ละครั้ง บรรจุในถุงซิปล็อค มีซิปหรือซิปซ่อนตัวไว้ในถุงอาหาร และไม่ควรมีกลิ่นหืนเมื่อเก็บไว้ในระหว่างการใช้ผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 9 ผลการอภิปรายกลุ่มตัวแทนผู้บริโภคร่วมเป้าหมายต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด

หัวข้อ	สรุป
1. ข้อมูลสุนัข	
1.1 ขนาดสายพันธุ์	พันธุ์ขนาดเล็ก กลาง และใหญ่
1.2 อายุ	น้อยกว่า 1 ปี, 1-7 ปี, 7 ปีขึ้นไป
2. กลิ่นรสของอาหาร	เนื้อ ตับ และไก่
3. การให้อาหารสุนัขชนิดเม็ด	
3.1 ตราสินค้าอาหารเม็ด	โปรแพค เอเอนเอฟ โรยัล คานิน สมาร์ท ฮาร์ท อัลโป เอโปร ฮิลล์ ไชน์เอนน์ ไคเอท ยูคานูบา และเพดิกรี
3.2 ความถี่ในการให้ผลิตภัณฑ์	ทุกวัน 2-3 ครั้งต่ออาทิตย์ และ 1 ครั้งต่ออาทิตย์
3.3 ลักษณะการให้ผลิตภัณฑ์	ให้พอดิ 1 ครั้ง วางทิ้งไว้ตลอดเวลา
3.4 ความถี่ในการซื้อผลิตภัณฑ์	มากกว่าเดือนละ 1 ครั้ง 1 ครั้งต่อ 2-3 เดือน
3.5 ขนาดบรรจุ	1 กิโลกรัม 3-4 กิโลกรัม และ 10-20 กิโลกรัม
3.6 สถานที่ซื้อ	โรงพยาบาลสัตว์ ร้านขายสินค้าขนาดใหญ่ ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง ห้างสรรพสินค้า
3.7 หลักเกณฑ์เลือกซื้อผลิตภัณฑ์	ความชอบกินของสุนัข โฆษณา ตราสินค้า ราคา คุณค่าทางโภชนาการ แพทย์แนะนำ
3.8 เหตุผลและจุดประสงค์ในการใช้อาหาร	สะดวก คุณค่าทางโภชนาการ มูลเป็นก้อน เก็บสะดวก
3.9 ปัญหาที่พบในอาหาร	เก็บนานเหม็นหืน เป็นผง เม็ดนิ่ม สุนัขเบื่อรสชาติเดิม

ตารางที่ 9 (ต่อ)

หัวข้อ	สรุป
4. ความต้องการต่ออาหารสุนัขที่ผ่านการพัฒนา	ป้องกันโรคหัวใจ และไต ผิวหนัง ระบบทางเดินอาหาร บำรุงให้ขนนุ่มสลวย เงางาม ไม่พันกัน และไม่หลุดร่วงง่าย ป้องกันเห็บ หมัด และกลิ่นตัว เป็นอาหารโปรตีนสูง พลังงานสูง ไขมันต่ำ แคลเซียมสูง บำรุงกระดูก
5. ความคาดหวังจากอาหารสุนัขที่ผ่านการพัฒนา	สุนัขต้องกินได้เหมือนเดิม กลิ่นต้องเหมือนหรือไม่แตกต่างจากอาหารสุนัขปกติมากนัก ราคาเท่ากัน ไม่ต่างกันจนเกินไป ถ้าราคาสูงคุณภาพของอาหาร ควรเทียบเท่าราคา เมื่อสุนัขกินแล้วต้องเกิดผลลัพธ์ตามที่ผลิตภัณฑ์แจ้งไว้ มีสถาบันที่เกี่ยวข้องรับรองคุณภาพว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพของสุนัขตามที่แจ้งไว้และมีความปลอดภัย

1.2 การศึกษาเชิงปริมาณ โดยการออกแบบสอบถาม

ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจเชิงปริมาณกับผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายแบ่งออกเป็น 4 ส่วน แสดงข้อมูลจากการสำรวจในตารางที่ 10-17 ดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลด้านประชากรศาสตร์ของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย ประกอบด้วย ข้อมูลเกี่ยวกับเพศ ช่วงอายุ ระดับการศึกษา อาชีพ และรายได้ ดังแสดงในตารางที่ 10

จากการสำรวจผู้บริโภคนำมาซึ่งข้อมูลที่ให้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดกับสุนัขเป็นประจำ จำนวน 250 คน ในเขตกรุงเทพมหานคร ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า ผู้บริโภคที่ตอบแบบสอบถามเพศหญิงคิดเป็นร้อยละ 66 ช่วงอายุที่ตอบแบบสอบถามมากที่สุด คือ ช่วงอายุ 41-50 ปี คิดเป็นร้อยละ 26.80 ส่วนใหญ่จบการศึกษาระดับปริญญาตรี คิดเป็นร้อยละ 58.80 อาชีพส่วนใหญ่คือ ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ คิดเป็นร้อยละ 30.40 รายได้ต่อเดือนส่วนใหญ่ต่ำกว่า 20,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 30.40

ตารางที่ 10 ข้อมูลทางด้านประชากรศาสตร์ของกลุ่มผู้บริโภครูปเป้าหมาย

N=250

ปัจจัยส่วนบุคคล	ร้อยละ
เพศ	
หญิง	66.00
ชาย	34.00
ช่วงอายุ	
20-30 ปี	26.00
31-40 ปี	21.60
41-50 ปี	26.80
51-60 ปี	20.00
61 ปีขึ้นไป	5.60
ระดับการศึกษา	
มัธยมศึกษา/ปวช. และอนุปริญญา/ปวส..	16.40
ปริญญาตรี	58.80
สูงกว่าปริญญาตรี	24.80
อาชีพ	
นักเรียน/นักศึกษา	10.80
ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว	23.60
ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ	30.40
พนักงานเอกชน/รับจ้าง	26.00
แม่บ้าน/พ่อบ้าน	6.80
อื่น ๆ	2.40
รายได้เฉลี่ยต่อเดือน	
ต่ำกว่า 20,000 บาท	30.40
20,001-30,000 บาท	25.50
30,001-40,000 บาท	15.60
40,001-50,000 บาท	10.80
50,001 บาทขึ้นไป	18.00

หมายเหตุ N คือ จำนวนผู้ตอบแบบสอบถามทั้งหมด 250 ข้อมูล

ส่วนที่ 2 ข้อมูลจำนวนประชากรผู้เลี้ยงสุนัข และสุนัขจำแนกตามขนาดสายพันธุ์

จากการสำรวจพบว่า เจ้าของสุนัขส่วนมากเลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี มากที่สุด จากการนับจำนวนสุนัขของ ผู้บริโภครวม 250 มีจำนวนสุนัขทั้งหมด 772 ตัว แบ่งตามขนาดสายพันธุ์และช่วงอายุ ดังแสดงในตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 11 ข้อมูลจำนวนของกลุ่มผู้เลี้ยงสุนัข จำแนกตามขนาดของสายพันธุ์สุนัข

N=250

สายพันธุ์สุนัข	ร้อยละ
สายพันธุ์ขนาดเล็ก	37.20
สายพันธุ์ขนาดกลาง	51.20
สายพันธุ์ขนาดใหญ่	11.60

ตารางที่ 12 ข้อมูลจำนวนสุนัข จำแนกตามขนาดของสายพันธุ์ และช่วงอายุ

N=772

สุนัข	ร้อยละ
สายพันธุ์สุนัข	
สายพันธุ์ขนาดเล็ก	39.77
สายพันธุ์ขนาดกลาง	51.04
สายพันธุ์ขนาดใหญ่	9.20
ช่วงอายุ	
น้อยกว่า 1 ปี	7.00
1-7 ปี	74.48
มากกว่า 7 ปี	18.52

หมายเหตุ N คือ จำนวนสุนัขทั้งหมดจากการสำรวจผู้เลี้ยงสุนัข 250 ข้อมูล

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านพฤติกรรมการใช้/ซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

จากข้อมูลการสำรวจส่วนที่ 2 พบว่า ผู้บริโภคร้อยละ 51.20 เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง (ตารางที่ 11) ดังนั้นในส่วนข้อมูลทางด้านพฤติกรรมศาสตร์ของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายจึง

รายงานเฉพาะพฤติกรรมของผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง เพื่อเป็นการกำหนดขอบเขตของการศึกษา และพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขที่จะทำในขั้นต่อไป ซึ่งข้อมูลจากการสำรวจมีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 5-7 พบว่า ความถี่ในการให้อาหารสุนัขของผู้เลี้ยงสุนัขร้อยละ 72.66 ให้อาหารสุนัขชนิดเม็ดเป็นประจำทุกวัน มีลักษณะการให้อาหารร้อยละ 47.66 ให้แบบพอดิ กินหมดใน 1 ครั้ง และร้อยละ 40.63 ให้ไว้ในชามตลอดเวลา ความถี่ในการซื้ออาหารสุนัขชนิดเม็ด ร้อยละ 37.50 ซื้ออาหาร 1 ครั้ง/เดือน ราคาสินค้าที่ผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายเลือกซื้อร้อยละ 26.56 เลือกใช้ผลิตภัณฑ์ราคาสินค้าเพคกี และร้อยละ 24.22 ใช้ผลิตภัณฑ์ราคาสินค้าสมาร์ทฮาร์ท กลิ่นรสของอาหารสุนัขที่เจ้าของนิยมใช้ในการเลี้ยงสุนัขร้อยละ 38.28 เป็นกลิ่นรสไก่และตับ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 จำนวนของกลุ่มประชากร จำแนกตามพฤติกรรมการให้อาหารสุนัขชนิดเม็ด

N=128

พฤติกรรม	ร้อยละ
ความถี่ในการให้อาหารสุนัขชนิดเม็ด	
ทุกวัน	72.66
มากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์	14.84
1 ครั้งต่อสัปดาห์	7.81
2-3 ครั้งต่อเดือน	1.56
1 ครั้งต่อเดือน	2.34
อื่นๆ	0.78
ลักษณะการให้อาหารสุนัขชนิดเม็ด	
ให้กินพอดิ 1 ครั้ง	47.66
ให้ไว้ในชามอาหารมีกินตลอดเวลา	40.63
อื่น	11.72
ความถี่ในการซื้ออาหารสุนัขชนิดเม็ด	
1 ครั้งต่อสัปดาห์	7.81
2-3 ครั้งต่อเดือน	31.25
1 ครั้งต่อเดือน	37.50
1 ครั้งต่อ 2-3 เดือน	21.09
อื่นๆ	2.34

หมายเหตุ N คือ จำนวนผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี

ตารางที่ 13 (ต่อ)

N=128

พฤติกรรม	ร้อยละ
ตราสินค้า	
ค็อกเอ็นจอย	4.69
โปรแพค	5.47
โรยัล คานิน	11.72
สมาร์ทฮาร์ท	24.22
อัลโป	8.59
เอโปร	10.16
ฮิลล์ ไชน์แอน ไคเอท	7.03
เพดิกรี	26.56
อื่นๆ	1.56
กลิ่นรส	
เนื้อไก่	3.91
เนื้อไก่และตับ	38.28
เนื้อ	25.00
เนื้อและผัก	23.44
อื่นๆ	9.38

หมายเหตุ N คือ จำนวนผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี

โดยเหตุผลในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ตราสินค้าดังกล่าวร้อยละ 50.00 ซื้อที่สารอาหารครบถ้วนเป็นเหตุผลหลัก ปริมาณในการซื้ออาหารสุนัขร้อยละ 37.50 ซื้อผลิตภัณฑ์ขนาด 3.1-7 กิโลกรัม และมีค่าใช้จ่ายในการซื้ออาหารสุนัขร้อยละ 23.44 มากกว่า 1,000 บาทต่อครั้ง สถานที่ในการซื้ออาหารสุนัขร้อยละ 46.88 ซื้ออาหารสุนัขที่ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง ร้อยละ 42.97 ตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์จากการโฆษณา ผู้เลี้ยงสุนัขร้อยละ 67.19 มีความภักดีต่อตราสินค้า คือซื้อผลิตภัณฑ์ตราสินค้าเดิมเป็นประจำ และร้อยละ 32.81 ไม่ภักดีต่อตราสินค้าเดิม โดยให้เหตุผลในการเปลี่ยนตราสินค้าว่า ร้อยละ 26.53 อยากให้สุนัขได้รับอาหารรสชาติใหม่ ร้อยละ 1.56 ความสะดวกในการซื้อผลิตภัณฑ์ ณ เวลาที่ผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายต้องการซื้อ และร้อยละ 0.78 เพราะส่วนลดและของแถมที่มากับผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 จำนวนของกลุ่มประชากร จำแนกตามพฤติกรรม หลักเกณฑ์ และเหตุผลในการใช้/ซื้อ
อาหารสุนัขชนิดเม็ด

N=128

พฤติกรรม	ร้อยละ
เหตุผลในการซื้อผลิตภัณฑ์	
ราคา	13.28
สารอาหารครบถ้วน	50.00
หาซื้อง่าย	19.53
อื่นๆ	17.19
ขนาดบรรจุภัณฑ์ (ปริมาณ)	
0.5 กิโลกรัม	2.34
1.0-3.0 กิโลกรัม	31.25
3.1-7.0 กิโลกรัม	37.50
7.1-15.0 กิโลกรัม	21.09
15.0 กิโลกรัมขึ้นไป	8.59
ค่าใช้จ่ายในการซื้ออาหารสุนัขชนิดเม็ด	
น้อยกว่า 50 บาท	1.56
51-250 บาท	14.84
251-400 บาท	10.94
401-600 บาท	21.09
601- 800 บาท	11.72
801-1,000 บาท	16.41
มากกว่า 1,000 บาท	23.44
สถานที่ซื้อ	
คลินิก/โรงพยาบาลสัตว์	6.25
ซูเปอร์มาร์เกต/ห้างสรรพสินค้า	22.66
ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง	46.88
ร้านจำหน่ายสินค้าลดราคาขนาดใหญ่	21.88
ตลาดนัด	2.34

ตารางที่ 14 (ต่อ)

N=128

พฤติกรรม	ร้อยละ
สิ่งที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์	
เจ้าของร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์	25.00
สัตวแพทย์	19.53
เพื่อน	10.94
ผู้เพาะพันธุ์สุนัข	1.56
การโฆษณา	42.97
ความภักดีต่อตราสินค้า	
ภักดี	67.19
ไม่ภักดี	32.81
สาเหตุของการเปลี่ยนตราสินค้า	
ให้สุนัขได้รับรสชาติใหม่ๆ	26.53
ความสะดวกในการซื้อ	1.56
ส่วนลด/ของแถม	0.78
อื่นๆ	3.91

หมายเหตุ N คือ จำนวนผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี

หลักเกณฑ์ที่ผู้เลี้ยงสุนัขใช้ในการพิจารณาเลือกซื้ออาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดให้แก่สุนัข ดังแสดงในตารางที่ 15 โดยข้อมูลตัวเลขในตารางอธิบายถึง ความถี่ของการเลือก ลำดับความสำคัญของ หลักเกณฑ์การตัดสินใจในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด โดยเรียงลำดับเกณฑ์ที่ใช้ในการพิจารณาเลือกซื้อ จากลำดับ 1-7 โดยการเลือกอันดับ 1 หมายถึงให้ความสำคัญมากที่สุด และ การเลือกอันดับ 7 หมายถึงให้ความสำคัญน้อยที่สุด จากการออกแบบสอบถามพบว่า ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับเกณฑ์คุณค่าสารอาหาร เป็น เกณฑ์ที่ให้ความสำคัญมากที่สุดได้จากค่าความถี่ของการเลือกลำดับเกณฑ์คุณค่าสารอาหารเป็นอันดับ 1 จำนวนผู้บริโภคที่เลือก 49 คน อีกทั้งยังสามารถแบ่งลำดับความสำคัญของเกณฑ์การเลือกซื้อเป็น 4 กลุ่ม โดยใช้ค่า Mean Rank ซึ่งคำนวณได้จากวิธีวิเคราะห์ทางสถิติของ Friedman และวิธี Analog Fisher's LSD_{rank} ดังแสดงในภาคผนวกที่ ก3 มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเรียงลำดับการตัดสินใจของผู้เลี้ยงสุนัขตาม ลำดับความสำคัญของเกณฑ์การเลือกซื้อ จากมากไปน้อย ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือคุณค่า

สารอาหาร มีค่า Mean Rank เท่ากับ 2.38 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ความสะอาดปลอดภัย มีค่า Mean Rank เท่ากับ 3.75 และราคาของผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม มีค่า Mean Rank เท่ากับ 3.62 กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยความมั่นใจในตราสินค้า มีค่า Mean Rank เท่ากับ 4.44 และความสะดวกในการหาซื้อ มีค่า Mean Rank เท่ากับ 4.60 กลุ่มที่ 4 คือ เกณฑ์ที่ให้ความสำคัญน้อยที่สุด ประกอบด้วย ลักษณะของสินค้าดึงดูดใจ มีค่า Mean Rank เท่ากับ 5.79 ซึ่งสอดคล้องกับผลการสำรวจของพัชร (2543) ซึ่งรายงานว่าเหตุผลที่ผู้เลี้ยงสุนัขซื้อผลิตภัณฑ์คือรสชาติที่สุนัขชอบ และคุณค่าสารอาหาร มากกว่าด้านราคา ความมีชื่อเสียงของตราสินค้า และความสะดวกในการซื้อ

ตารางที่ 15 ลำดับการตัดสินใจของผู้เลี้ยงสุนัขต่อเกณฑ์ที่ใช้พิจารณาเลือกซื้ออาหารสุนัข

N = 128

ลำดับการตัดสินใจ	เกณฑ์ที่ใช้พิจารณาเลือกซื้อ						
	ราคาเหมาะสม	ความชอบของสุนัข	ความสะอาดปลอดภัย	ความมั่นใจในตราสินค้า	ความสะดวกในการซื้อ	คุณค่าสารอาหาร	ลักษณะสินค้าดึงดูดใจ
เลือกอันดับ 1	20	32	5	11	10	49	1
เลือกอันดับ 2	24	19	19	24	8	30	4
เลือกอันดับ 3	27	20	28	10	17	17	9
เลือกอันดับ 4	12	17	41	8	18	15	17
เลือกอันดับ 5	16	18	23	23	29	9	10
เลือกอันดับ 6	16	15	10	32	27	6	22
เลือกอันดับ 7	13	7	2	20	19	2	65
Mean Rank	3.62 ^c	3.33 ^c	3.75 ^c	4.44 ^c	4.60 ^b	2.38 ^d	5.79 ^a

หมายเหตุ ^{a-d} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ส่วนที่ 4 ข้อมูลด้านความคิดเห็น และความคาดหวังของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (*Bacillus subtilis*) และพรีไบโอติกผสม (Fructooligosaccharide, FOS และ Mannanooligosaccharide, MOS)

จากข้อมูลความคิดเห็นต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด เสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก ในตารางที่ 16 พบว่าผู้เลี้ยงสุนัขร้อยละ 90.63 ให้ความสนใจต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ และผู้เลี้ยงสุนัขร้อยละ 9.37 ไม่ให้ความสนใจต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

ตารางที่ 16 จำนวนของกลุ่มประชากรจำแนกตามความคิดเห็นต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

N=128	
ความคิดเห็น	ร้อยละ
ความสนใจต่ออาหารสุนัขเสริมโปรไบโอติก และพรีไบโอติก	
สนใจ	90.63
ไม่สนใจ	9.37

หมายเหตุ N คือ จำนวนผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี

เกณฑ์ที่ผู้เลี้ยงสุนัขให้ความสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัข ดังแสดงในตารางที่ 17 โดยข้อมูลตัวเลขในตารางอธิบายถึง ความถี่ของการเลือก ลำดับความสำคัญของหลักเกณฑ์การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด เสริมพรีไบโอติกและโปรไบโอติก โดยเรียงลำดับเกณฑ์ที่ใช้ในการพิจารณา จากลำดับ 1-3 โดยการเลือกอันดับ 1 หมายถึงให้ความสำคัญมากที่สุด และการเลือกอันดับ 3 หมายถึงให้ความสำคัญน้อยที่สุด จากการออกแบบสอบถามพบว่า ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับเกณฑ์ประโยชน์และคุณค่า ของสารอาหาร ที่สุนัขจะได้รับ เป็นเกณฑ์ที่ให้ความสำคัญมากที่สุด โดยดูจากค่าความถี่ของการเลือกลำดับเกณฑ์ ประโยชน์และคุณค่าของสารอาหารที่สุนัขจะได้รับ เป็นอันดับ 1 จำนวนผู้บริโภคที่เลือก 79 คน อีกทั้งยังสามารถแบ่งลำดับความสำคัญของเกณฑ์การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมพรีไบโอติก และโปรไบโอติก เป็น 3 กลุ่ม โดยใช้ค่า Mean Rank (ภาคผนวกที่ 3) มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเรียงลำดับการตัดสินใจของผู้เลี้ยงสุนัขตามลำดับความสำคัญของเกณฑ์การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมพรีไบโอติก และโปรไบโอติก จากมากไปน้อย ดังนี้ เกณฑ์สำคัญมากที่สุด คือ ประโยชน์และคุณค่าของสารอาหารที่สุนัขจะได้รับ มีค่า Mean Rank เท่ากับ 1.36 ลำดับที่ 2 คือ ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของสุนัข มีค่า Mean Rank เท่ากับ 1.87 และลำดับที่ 3 คือ มีลักษณะเป็นที่น่าสนใจ มีค่า Mean Rank เท่ากับ 2.77

ตารางที่ 17 ลำดับเกณฑ์ความสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก และพรีไบโอติก

N = 116

ลำดับการ ตัดสินใจ	เกณฑ์ความสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์		
	ลักษณะเม็ดและบรรจุภัณฑ์	ความชอบของสุนัข	ประโยชน์และสารอาหาร
อันดับ 1	9	28	79
อันดับ 2	9	75	32
อันดับ 3	98	13	5
Mean Rank	2.77 ^a	1.87 ^b	1.36 ^c

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

N คือ จำนวนผู้เลี้ยงสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุ 1-7 ปี และมีความสนใจ ต่ออาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก และพรีไบโอติก

1.3 การสำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่จำหน่ายในท้องตลาด

เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่จำหน่ายในท้องตลาดจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเชิงปริมาณ โดยการออกแบบสอบถามในข้อ 1.2 ทำให้สามารถกำหนดขอบเขตการสำรวจและรวบรวมข้อมูลของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดทางการค้าได้ โดยทำการสำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดสำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย ที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด โดยทำการสำรวจจากแหล่งจำหน่ายสินค้าในกรุงเทพมหานคร จำนวน 4 แหล่ง (10 ร้าน) ได้แก่ ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง โรงพยาบาลสัตว์ ร้านจำหน่ายสินค้าลดราคา คาชานาคนใหญ่ เช่น เทสโก้ โลตัส บิ๊กซี คาร์ฟูร์ และห้างสรรพสินค้า ในเขตกรุงเทพมหานคร ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน 2555 ข้อมูลตราสินค้าของผลิตภัณฑ์ที่ทำการสำรวจมีมากกว่า 30 ตราสินค้า เช่น โรยัล คานิน ยูคานูบา ฮิลล์ ไชน์เอนน์ ไดเอท เอเอนเอฟ ฟินเนเคิล นู-โทรชอยส์ โปรแพค เพดิกรี เอิร์ทเบอร์รี่ สมาร์ท ฮาร์ท อัลโป ทิฟฟานี แม็กชิมาด็อก ค็อกกาสเตอร์ เอโปร คาคินา แมกชิม่าเพ็ทโต และค็อกกาสเตอร์ เป็นต้น รายละเอียดการสำรวจผลิตภัณฑ์อาหาร

สุนัขทางการค้าที่ผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมายให้ความนิยมนำแสดงในตารางที่ 18 และประเภทของอาหารสุนัขชนิดเม็ดที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด จำแนกเป็นหลายประเภทได้แก่

จำแนกตามพันธุ์สุนัข เช่น อาหารสำหรับสุนัขพันธุ์เล็ก กลาง และใหญ่ แต่โดยทั่วไปอาหารสำหรับสุนัขพันธุ์กลางและพันธุ์ใหญ่มักจะใช้ร่วมกัน แตกต่างกันในปริมาณที่ให้สุนัขกินซึ่งขึ้นกับขนาดน้ำหนักตัวของสุนัข

จำแนกตามสายพันธุ์สุนัขแบบเฉพาะเจาะจง เช่น อาหารสำหรับสุนัขพันธุ์ชิววา พันธุ์ปิ๊กพันธุ์พูเคิล พันธุ์ทิปทูล ฯลฯ

จำแนกตามช่วงอายุของสุนัข เช่น อาหารสำหรับลูกสุนัข (ตั้งแต่แรกเกิด-1 ปี) สุนัขโต (1 ปีขึ้นไป-7 ปี) และสุนัขแก่ (มากกว่า 7 ปี)

จำแนกตามสุขภาพของสุนัข เช่น อาหารเพื่อสุขภาพ ได้แก่ อาหารสูตรลดน้ำหนัก บำรุงขน กล้ามเนื้อ อาหารสำหรับสุนัขที่มีโรคประจำตัว เช่น อาหารสูตรสุนัขเป็นโรคไต ภูมิแพ้ เบาหวาน

ตารางที่ 18 รายละเอียดผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดทางการค้าสำหรับสุนัขสายพันธุ์ขนาดกลาง ช่วงอายุโตเต็มวัย

ตราสินค้า	สี	กลิ่นรส	น้ำหนักบรรจุ (กิโลกรัม)	ราคา (บาท)	อายุผลิตภัณฑ์ (เดือน)
Alpo	น้ำตาลแดง	เนื้อวัว ตับ และผัก เนื้อไก่ ตับ และผัก เนื้อแกะ และผัก	0.5 3 10 และ 20	48 220 540 และ 850	12
A-pro	น้ำตาลแดง	เนื้อย่าง ตับย่าง	0.5 3 10 และ 20	56 179 370 และ 670	18
Dog n joy	เหลือง น้ำตาลแดง	ไก่-ตับ เนื้อ-ตับ	0.5 3 10 และ 20	45 220 520 และ 850	12
Pedigree	เหลือง น้ำตาลอ่อน	ตับ ไก่และตับ แกะและข้าว	0.5 1.5 3 และ 10	45 155 595 และ 985	18
Pro pac	น้ำตาล	ไก่ ตับ	3 15 และ 20	630 2,160 และ 2,890	18
Royal Canin	น้ำตาล	ไก่ ตับ	2.26 และ 15	540 และ 2,220	12
Hill Science Diet	น้ำตาล เหลือง	ตับ	1.5	365	18
Smart Heart	ดำน้ำตาล	เนื้ออบ ไก่อบ ตับ	0.5 3 10 และ 20	40 217 565 และ 980	18

2. การศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า

2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ โดยทำบันทึกลักษณะปรากฏของเม็ดอาหารสุนัขทางการค้าทั้ง 8 ตราสินค้า แสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 A-H ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า 8 ตราสินค้า

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า โดยวัด ค่า สี ความหนาแน่นโดยรวม ความแข็งของเม็ดอาหาร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ เม็ดอาหาร และ ค่า วอเตอร์แอคติวิตีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า ทั้ง 8 ตราสินค้า แสดงในตารางที่ 19 และ 20

ความหนาแน่น โดยรวม ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตราสินค้า C G ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยตราสินค้า B และ E มีความหนาแน่นต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ ความหนาแน่นของผลิตภัณฑ์ทั้ง 8 ตราสินค้า อยู่ในช่วง 340-490 กรัมต่อลิตร

สีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) มีค่า 36.43-49.88 สามารถแบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาลออกแดง ได้แก่ B D และ H ซึ่งมีค่า a^* 16.47-21.10 b^* 19.21-36.26 และผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาลออกเหลือง ประกอบด้วย A C E F และ G ซึ่งมีค่า a^* 8.45-9.61 และ b^* 22.82-29.33

ตารางที่ 19 ความหนาแน่นโดยรวม และ ค่าสีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า

ตราสินค้า	ความหนาแน่นโดยรวม (g/L)	ค่าสี		
		L*	a*	b*
A	480±0.009 ^b	48.38±0.31 ^b	8.83±0.09 ^c	24.49±0.31 ^c
B	340±0.001 ^g	42.11±0.57 ^c	21.10±0.55 ^a	19.21±1.16 ^g
C	440±0.008 ^c	49.70±0.18 ^a	8.45±0.11 ^f	27.90±0.21 ^c
D	420±0.002 ^d	49.88±0.17 ^a	17.33±0.10 ^b	36.26±0.29 ^a
E	490±0.001 ^a	36.43±0.16 ^f	9.37±0.11 ^d	22.82±0.28 ^f
F	390±0.001 ^e	43.23±0.41 ^d	8.85±0.10 ^e	26.64±0.25 ^d
G	440±0.001 ^c	49.51±0.29 ^a	9.61±0.13 ^d	29.33±0.46 ^b
H	370±0.002 ^f	45.40±0.24 ^c	16.47±0.16 ^c	23.30±0.22 ^f

หมายเหตุ ^{a-g} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ความแข็งของเม็ดอาหาร ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้า (ดังแสดงในตารางที่ 20) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกตัวอย่าง อย่างชัดเจน โดยผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขตราสินค้า F มีค่าความแข็ง ของเม็ดอาหาร มากที่สุด คือ 162.09 นิวตัน และอาหารสุนัขตราสินค้า B มีความแข็งน้อยที่สุด คือ 57.01 นิวตัน

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้า (ดังแสดงในตารางที่ 20) สามารถแบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเม็ดอาหารขนาดใหญ่ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ตราสินค้า C F B G และ H ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของเม็ดอาหาร 1.361-1.640 เซนติเมตร และผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขที่มีเม็ดอาหารขนาดเล็ก ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ตราสินค้า A D E มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ของเม็ดอาหารขนาด 0.951-1.038 เซนติเมตร

ความหนาของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ อาหารสุนัขชนิดเม็ด (ดังแสดงในตารางที่ 20) สามารถแบ่งผลิตภัณฑ์ เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ B G F และ H ซึ่งมีขนาด ความหนา ของเม็ดอาหาร 0.673-1.031 เซนติเมตร และผลิตภัณฑ์ ตราสินค้า C D E และ A มีความหนา ของเม็ดอาหาร 0.424-0.603 เซนติเมตร

ตารางที่ 20 ความแข็ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาของ เม็ดอาหารของผลิตภัณฑ์อาหาร
สุนัขชนิดเม็ดทางการค้า

ตราสินค้า	ความแข็ง (N)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	ความหนา (cm)
A	149.40±3.49 ^c	1.038±0.05 ^c	0.603±0.03 ^d
B	57.01± 2.45 ^h	1.478±0.05 ^b	1.031±0.06 ^a
C	154.57±1.69 ^b	1.640±0.04 ^a	0.503±0.03 ^c
D	134.01±1.90 ^d	1.114±0.04 ^d	0.424±0.02 ^f
E	84.01±2.44 ^g	0.951±0.04 ^f	0.584±0.05 ^d
F	162.09±2.97 ^a	1.524±0.07 ^b	0.717±0.07 ^b
G	110.20±2.53 ^e	1.364±0.07 ^c	1.019±0.05 ^a
H	105.10±2.04 ^f	1.361±0.04 ^c	0.673±0.05 ^c

หมายเหตุ ^{a-h} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และค่าวอเตอร์แอกติวิตี แสดงในตารางที่ 21 พบว่า

ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า สามารถแบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง ได้แก่ E ซึ่งมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 29.13 ผลิตภัณฑ์ตราสินค้า H G และ F มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง ร้อยละ 23.08-25.27 และผลิตภัณฑ์ตราสินค้า D A และ B มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 17.72-19.94

ปริมาณไขมันของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตราสินค้า C และ A ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยตราสินค้า B และ E มีปริมาณไขมันต่ำสุดและสูงสุด ตามลำดับ ปริมาณไขมันของผลิตภัณฑ์ทั้ง 8 ตราสินค้า อยู่ในช่วง ร้อยละ 6.39-12.04

ปริมาณเยื่อใยของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้าทั้ง 8 ตราสินค้า อยู่ในช่วงร้อยละ 2.09-3.92

ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตราสินค้า C และ F ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยตราสินค้า B และ A มีปริมาณความชื้นต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทั้ง 8 ตราสินค้า อยู่ในช่วง ร้อยละ 6.18-8.66

ปริมาณเถ้าของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตราสินค้า B กับ F และ D กับ G ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยตราสินค้า D และ A มีปริมาณเถ้าต่ำสุดและสูงสุด ตามลำดับ ปริมาณเถ้าของผลิตภัณฑ์ทั้ง 8 ตราสินค้า อยู่ในช่วง ร้อยละ 9.57-4.59

ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด ทางการค้าทั้ง 8 ตราสินค้า มีค่า A_w อยู่ในช่วงต่ำกว่า 0.60 จัดอยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง

ตารางที่ 21 ค่าคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า

ตราสินค้า	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	เยื่อใย (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)	a_w
A	8.66 ^a ±0.12	19.12 ^c ±0.63	9.97 ^c ±0.23	2.40 ^{cd} ±0.12	9.57 ^a ±0.18	0.478 ^c ±0.002
B	6.18 ^g ±0.05	19.94 ^{de} ±1.65	6.39 ^f ±0.09	3.92 ^a ±0.28	6.00 ^e ±0.04	0.440 ^d ±0.001
C	7.91 ^b ±0.10	20.96 ^d ±0.27	9.77 ^c ±0.10	2.86 ^{bcd} ±0.24	7.14 ^c ±0.06	0.502 ^a ±0.003
D	6.49 ^f ±0.09	17.72 ^f ±0.27	10.21 ^b ±0.20	3.74 ^{ab} ±0.18	4.59 ^f ±0.04	0.432 ^e ±0.001
E	7.47 ^d ±0.01	29.13 ^a ±1.13	12.04 ^a ±0.05	3.31 ^{abc} ±0.64	9.10 ^b ±0.09	0.505 ^a ±0.002
F	7.82 ^b ±0.03	25.27 ^b ±0.46	8.89 ^d ±0.12	2.09 ^d ±0.84	6.12 ^c ±0.03	0.492 ^b ±0.010
G	7.68 ^c ±0.09	23.67 ^c ±0.26	7.23 ^e ±0.04	2.21 ^d ±0.22	4.61 ^f ±0.06	0.494 ^b ±0.001
H	6.79 ^c ±0.08	23.08 ^c ±0.10	6.40 ^f ±0.10	3.77 ^{ab} ±1.22	6.98 ^d ±0.03	0.481 ^c ±0.002

หมายเหตุ ^{a-g} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ และเคมีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า ที่เป็นที่นิยม 8 อันดับจากการออกแบบสอบถามพบว่า มีค่าทางกายภาพและเคมี แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกตัวอย่าง แต่จากความนิยมของผู้บริโภคจากการออกแบบสอบถาม พบว่า เจ้าของสุนัข

เลือกใช้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้า D มากที่สุด (ตารางที่ 13) ถึงร้อยละ 26.56 ผู้วิจัยจึงเลือกผลิตภัณฑ์ตราสินค้า D เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ เพื่อทำการผลิตอาหารสุนัขสูตรทดลอง และนำไปสู่การคัดเลือกอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตรพื้นฐาน โดยพิจารณาจากคุณลักษณะทางกายภาพ และเคมีของแต่ละสูตรอาหารสุนัขที่ทำการผลิต

3. การคัดเลือกและพัฒนาอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตรพื้นฐาน

อาหาร สุนัขชนิดเม็ดที่ทำการผลิตเพื่อเป็นอาหารสุนัขสูตรพื้นฐาน เป็นอาหาร สุนัขสำเร็จรูปที่ผลิตตามมาตรฐานความต้องการสารอาหารของ สุนัขช่วงอายุโตเต็มวัย (1-7 ปี) โดยใช้การคำนวณสูตรอาหารด้วยโปรแกรมคำนวณสูตรอาหารสำเร็จรูป FeedLive® ซึ่งมีส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ ในการประกอบสูตรอาหาร สุนัขทดลองทั้ง 5 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 7 ราคาของวัตถุดิบและองค์ประกอบทางโภชนาการของแต่ละสูตรอาหารทดลองทั้ง 5 สูตรอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 22-31

ตารางที่ 22 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 1

วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ราคา (บาท/กิโลกรัม) *
ปลายข้าวบด	21.15	8.00
กากถั่วเหลือง (48%CP)	12.75	14.60
น้ำมันปาล์ม	7.10	18.00
เนื้อและกระดูกป่น	3.00	16.00
ข้าวโพดบด	45.00	8.00
ปลาป่น	5.00	31.93
นมผง	5.00	25.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟส (P18)	1.00	10.50
รวม	100.00	
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	11.86	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)		3,500.00

หมายเหตุ * หมายถึงราคาวัตถุดิบ ณ เดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2555

ตารางที่ 23 องค์ประกอบทางโภชนาในสูตรอาหารทดลองที่ 1

องค์ประกอบทางโภชนาที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ)			
โปรตีน	18.00	ทริปโตเฟน	0.24
ไขมัน	10.00	วาเลอีน	0.93
เยื่อใย	3.61	กรดลิโนลิก	1.65
ฟอสฟอรัส	0.73	ฟีนอลอะลานีน+ไทโรซีน	1.13
แคลเซียม	0.96	เมทไทโอนีน+ซิสทีน	0.56
อาร์จินีน	1.12	ทรีโอนีน	0.72
ฮิสทีดีน	0.51	ไลซีน	0.94
ไอโซลิวซีน	0.74	ลิวซีน	1.64

ตารางที่ 24 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 2

วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม) *
ปลายข้าวบด	29.43	8.00
กากถั่วเหลือง (48%CP)	3.55	14.60
น้ำมันปาล์ม	6.97	18.00
ข้าวโพดบด	39.83	8.00
ปลาป่น	5.00	31.93
นมผง	0.74	25.00
แป้งสาลี	3.00	23.00
ขนไก่ป่น	5.00	22.00
โปรตีนข้าวโพด	5.00	30.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (P18)	1.48	10.50
รวม	100.00	
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	12.54	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)		3,500.00

หมายเหตุ * หมายถึงราคาวัตถุดิบ ณ เดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2555

ตารางที่ 25 องค์ประกอบทางโภชนาในสูตรอาหารทดลองที่ 2

องค์ประกอบทางโภชนาที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ)			
โปรตีน	18.00	ไลซีน	0.64
ไขมัน	10.00	ทรีโอนีน	0.71
เยื่อใย	4.00	ทรีโอนีน	0.71
ฟอสฟอรัส	0.65	ทริปโตเฟน	0.16
แคลเซียม	0.89	วาเลีน	0.87
อาร์จินีน	1.06	กรดลิโนเลอิก	6.05
ฮิสทีดีน	0.39	เมทไทโอนีน+ซิสทีน	0.68
ไอโซลิวซีน	0.73	ฟีนิลอะลานีน+ไทโรซีน	1.22
ลูซีน	1.56		

ตารางที่ 26 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 3

วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)*
ปลายข้าวบด	20.00	8.00
กากถั่วเหลือง (48%CP)	15.64	14.60
น้ำมันปาล์ม	7.25	18.00
ข้าวโพดบด	43.47	8.00
รำข้าว	3.70	8.00
แป้งสาลี	1.00	23.00
โปรตีนข้าวโพด	7.30	30.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟต 18%	1.64	10.50
รวม	100.00	
ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	11.55	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)		3,500.00

หมายเหตุ * หมายถึงราคาวัตถุดิบ ณ เดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2555

ตารางที่ 27 องค์ประกอบทางโภชนาในสูตรอาหารทดลองที่ 3

องค์ประกอบทางโภชนาที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ)			
โปรตีน	18.00	ทรีโอนีน	0.69
ไขมัน	10.00	วาลีน	0.89
เยื่อใย	4.00	กรดกลูตามิก	7.44
ฟอสฟอรัส	0.61	ทรีปโตเฟน	0.17
แคลเซียม	0.60	ฟีนิลอะลานีน+ไทโรซีน	1.42
อาร์จินีน	1.08	เมทไทโอนีน+ซิสทีน	0.60
ฮิสทีดีน	0.49	ไลซีน	0.77
ไอโซลิวซีน	0.75	ลิวซีน	1.97

ตารางที่ 28 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 4

วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)*
ปลายข้าวบด	11.75	8.00
กากถั่วเหลือง (48%CP)	15.46	14.60
น้ำมันปาล์ม	6.94	18.00
ข้าวโพดบด	55.08	8.00
เกลือ	1.95	2.60
ปลาป่น	5.00	31.93
โปรตีนข้าวโพด	3.00	30.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟส 18%	0.82	10.50
รวม	100.00	
ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	11.49	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)		3,500.00

หมายเหตุ * หมายถึงราคาวัตถุดิบ ณ เดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2555

ตารางที่ 29 องค์ประกอบทางโภชนาในสูตรอาหารทดลองที่ 4

องค์ประกอบทางโภชนาที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ)			
โปรตีน	18.00	ทรีโอนีน	0.70
ไขมัน	10.00	วาลีน	0.89
เยื่อใย	3.00	กรดลิโนเลอิก	3.46
ฟอสฟอรัส	0.57	ทรีปโตเฟน	0.17
แคลเซียม	0.60	ฟีนิลอะลานีน+ไทโรซีน	1.26
อาร์จินีน	1.10	เมทไทโอนีน+ซิสทีน	0.56
ฮิสทีดีน	0.51	ไลซีน	0.84
ไอโซลิวซีน	0.73	ลิวซีน	1.81

ตารางที่ 30 ส่วนประกอบและราคาวัตถุดิบในสูตรอาหารทดลองที่ 5

วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)*
ปลายข้าวบด	10.00	8.00
กากถั่วเหลือง (48%CP)	10.41	14.60
น้ำมันปาล์ม	5.92	18.00
ข้าวโพดบด	49.38	8.00
เกลือ	2.76	2.60
รำข้าว	10.00	8.00
โปรตีนข้าวโพด	7.00	30.00
ชนไก่ปั่น	3.00	22.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟส 18%	1.53	10.50
รวม	100.00	
ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	11.13	
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)		3,500.00

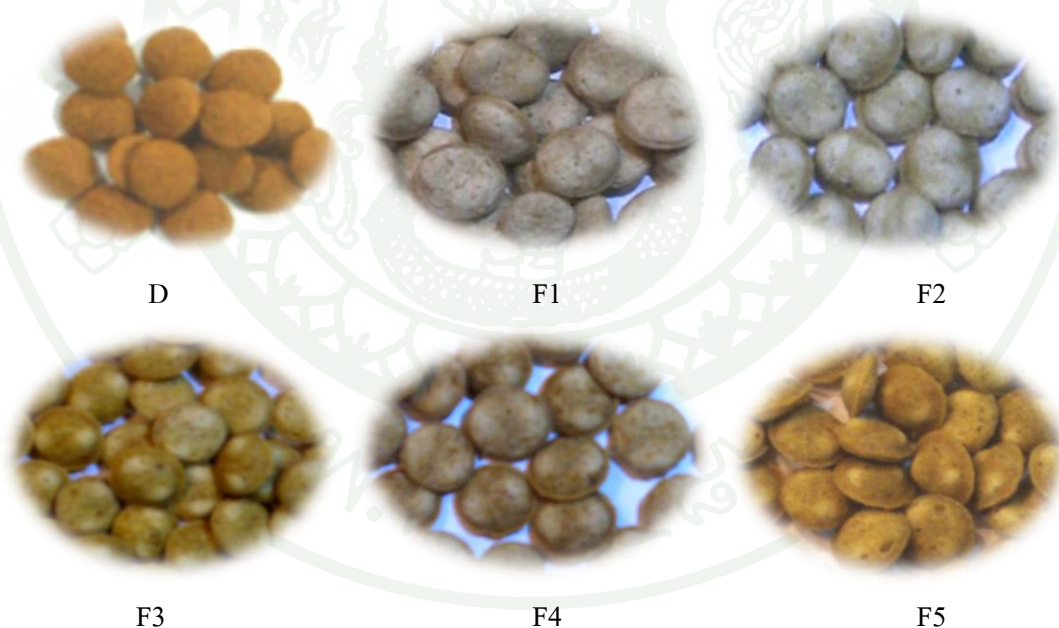
หมายเหตุ * หมายถึงราคาวัตถุดิบ ณ เดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2555

ตารางที่ 31 องค์ประกอบทางโภชนาในสูตรอาหารทดลองที่ 5

องค์ประกอบทางโภชนาที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ)			
โปรตีน	18.00	ทริปโตเฟน	0.16
ไขมัน	10.00	วาเลิน	0.86
เยื่อใย	3.67	กรดลิโนเลอิก	8.63
ฟอสฟอรัส	0.68	ทรีโอนีน	0.69
แคลเซียม	0.60	ฟีนิลอะลานีน+ไทโรซีน	0.64
อาร์จินีน	1.06	เมทไทโอนีน+ซิสทีน	0.67
ฮิสทีดีน	0.43	ลิวซีน	1.79
ไอโซลิวซีน	0.74		

จากการผลิตอาหารสูตรทดลองทั้ง 5 สูตร พบว่าอาหารแต่ละสูตรมีลักษณะปรากฏของเม็ดอาหาร ดังแสดงในภาพที่ 4 ผิวของเม็ดอาหารค่อนข้างเรียบเนียน มีรูพรุนเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป ค่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี ของอาหาร สูตรสูตรทดลอง แต่ละสูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 32 33 และ 34 พบว่าอาหารสูตรทดลอง F3 และ F5 มีค่าความหนาแน่น ความแข็ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดอาหาร และความหนาอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากวัตถุดิบในการประกอบสูตรประกอบด้วยวัตถุดิบกลุ่มโปรตีนค่อนข้างมาก ได้แก่ กากถั่วเหลือง ขนไก่ป่น และโปรตีนข้าวโพด อีกทั้งยังใส่รำข้าว ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีน้ำมันเป็น องค์ประกอบด้วย จึงมีผลในการขัดขวางการเกิดโครงสร้างทางธรรมชาติของแป้ง และการพองของเม็ดอาหาร จึงทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร และความหนามีค่าน้อยที่สุด เป็นผลทำให้เม็ดอาหารมีค่าความหนาแน่น และความแข็งมีค่ามากกว่าที่สุด อาหารสูตรทดลอง F1 และ F2 มีค่าความหนาแน่น ความแข็ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดอาหาร และความหนา ใกล้เคียงกันเนื่องจากอาหารทดลองทั้งสองสูตรมีวัตถุดิบที่ประกอบเป็นสูตรอาหารเป็นวัตถุดิบกลุ่มแป้งค่อนข้างมาก ได้แก่ ข้าวโพดบด ปลาช่อนบด แป้งสาลี จึงทำให้เกิดโครงสร้างของเม็ดอาหารมีผลต่อความพองตัวของเม็ดอาหาร โดยดูได้จากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร และความหนามีค่ามากที่สุด เป็นผลทำให้เม็ดอาหารมีค่าความหนาแน่น และค่าความแข็งน้อย ที่สุด ด้วยเหตุผล จากวัตถุดิบในการประกอบสูตรมีความแตกต่างกัน จึงทำให้ค่าคุณภาพทางกายภาพและเคมีของทุกสูตรอาหารมีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม ค่าคุณภาพทางเคมีของ อาหาร สูตรสูตร ทดลองทุกสูตรก็ เป็นไปตามข้อกำหนด ของปริมาณสารอาหารสำหรับสุนัขช่วงอายุโตเต็มวัย ดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนั้นในการคัดเลือกสูตรอาหารสุนัขเพื่อผลิตเป็นอาหารสุนัขสูตรอาหารพื้นฐาน ผู้วิจัยทำการ คัดเลือกจากอาหารสุนัขสูตร ทดลองที่มีค่า

คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีใกล้เคียงกับอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (ตราสินค้า D) และใกล้เคียงกับค่าคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีในตารางหลักเกณฑ์คุณสมบัติทางกายภาพและปริมาณสารอาหารในการพิจารณาเลือกอาหารสุนัขสูตรพื้นฐาน (ตารางที่ 8) มากที่สุด โดยอาหารสุนัขที่ทำการผลิตขึ้นควรมีค่าความหนาแน่นโดยรวมอยู่ในช่วง 450-600 กรัม/ลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร 0.5-1 เซนติเมตร มีปริมาณโปรตีน มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 18 ปริมาณไขมัน มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 และปริมาณเยื่อใย น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 3 ซึ่งอาหารสุนัขสูตรทดลองที่ผ่านการคัดเลือกคือ อาหารสุนัขสูตร ทดลองที่ F4 โดยดูได้จากค่าความหนาแน่น ความแข็ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาของเม็ดอาหารใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ตราสินค้า D โดยสูตรดังกล่าวมีค่าความหนาแน่นโดยรวมเท่ากับ 440 กรัม/ลิตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหาร 0.943 เซนติเมตร ปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 36.14 ปริมาณไขมัน เท่ากับร้อยละ 7.80 และปริมาณเยื่อใยเท่ากับร้อยละ 3.35 เพื่อผลิตเป็นอาหารสุนัขสูตรพื้นฐาน และทำการพัฒนาในขั้นตอนต่อไป โดยทำการพัฒนาเป็นอาหารสุนัขชนิดเม็ด เสริมพรีไบโอติก ได้แก่ Fructooligosaccharide (FOS) และ Mannanooligosaccharide (MOS) และ โปรไบโอติก ได้แก่ *B. subtilis*



ภาพที่ 4 ลักษณะปรากฏของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้า D) และอาหารสูตรทดลอง

ตารางที่ 32 ค่าทางกายภาพของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้า D) และอาหารสูตรทดลอง

สูตร	ความหนาแน่น (g/L)	ความแข็ง (N)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	ความหนา (cm)
D	420 ^d ±0.002	134.01 ^b ±1.90	1.114 ^a ±0.040	0.424 ^c ±0.020
F1	350 ^c ±0.001	100.53 ^d ±4.81	1.010 ^b ±0.061	0.483 ^b ±0.055
F2	290 ^f ±0.001	79.17 ^c ±1.40	1.053 ^b ±0.069	0.555 ^a ±0.065
F3	500 ^b ±0.001	149.26 ^a ±1.65	0.897 ^d ±0.041	0.358 ^d ±0.116
F4	440 ^c ±0.005	115.82 ^c ±2.75	0.943 ^c ±0.044	0.402 ^{cd} ±0.032
F5	530 ^a ±0.003	149.08 ^a ±2.84	0.875 ^d ±0.041	0.395 ^{cd} ±0.011

หมายเหตุ ^{a-f} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการผลิตอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ด้วยวัตถุดิบในการประกอบสูตรมีความแตกต่างกัน จึงทำให้ค่าคุณภาพทางกายภาพโดยเฉพาะค่าสีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกๆ ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 33

ตารางที่ 33 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้า D) และอาหารสูตรทดลอง

สูตร	ค่าสี		
	L*	a*	b*
D	49.88 ^a ±0.17	17.33 ^b ±0.10	36.26 ^a ±0.29
F1	67.99 ^d ±0.35	4.95 ^c ±0.19	28.08 ^c ±0.84
F2	70.57 ^b ±0.25	4.13 ^d ±0.06	32.11 ^d ±0.25
F3	71.91 ^a ±0.21	4.97 ^c ±0.15	39.23 ^a ±0.46
F4	66.68 ^c ±0.31	5.08 ^c ±0.07	34.15 ^c ±0.35
F5	69.52 ^c ±0.27	5.51 ^b ±0.14	38.87 ^a ±0.23

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 34 ค่าทางเคมีของอาหารสุนัขสูตรต้นแบบ (อาหารสุนัขทางการค้าตราสินค้า D) และอาหารสูตรทดลอง

สูตรอาหาร	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	เยื่อใย (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)	a_w
D	6.49 ^a ±0.09	17.72 ^d ±0.27	10.21 ^a ±0.20	3.74 ^{ab} ±0.18	4.59 ^f ±0.04	0.432 ^e ±0.001
F1	5.25 ^c ±0.04	34.26 ^c ±0.37	9.03 ^{bc} ±0.53	2.16 ^d ±0.06	4.37 ^e ±0.58	0.353 ^c ±0.001
F2	4.07 ^f ±0.03	35.55 ^{bc} ±1.46	9.13 ^b ±0.04	2.12 ^d ±0.24	3.63 ^d ±0.48	0.259 ^f ±0.002
F3	5.43 ^b ±0.04	36.55 ^a ±0.47	9.46 ^b ±0.52	3.02 ^{bc} ±0.18	3.38 ^d ±0.04	0.358 ^b ±0.004
F4	4.89 ^d ±0.03	36.14 ^{ab} ±0.42	7.80 ^d ±0.11	3.35 ^{ab} ±0.36	5.58 ^b ±0.07	0.317 ^e ±0.001
F5	4.70 ^e ±0.05	36.57 ^{ab} ±0.06	8.24 ^{cd} ±0.55	2.69 ^c ±0.18	6.20 ^a ±0.07	0.321 ^d ±0.003

หมายเหตุ ^{a-f} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4. การพัฒนาสูตรและศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมพรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS) และโปรไบโอติก (*B. subtilis*)

4.1 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพของอาหารสูตรพื้นฐานที่มีการเสริม FOS และ MOS ในปริมาณร้อยละ 1 และ 2 ของสูตรอาหาร มีลักษณะปรากฏของเม็ดอาหารดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ลักษณะปรากฏของอาหารสุนัขสูตรอาหารควบคุม (T1 สูตรอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการเติมพรีไบโอติกและโปรไบโอติก สูตรเสริม FOS และ MOS ร้อยละ 1 (T2) และ 2 (T3))

ผลของการเติมฟรุโบโอติกผสมลงในสูตรพื้นฐานมีผลต่อค่าคุณภาพทางกายภาพดังแสดงในตารางที่ 35 พบว่า สูตร T3 ซึ่งมีการเติม FOS และ MOS ร้อยละ 2 มีผลทำให้ความหนาแน่นโดยรวมเพิ่มขึ้น เส้นผ่านศูนย์กลางและความแข็งลดลง และแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสูตร T1 และสูตร T2 เนื่องจากการเติม FOS และ MOS ซึ่งเป็น non-starch polysaccharide ในส่วนประกอบของอาหารสุนัข ถือเป็นการเพิ่มส่วนของเยื่อใยจึงขัดขวางการเกิดโครงสร้างของแป้งในเม็ดอาหาร ทำให้ความแข็งแรงของโครงสร้างและการพองตัวของเม็ดอาหารลดลง อีกทั้งยังส่งผลโดยตรงต่อขนาดและความหนาแน่นของเม็ดอาหารที่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 35 ค่าความหนาแน่นความแข็งและขนาดเม็ดของอาหารสุนัขสูตร T1 สูตร T2 และ T3

สูตร	ความหนาแน่น (g/L)	ความแข็ง (N)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	ความหนา (cm)
T1	492.00 ^b ±0.00	98.24 ^a ±17.36	0.997 ^a ±0.245	0.603 ^a ±0.237
T2	478.67 ^c ±2.30	99.14 ^a ±18.16	0.991 ^a ±0.265	0.621 ^a ±0.260
T3	541.33 ^a ±4.61	87.57 ^b ±19.47	0.925 ^b ±0.169	0.604 ^a ±0.355

หมายเหตุ ^{a,c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สูตร T3 ซึ่งมีการเติมการเติม FOS และ MOS ลงในสูตรอาหารสุนัขปริมาณร้อยละ 2 มีผลต่อค่าสีของเม็ดอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 36 โดยพบว่าทำให้ค่าความสว่าง และค่าความเป็นสีแดงของเม็ดอาหารลดลง แต่ค่าความเป็นสีเหลืองของเม็ดอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 36 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตรควบคุม (T1) สูตรสูตรที่มีการเสริมฟรุโบโอติก (T2 และ T3)

สูตร	ค่าสี		
	L*	a*	b*
T1	65.30 ^a ±0.12	9.08 ^b ±0.06	29.82 ^a ±0.11
T2	65.31 ^a ±0.06	9.08 ^b ±0.03	29.61 ^a ±0.12
T3	63.98 ^b ±0.12	9.29 ^a ±0.07	29.30 ^b ±0.19

หมายเหตุ ^{a,c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลของการเติมฟรีไบโอติกผสม FOS และ MOS ลงในสูตรอาหารพื้นฐาน มีค่าคุณภาพทางเคมีแสดงในตารางที่ 37 โดยพบว่า อาหารสูตร T2 และ T3 ที่มีการเติมฟรีไบโอติกผสม FOS และ MOS ในระดับร้อยละ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งฟรีไบโอติกผสมเปรียบได้กับการเติมเยื่อใย แต่ในการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยมีปริมาณน้อยที่สุด เนื่องจากปริมาณเยื่อใยที่แสดงในตารางเป็นค่าปริมาณเยื่อใยหยาบ (crude fiber) แต่ FOS และ MOS เป็นส่วนของเยื่อใยที่สามารถละลายน้ำ (soluble fiber) ได้ ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณเยื่อใยน้อยกว่าสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมฟรีไบโอติกผสม (T1)

ตารางที่ 37 ค่าทางเคมีของอาหารสุนัขสูตร T1 สูตรเสริมฟรีไบโอติกผสมร้อยละ 1 (T2) และ 2 (T3)

สูตร	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	เยื่อใย (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)	a _w
T1	6.78 ^a ±0.17	18.95 ^a ±0.33	8.13 ^a ±0.33	3.58 ^a ±0.06	4.62 ^a ±0.09	0.350 ^a ±0.01
T2	6.68 ^a ±0.28	19.58 ^a ±0.65	7.66 ^a ±0.21	3.64 ^a ±0.05	4.67 ^a ±0.06	0.369 ^a ±0.02
T3	6.62 ^a ±0.14	18.93 ^a ±0.05	6.62 ^b ±0.11	3.46 ^b ±0.00	4.49 ^b ±0.08	0.344 ^a ±0.00

หมายเหตุ ^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2 ศึกษาปริมาณเริ่มต้นของผง สปอร์ *B. subtilis* ที่เหมาะสมต่อการ ฟันเคลือบบน เม็ดอาหาร จากการนำสูตรอาหาร T2 และ T3 มาทดลองเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* ในปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับและทำการวัดปริมาณ *B. subtilis* (ภาคผนวก ง) ที่เคลือบบนเม็ดอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 38 พบว่า การเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* ในปริมาณเริ่มต้นที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1 3 และ 5 กรัม ทำให้มีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* คงเหลือบนเม็ดอาหารแตกต่างกัน โดยปริมาณ ผงสปอร์ *B. subtilis* เริ่มต้นควรเป็น 5 กรัมต่ออาหาร 500 กรัม หรือเท่ากับร้อยละ 1 ของปริมาณอาหารที่จะทำการเคลือบ เพื่อเตรียมละลายกับ MRD 50 มิลลิลิตร และทำเป็นสารละลายไว้ฟันเคลือบบนเม็ดอาหาร เนื่องจากปริมาณผงสปอร์ *B. subtilis* ดังกล่าว ทำให้ปริมาณ *B. subtilis* เหลือบนเม็ดอาหารอย่างน้อย 10^5 โคโลนีต่อยูนิต/วัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539

ตารางที่ 38 ปริมาณ *B. subtilis* ในอาหารสุนัขหลังผ่านกระบวนการผลิต

Treatment	ปริมาณ <i>B. subtilis</i> (CFU/g อาหาร)
T2+A	2.0×10^3
T2+B	3.5×10^4
T2+C	5.7×10^5
T3+A	2.6×10^3
T3+B	4.4×10^4
T3+C	6.5×10^5

หมายเหตุ A: ผง *B. subtilis* 1 กรัม B: ผง *B. subtilis* 3 กรัม C: ผง *B. subtilis* 5 กรัม

4.3 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพของเม็ดอาหารที่ผ่านการเคลือบและมีปริมาณผงสปอร์

B. subtilis คงเหลือบนเม็ดอาหารตามข้อกำหนด โดยนำอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตร T2+C และ T3+C จากการทดลองในข้อ 4.2 ที่ผ่านการเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* ร้อยละ 1 (ผงสปอร์ *B. subtilis* 5 กรัม) มาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ ซึ่งได้แก่ ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และค่าสีของเม็ดอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 39 และ 40 พบว่า คุณภาพทางกายภาพของเม็ดอาหารที่ผ่านการเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* บนเม็ดอาหารมีผลต่อปริมาณความสว่างของเม็ดอาหาร โดยทำให้เม็ดอาหารมีความสว่างลดลงและแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเม็ดอาหารสูตรควบคุมที่ไม่ผ่านการเคลือบโปรไบโอติก (T1) อีกทั้งการเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* ยังมีผลต่อปริมาณความชื้น และน้ำอิสระของเม็ดอาหารโดยทำให้คุณลักษณะทั้งสองมีปริมาณเพิ่มขึ้นและแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับเม็ดอาหารที่ไม่ได้เคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* (T1) เนื่องจากเม็ดอาหารที่ผ่านการเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis* นั้นจำเป็นต้องละลายผงสปอร์ *B. subtilis* ใน Maximum recovery diluents (MRD) ซึ่งเป็นของเหลวมีน้ำเป็นส่วนประกอบในสารละลายจึงทำให้ปริมาณความชื้นและน้ำอิสระเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 39 ค่าทางกายภาพ ความชื้น และ ปริมาณ น้ำอิสระ ของอาหารสุนัขสูตร T2 และ T3 เปรียบเทียบกับอาหารสุนัขคลีออบผงสปอร์ *B. subtilis*

สูตร	ความหนาแน่น (g/L)	ความแข็ง (N)	ความชื้น (ร้อยละ)	a_w
T1	492.00 ^c ±0.00	98.24 ^{ab} ±17.36	6.78 ^b ±0.17	0.350 ^b ±0.015
T2	478.67 ^d ±2.30	99.14 ^{ab} ±18.16	6.68 ^b ±0.28	0.369 ^b ±0.024
T3	541.33 ^b ±4.61	87.57 ^{bc} ±19.47	6.62 ^b ±0.14	0.344 ^b ±0.001
T2+C	492.00 ^c ±0.00	100.58 ^a ±18.04	7.86 ^a ±0.16	0.428 ^a ±0.009
T3+C	546.67 ^a ±2.31	91.73 ^{bc} ±15.50	7.62 ^a ±0.27	0.429 ^a ±0.007

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 40 ค่าสีของเม็ดอาหารสุนัขสูตร T2 และ T3 หลังเคลือบผงสปอร์ *B. subtilis*

สูตร	ค่าสี		
	L*	a*	b*
T1	65.30 ^a ±0.12	9.08 ^b ±0.06	29.82 ^a ±0.11
T2	65.31 ^a ±0.06	9.08 ^b ±0.03	29.61 ^a ±0.12
T3	63.98 ^c ±0.12	9.29 ^a ±0.07	29.30 ^b ±0.19
T2+C	64.91 ^b ±0.02	9.20 ^{bc} ±0.06	29.41 ^{bc} ±0.11
T3+C	63.29 ^d ±0.30	9.54 ^a ±0.10	29.56 ^{bc} ±0.14

หมายเหตุ ^{a-d} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

5. การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัขเสริม *B. subtilis* และฟรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS)

5.1 ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขทดลอง ทั้ง 12 ตัว ตลอดการทดลอง 21 วัน แสดงปริมาณอาหารเป็นปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อตัว ดังแสดงในตารางที่ 41a-41c พบว่าปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขแต่ละตัวมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งปริมาณการกิน ที่ไม่เท่ากันของสุนัขอาจทำให้เกิดผลต่อการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่ดี และลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ดังแสดงในตารางที่ 43

ตารางที่ 41a ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 1-4 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน

สูตรอาหาร	สุนัขตัวที่	ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย (กรัม)
T1	1	157.48 ^c ±55.71
	2	246.71 ^a ±65.89
	3	209.67 ^b ±63.36
	4	281.71 ^a ±55.15

หมายเหตุ ^{ac} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 41b ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 5-8 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน

สูตรอาหาร	สุนัขตัวที่	ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย (กรัม)
T2+C	5	300.00 ^a ±0.00
	6	295.71 ^a ±13.54
	7	299.57 ^a ±1.96
	8	250.81 ^b ±59.33

หมายเหตุ ^{ab} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 41c ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยของสุนัขตัวที่ 9-12 ตลอดการทดลองเป็นเวลา 21 วัน

สูตรอาหาร	สุนัขตัวที่	ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย (กรัม)
T3+C	9	267.90 ^a ±66.96
	10	212.86 ^b ±48.10
	11	188.83 ^b ±70.60
	12	180.95 ^b ±96.23

หมายเหตุ ^{ab} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

5.2 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพของ มูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลอง โดยการให้คะแนนมูลสุนัข (feces score) ความหมายของคะแนนมูลสุนัข (ตามวิธีการทดลองข้อ 5.3) คะแนน 1-5 (ภาพที่ 6) และผลคะแนนมูลสุนัข (ตารางที่ 42)



ภาพที่ 6 ลักษณะมูลสุนัขตามความหมายของคะแนนลักษณะปรากฏ สเกล 1-5

ที่มา : Sa-fortes (2000)

หลังจากการให้อาหารทดลองทั้ง 3 สูตร เป็นเวลา 7 วัน ทำการ จดบันทึกคะแนนมูลสุนัข เป็นเวลา 14 วันสุดท้ายของการทดลอง พบว่า คะแนนมูลสุนัข (ตารางที่ 42) ของสุนัขที่ได้รับอาหารเสริมฟรีไบโอติกผสม FOS และ MOS ในปริมาณร้อยละ 1 (T2+C) มีคะแนนลักษณะปรากฏของมูลสุนัขเพิ่มขึ้น เพราะฟรีไบโอติกเป็นส่วน ของอาหาร ที่ย่อยไม่ได้ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว จึงมีผลโดยตรงต่อความหนาแน่น และลักษณะ ปรากฏทางกายภาพของมูลสุนัข (Schneeman, 1999) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ananda (2013) ที่กล่าวว่า ลักษณะทางกายภาพของมูลสุนัข ถือว่าเป็นดัชนีชี้วัด สำคัญที่บ่งบอกถึงสุขภาพที่ดีของสุนัข โดยงานวิจัยของ Ananda เมื่อให้สุนัขได้รับอาหารเสริม FOS พบว่า มีส่วนหนึ่งในมูลสุนัขเพิ่มขึ้น เป็นผลให้คะแนนลักษณะทางกายภาพของมูลสุนัขเพิ่มขึ้น แต่การเติมฟรีไบโอติกที่ปริมาณร้อยละ 2 (T3+C) มีผลให้คะแนนมูลสุนัขลดลง เนื่องจากปริมาณฟรีไบโอติกที่เพิ่ม มากขึ้น ทำให้เกิดกระบวนการหมักในลำไส้ใหญ่ผลิต lactate ในปริมาณมากส่งผลต่อกา รลดการดูดกลับของน้ำในลำไส้ จึงทำให้ในมูลสุนัขมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น มีผลทำให้มูลสุนัขนี้จึงทำให้คะแนนมูลสุนัขเฉลี่ยลดลง (Rowe *et al.*, 1997)

ตารางที่ 42 คะแนนลักษณะปรากฏของมูลสุนัขเฉลี่ย

สูตรอาหาร	คะแนนมูลสุนัขเฉลี่ย
T1	2.23 ^c ±0.10
T2+C	4.29 ^a ±0.14
T3+C	3.67 ^b ±0.17

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัข โดยการตรวจนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี (*Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp.) และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (*E. coli*) ในมูลสุนัข มีผลดังแสดงในตารางที่ 43 พบว่า ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. และ *E. coli* ในมูลสุนัขที่ได้รับอาหาร ทั้ง 3 สูตร (T1 T2+C และ T3+C) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในอาหารทดลองสูตร T2+C มีแนวโน้มทำให้ปริมาณ *Bifidobacterium* spp. เพิ่มขึ้น และปริมาณ *E. coli* ลดน้อยลงกว่าอาหารสูตรควบคุม และสูตร T3+C ในส่วนของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. ในมูลสุนัขที่ได้รับอาหารทั้ง 3 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยอาหารสุนัขสูตร T2+C มีปริมาณ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ในมูลสุนัขมากที่สุด ซึ่งจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ต่อร่างกายสุนัข สาเหตุที่ปริมาณ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ในมูลสุนัขที่ได้รับอาหารผสมพรีไบโอติกมีปริมาณมากกว่ามูลสุนัขที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม เนื่องจาก พรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS) เป็นส่วนของอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้เล็ก จึงถูกส่งผ่านไปยังลำไส้ใหญ่และเกิด กระบวนการหมักที่ส่งผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium* spp. (Bunce *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามการที่ปริมาณจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* spp. ในมูลสุนัขที่ได้รับอาหารผสมพรีไบโอติกผสม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นั้น อาจเนื่องมาจากปริมาณ *Bifidobacterium* spp. ในมูลสุนัขตัวที่ 8 แตกต่างจากตัวที่ 5-7 (ตารางผนวกที่ ง1) จึงทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ *Bifidobacterium* spp. ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหารสุนัขสูตรควบคุม (T1) นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของ ปริมาณ *Bifidobacterium* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารแบคทีริโอ ซิน (bacteriocin) ซึ่งมีฤทธิ์ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *E.coli* (Wang and Gibson, 1993) จึงมีผลต่อแนวโน้มการลดลง ของปริมาณ *E.coli* ในมูลของสุนัข ของสุนัขที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก ผสม FOS และ MOS อีกทั้งยัง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Newman (1994) ที่กล่าวว่า MOS มีผลต่อการกดซับ เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่ *Salmonella* *Clostridium* และ *E.coli* นอกจากนี้งานวิจัยของ La Ragione (2001) กล่าวว่า ในระบบ

ทางเดินอาหารของไก่ที่มี *B. subtilis* มีผลต่อการลดปริมาณ และการจำกัดการอยู่รอดของ *E. coli* ในลำไส้ของไก่ อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ นวลจันทร์ และคณะ (2553) พบว่า การให้โปรไบโอติกในสูตรอาหารมีผลทำให้ ปริมาณของเชื้อ *E. coli* ลดลงในทุกระดับการใช้งาน และลูกสุกรมีสุขภาพแข็งแรง และไม่มีอาการท้องเสีย

ตารางที่ 43 ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยในมูลสุ่น้ำหลังจากได้รับอาหารทดลอง

จุลินทรีย์ในมูลสุ่น้ำ	สูตรอาหาร		
	T1	T2+C	T3+C
	CFU log ₁₀ /g มูลสุ่น้ำ		
<i>B. subtilis</i>	2.00 ^b ±0.00	7.38 ^a ±0.75	7.03 ^a ±0.57
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9.98 ^a ±0.31	11.16 ^a ±1.36	9.94 ^a ±0.37
<i>Lactobacillus</i> spp.	9.60 ^b ±0.52	11.15 ^a ±1.52	7.89 ^c ±0.29
<i>E. coli</i>	6.75 ^a ±1.07	4.38 ^a ±2.99	5.30 ^a ±2.97

หมายเหตุ ^{a-b} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละค่าแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ (p≤0.05)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด มีขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยคือ การสำรวจพฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด รวมถึงการสำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า การศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัข ชนิดเม็ดทางการค้า การศึกษาคัดเลือกและพัฒนาอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตรพื้นฐาน การพัฒนาสูตร และศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติกผสม (FOS และ MOS) และ โปรไบโอติก (*Basillus subtilis*) การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัขเสริม *Basillus subtilis* และ FOS และ MOS จากการดำเนินการวิจัยสามารถสรุปได้ดังนี้

1. จากการสำรวจพฤติกรรม และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด รวมถึงการสำรวจผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า พบว่า ผู้เลี้ยงส่วนใหญ่ให้ความสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมโปรไบโอติก และฟรไบโอติก โดยให้ความสำคัญกับประโยชน์และคุณค่าทางสารอาหารที่สุนัขจะได้รับเป็นหลัก ผู้เลี้ยงสุนัขต้องการให้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่จะทำการพัฒนา เป็นดังนี้ อาหารสุนัขชนิดเม็ดเพื่อดูแลระบบทางเดินอาหาร สำหรับสุนัขสายพันธุ์ ขนาดกลางช่วงอายุโตเต็มวัย ลักษณะของเม็ดอาหารเป็นเม็ดกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร
2. การศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดทางการค้า พบว่า ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่จะทำการพัฒนา ควรมีคุณลักษณะเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลิตภัณฑ์ราสินค้าแพดดิกรี (ตราสินค้า D) ซึ่งมีคุณค่าทางกายภาพดังนี้ ค่าสีของเม็ดอาหาร ค่าสี L^* 49.88 ค่าสี a^* 17.33 ค่าสี b^* 36.26 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี 0.432 ค่าความหนาแน่น 420 กรัมต่อลิตร ความแข็งของเม็ดอาหาร 134.01 นิวตัน เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.114 เซนติเมตร และความหนา 0.424 เซนติเมตร และคุณค่าทางเคมีดังนี้ ความชื้นร้อยละ 6.49 โปรตีนร้อยละ 17.72 ไขมันร้อยละ 10.21 เยื่อใยร้อยละ 3.74 และ เถ้าร้อยละ 4.59
3. การ การศึกษาคัดเลือกและพัฒนาอาหารสุนัขชนิดเม็ดสูตรพื้นฐาน โดย ทำการเลียนแบบวัตถุดิบในการประกอบสูตรจากสิทธิบัตร การศึกษาต่างๆ ที่ เกี่ยวข้องกับการผลิตอาหารสุนัขชนิดเม็ด และผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขทางการค้า คำนวนปริมาณสัดส่วนของวัตถุดิบในการ

ประกอบสูตรโดยใช้โปรแกรมเชิงเส้นตรง เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารพื้นฐานที่มีคุณค่าทางโภชนาการตามข้อกำหนดของ Association of American Feed Control Officials (AAFCO) และจากการทดลองผลิตและตรวจวัดค่าคุณภาพทางกายภาพและเคมี ได้อาหารสุนัขสูตรพื้นฐาน (สูตร F4) ประกอบด้วย ข้าวโพดบดร้อยละ 55.78 กากถั่วเหลืองร้อยละ 15.46 ปลาข้าวบดร้อยละ 11.75 น้ำมันปาล์มร้อยละ 6.94 เกลือร้อยละ 0.50 ปลาป่นร้อยละ 5.75 โปรตีนข้าวโพดร้อยละ 3.00 และไคแคลเซียมฟอสเฟตร้อยละ 0.82 ค่าคุณภาพทางกายภาพ ค่าสี L^* 66.68 ค่าสี a^* 5.08 ค่าสี b^* 34.15 ความหนาแน่น 440 กรัมต่อลิตร ความแข็ง 115.82 นิวตัน เส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาของเม็ดอาหาร 0.943 และ 0.402 เซนติเมตร ตามลำดับ มีองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ 4.89 โปรตีนร้อยละ 36.14 ไขมันร้อยละ 7.89 เชื้อใยร้อยละ 3.35 และเถ้าร้อยละ 5.58

4. การพัฒนาสูตรและศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดเสริมฟรีไบโอติกผสม (FOS และ MOS) และโปรไบโอติก (*B. subtilis*) พบว่า การเติมฟรีไบโอติกผสม FOS และ MOS ลงในสูตรพื้นฐานร้อยละ 2 (T3) มีผลทำให้ความหนาแน่นของเม็ดอาหารสุนัขเพิ่มขึ้น เส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดอาหารลดลง และแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับสูตรอาหารควบคุม (T1) และสูตร T2 การเคลือบสปอร์ผง *B. subtilis* บนเม็ดอาหาร โดยปริมาณผงโปรไบโอติกเริ่มต้นควรเป็น 5 กรัม และนำไปละลายใน MRD ปริมาณ 50 มิลลิลิตร และจึงนำไปเคลือบบนเม็ดอาหารปริมาณ 500 กรัม หรือเท่ากับร้อยละ 1 ของปริมาณอาหารที่จะทำการเคลือบเนื่องจากทำให้ปริมาณ *B. subtilis* บนเม็ดอาหารเป็นไปตามข้อกำหนด โดยต้องมีปริมาณ *B. subtilis* 10^7 โคโลนีต่อหน่วย /วัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 และจากการวัดค่าคุณภาพทางกายภาพของเม็ดอาหารที่ผ่านการเคลือบ *B. subtilis* พบว่า มีผลต่อปริมาณความสว่างของเม็ดอาหาร โดยทำให้เม็ดอาหารมีความสว่างลดลง และมีผลทำให้ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของเม็ดอาหารเพิ่มขึ้น

5. การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารสุนัขเสริม *Basillus subtilis* และฟรีไบโอติกผสม FOS และ MOS พบว่าอาหารสุนัขสูตร T2+C (เติมปริมาณฟรีไบโอติกผสมร้อยละ 1) มีผลทำให้คะแนนลักษณะปรากฏทางกายภาพของมูลสุนัขเฉลี่ยดีขึ้น คือมีลักษณะของมูลสุนัข ที่มีรูปร่าง เป็นก้อนแข็ง และไม่ติดกับพื้น อีกทั้งมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้แก่ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และ ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli* (*E.coli*) มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองสูตรควบคุม (T1) ที่ไม่มีการเติมฟรีไบโอติก และโปรไบโอติกในอาหารสุนัข

ข้อเสนอแนะ

1. จากข้อมูลที่ได้จากการออกแบบสอบถาม พบว่า ผู้เลี้ยงสุนัขให้ความสำคัญกับประโยชน์และคุณค่าทางสารอาหารที่สุนัขจะได้รับ ดังนั้นในการผลิตควร มีสถาบันที่เกี่ยวข้องรับรองคุณภาพว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพของสุนัขตามที่แจ้งไว้และมีความปลอดภัยเพื่อเพิ่มความมั่นใจให้กับผู้บริโภค และควรคำนึงถึงการเสื่อมคุณภาพของอาหารสุนัข เช่น กลิ่นหืนของอาหารที่เกิดขึ้นระหว่างการใช้ ดังนั้นควรมีการป้องกันการเกิดกลิ่นหืนของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการใช้ และการเก็บรักษา
2. ขั้นตอนการเคลือบผงโปรไบโอติกในระดับปฏิบัติการไม่มีอุปกรณ์ในการฉีดพ่นจึงจำเป็นต้องละลายกับ ผง *B. subtilis* ใน Maximum recovery diluents (MRD) ซึ่งเป็นของเหลวมีน้ำเป็นส่วนประกอบจึงทำให้ปริมาณความชื้นและน้ำอิสระเพิ่มขึ้น ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม จึงควรละลายผงในสารละลายอื่นๆ ที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบน้อยที่สุด หรือละลายรวมกับน้ำมัน หรือสารเคลือบเพิ่มความเงา หรือสารผสมอื่นๆ ที่เป็นของเหลวและเป็นส่วนประกอบในการผลิต อาหารสุนัขอยู่แล้ว
3. เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพของโปรไบโอติก และฟรีไบโอติก ต่อการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ควรมีการตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจากตัวอย่างของเหลวในระบบทางเดินอาหารด้วย

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรรณิการ์ พนาบุญเจริญ. 2545. ผลการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอินทรีย์รวมในอาหาร
สุกรหย่านม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

คู่มือการใช้งานเครื่องวัดวอเตอร์แอคทีวิตีในอาหาร . 2550. คู่มือการใช้งานเครื่องวัดวอเตอร์แอคที
วิตี (aw) ในอาหาร สำหรับเครื่อง Aqua Lab series 3. บริษัท จาร์พา เท็คเซินเตอร์ จำกัด
กรุงเทพฯ.

จิณณพัต สารองพันธ์, นนทวิทย์ อาริย์ชน , ประพันธ์ศักดิ์ ศิริชะภูมิ . 2551. ผลของการเสริมแมน
แนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและความต้านทานโรคของ
ลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus), น. 147-155. ใน การประชุมวิชาการสาขา
ประมง ครั้งที่ 46. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

จินตนา อินทรมงคล . 2549. องค์ความรู้ กระบวนการสารธรรมชาติทดแทนการใช้เคมีภัณฑ์
สังเคราะห์ในการเลี้ยงสัตว์ ปศุสัตว์อินทรีย์ กรมปศุสัตว์

ฐานเศรษฐกิจ 2555. กรุงเทพฯ: 4 เมษายน 2555. หน้า 7.

ณัฐชนก อมรเทพภัทร. 2553. การผลิตอาหารสัตว์. โอเคียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

ณัฐชนก อมรเทพภัทร และ โครงการจัดตั้งภาควิชาเทคโนโลยีทางกระบวนการเค มีและฟิสิกส์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 2548. ผลงานวิชาการของณัฐชนก อมรเทพภัทร .
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณัฐสิทธิ์ ดันสกุล . 2555. เอกสารคำสอนวิชาเภสัชวิทยาทั่วไป เรื่อง สารเสริมอาหารสัตว์ (Animal
Feed Additives). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นวลจันทร์ พารักษา, อุทัย กันโธ และชินพัทธ์ นาคะสิงห์. 2553. การใช้ส่วนผสมจุลินทรีย์ประเภท โปรไบโอติกและกลุ่มเอนไซม์เสริมในอาหารลูกสุกรหย่านม , น.29-31 ใน การประชุม วิชาการสาขาสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 28. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปาริฉัตร หงสประภาส. 2548. เอกสารคำสอน 052514 โปรตีนในอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ภัทริดา ไปฏุก, ชลอ ลีมสุวรรณ, วรัชยา ภูริวิโรจน์กุล และนิติ ชูเชิด. 2554. ผลของการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*), น. 65-72. ใน การประชุม วิชาการสาขาประมง ครั้งที่ 49. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์. 2554. คู่มือปฏิบัติการวิชา 01054-343 การวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ . คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยุวดี วงศ์วิฑูรวิช. 2533. การพัฒนาผลิตภัณฑ์และประเมินคุณภาพอาหารสุนัขโดยใช้ถั่วลิสงเมล็ด เล็กลิบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2541. วิศวกรรมอาหารหน่วยปฏิบัติการในอุตสาหกรรม . ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุชาดา กุชัยสิทธิ์. 2535. การผลิตสารปฏิชีวนะจากเชื้อ *Bacillus subtilis*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร . 2549. การสำรวจสุนัขที่มีเจ้าของในเขตกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2549. 30 หน้า.

อุตรา จามิกร. 2551. โภชนาการกับสัตว์เลี้ยง . วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย. 10 (4): 14-18.

อุทัย กันโธ . 2549. อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก . นครปฐม : ศูนย์วิจัยและ
ฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Ananda, P.F. 2013. Supplementation of fructooligosaccharides (FOS) on faecal characteristics of adult dogs. **J. Vet. Science.** 18: 9-14.

Andersson, Y., B. Hedlund, L. Jansson, and S. Svenssons. 1981. Extrusion-cooking of a high-fiber cereal product with crispbread character. **Cereal chem** 58: 370-4

Anonymous. 1987. **Feeding the Dog and Cat.** Uncle Ben's of Australis, Wodonga.

Association of American Feed Control Officials 2008. **2008 Official publication.** USA.

AOAC. 2000. **Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.**
Washington, DC

Baillon M-L.A., Z.V. Marshall-Jones and R.F. Butterwick. 2004. Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* strain DSM13241 in healthy adult dogs. **Am J Vet Res.** 65:338-343.

BAM. 2002. **Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual.** 8th ed.,
AOAC International, USA.

Baptista, A. S., J. Horii, M. A. C. Domingues, D. M. Gloria, J. M. Salgado and M. R. Vizioli. 2004. The capacity of manno-oligosaccharides, thermolused yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 20: 475-481.

Bayane, A., D. Roblain, R.D. Dauphin, J. Destain, B. Diawara and P. Thonart. 2006. Assessment of physiological and biochemical characterization of a *Lactic acid bacterium* isolated from chicken faces in sahelian region. **African Journal of Biotechnology.** 5: 629-634.

- Baynen, A.C. n.d. **Probiotics in veterinary nutrition**. Animal Nurtition. Rajamangala University of Technology-Isan, Sakon Nakhon Thailand.
- Beerens, H. 1990. An elective and selective medium for *Bifidobacterium spp.* **Lett. Appl. Microbiol.** 11: 155-157.
- Bjorck, I., Asp, N. G. and Dahlqvist, A. 1984. Protein nutritional value of extrusion-cooked wheat flours. **Food Chem** 15: 203-14.
- Bland, E. J., T. Keshavarz and C. Bucke. 2004. The influence of small oligosaccharides on the immune system. **Carbohydr. Res.** 339: 1673-1678.
- Brigitta, K., S. Gisela, P. Jurgen, S. Detlef, N. Jutta and B. Michael. 1997. Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short chain fatty acid in rats. **J. Anim. Sci.** 75: 2453-2462.
- Bunce, T.J., M.D.M.S. Howard, G.L. Allee, L.W. Pace. 1995. Protective effect of fruto-oligosaccharides in prevention of mortality and morbidity from infectious *E. coli*. K:88 challenge. **J. Anim. Sci.** 85: 69-73.
- Campbell, J.M., G.C. Fahey and B.W. Wolf. 1997. Selected indigestible oligosaccharide affect large bowel mass cecal and fecal short chain fatty acid pH microflora in rats. **J. Nutr.** 127: 130-136.
- Case, L.P., L. Daristotle, M.G. Hayek, M.F. Raasch. 2011. **Canine and Feline Nutrition**. 3rd ed. Mosby, Inc., Missouri.
- Cheftel, C.J. 1986. Nutritional effects of extrusion-cooking. **Food Chem** 20: 263-283

Christen, G.L., P.M. Davidson, J.S McAllister and L.A. Roth. 1992. Coliform and other indicator bacteria, pp. 247-269. *In* R.J. Marshall ed., **Standard Method for the Examination of Dairy Products**. Port. City Press. New York.

Cooper, C.R. and P.S. Schindler. 1998. Business Research Methods. 6th ed., Irwin McGraw-Hill, Singapore.

Cusick, W.D. 1997. **Meeting the Nutritional Needs of Your Breed of Dog**. Doral Publishing. Oregon.

DeMan, J.D., M. Rogosa and M.E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. **J. Appl. Bact.** 23: 130-135.

Djouzi, Z. and C. Andrieux. 1997. Compared effect of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora. **J. Nutr.** 28: 313-324.

Douglas, H., C. Creve and J.F. Ronald. 1969. **Process for making an animal food**. U.S. Patent 3,467,525.

Farnwarth, E.R., H.W. Modler, J.D. Jones, N. Cave, H. Yamazaki and A.V. Rao. 1992. Feeding Jersalem Artichoke flour rich in fructooligasaccharides to weanling pig. **Can J Amin Sci.** 72:977-980.

Freeman, L. M., and J. E. Rush. 2003. **Canine cardiac diet**. International Publication No. WO 03/015695 A2.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.** 66 : 365-378.

_____. 1992. **Probiotics** : The scientetific basis. Chapman and Hall London.

Gibson, G.R. 1998. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. **Britis J. Nutr.** 80: 209S-212S.

_____, E.R. Beatty, X. Wang and J.H. Cummings. 1995. **Selective stimulation of bifidobacterium in the human colon by oligosaccharide and inulin** *Gastroenterol.* 108: 975-982.

_____. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotic. **J. Nurt.** 125: 1404-1412.

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

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

Holzapfel, W. H., R. Geisen, J. Bjorkroth and U. Schillinger. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food nutrition. **Amer. J. Clinical Nutrition.** 73: 365S-373S.

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

Kazemzadeh, M. 1998. **Method of forming a semi-moist jerky or leathery pet foods or treats**. U.S. Patent 5,773,070.

Kienholz, E.W. 1977. **Pet Nutrition**. The Intersatate Printers and Publisher, Inc., London.

- La Ragione, R.M. 2011. *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry. **J.Vet Microbiology** 79: 133-142.
- Lawless, H.T. and H. Heymann. 1999. Qualitative consumer research methods, pp. 519-540. *In* H.T. Lawless and H. Heymann. **Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices**. Aspen publication, Gaithersburg.
- Lilly, D.M. and Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. **J. Science** 147: 747-748.
- Linko, P., P. Colonna and C. Mercier. 1981. High temperature short time extrusion-cooking. **Advances in Cereal Science and Technology**, 4: 145-235.
- Lji P. A., A.A. Saki and D.R. Tivey. 2001. Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. **J.Sci. Food. Agric.** 81: 1186-1192.
- McCulloch, M.G. and W.E. Nelson. 1977. **Method of Producing Dry Pet Food**. U.S. Patent 4,020,187.
- Mcdougall, D. B. 1994. Colour of meat. pp. 79-93. *In* A.M. Pearson and T.R. Dutson, eds., **Advances in Meat Research-Volume 9 Quality Attributes and their Measurement in Meat**, Poultry and Fish Product. Blackie Academic and Professional, Glasglow.
- Miguel, J.C., S. L. Rodriguez-Zas and J. E. Pettigrew. 2004. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. **J. Swine Health Prod.** 12: 296-307.
- Miller, A.T. and J. C. Hansen. 1975. **Pet food product and method for forming same**. U.S. Patent 3,908,025

- Monsan, P.G. and F. Paul. 1995. Oligosaccharide feed additive, pp. 233-245. *In* R.J. Wallace. and A. Chesson, eds., **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding**. Weinheim, New York.
- Murphy, T., I. Roy, A. Harrop, K. Doxon and T. Keshavarz. 2007. Effect of oligosaccharide elicitors on bacitracin A production and evidence of transcriptional level control. **J. Biotechnol.** 131: 397-403.
- National Research Council. 1974. **Nutrient requirements of dogs**. Report No. 8. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- National Research Council. 2006. **Nutrient requirements of dogs and cats**. The national academies press. Washington, D.C.
- National Standard of Canada. 1983. **Minimum Nutritional Testing, Labeling and Manufacturing Procedures for Pet Foods**. The Canadian General Standards Board, Canada.
- Newman, K. 1994. Mannan-oligosaccharides: natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system, pp 167-174. *In* T.P. Lyons and K.A. Jaques, eds., **Biotechnology in the Feed industry**. Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Newman, K.T. 1995. *Saccharomyces boulardii*: More application of yeast culture in monogastric, pp 379-381. *In* T.P. Lyons, ed., **Biotechnology in the feed industry**. Alltech. Publication, Nicholasville, Kentucky.
- Noguchi, A., K. Mosso, C. Aymard., J. Jeunink., and J. Cheftel. 1982. Maillard reactions during extrusion-cooking of protein-enriched biscuits. **Lebensm. Wiss. Technol.** 15: 105-11.

- Norback, C.T. 1981. **The dogs food book**. The New American Library, Inc., Bergenfiesk, New Jersey.
- Parodi, A. J. 1979. Biosynthesis of yeast glycoproteins. Processing of the oligosaccharides transferred from dolichol derivatives. **J. Biol. Chem.** 254: 10051-10060.
- Patricia, C., J. Persaud., A. Patil and J.Philippe. 2004. **Puffed Pet Food For Diet Control**. U.S. Patent 2004/007416
- Pitchon E. 1980. **Food Extrusion Process**. U.S. Patent 4,225,630
- Pitchon E., R.E. Schara., W.P. Citarella., J. Giacone and F.A. Zobel. 1983. **Soy-Containing Dog Food**. U.S. Patent 4,371,556
- Pollman, D. S. 1986. Non-nutritive feed additives-what are they, pp. 352. **Proceeding**. 22nd ed. **Annual Guelph Nutrition Conference**, University of Guelph, Ontario.
- Robert, A.A. 1993. Digestion and absorption of carbohydrate, fat and protein, pp. 362-375. *In* M.J. Swenson and W.O. Reece, eds., **Dukes' Physiology of Domestic animals**. Cornell University Press, New York.
- Ross, G.C. 1999. Prebiotic, pp. 141-156. *In* W.T Geral, ed., **Prebiotics a Critical Review**. Horizon Scientific Press, Wymondham.
- Rowe, J.B. 1997. Acidic gut syndrome: is it a problem for animals and humans? pp. 47-54. *In* J.L. Corbett, M. Choct, J.V. Nolan and J.B. Rowe, eds., **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**. University of New England, Armidale, NSW.
- Sa-Fortes, C.M.L. 2005. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Santoso, U., K. Tanaka and S. Ohtani. 1995. Effect of dried composition and *Bacillus subtilis* culture on growth, body hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks.

Br. J. Nutr. 74: 523-529.

Schneeman, B.O. 1999. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. **J. Nutr.**

129: 1424S-1427S.

Seapets aquatic & pet superstores. 2009. **Nutro Dog Food**. Buy products. Available Source:

<http://www.seapets.co.uk/products/dog-supplies/dog-food/complete-dog-foods/premium-complete-dog-food/nutro-dog-food/nutro-choice-adult-maintenance-chicken-and-rice-2kg.html>, June 01, 2010.

Sipring, P., C. Wenk, K. A. Dawson and M. E. Newman. 2000. The effect of dietary mannan oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in cecal of *Salmonella* challenged broiler chick. **J. Poult. Sci.** 79: 205-211.

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

The National Research Council. 1993. **Nutrient Requirements of Domestic Animals**.

5th ed. National Academy Press., USA

Torrecilla, S. and A. Makol, M.J. caballero, D. Montero and R. Gines. 2010. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). **Aquaculture Nutrition**. Blackwell Publishing Ltd.

Walker, G. M. 1998. **Yeast Physiology and Biotechnology**. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England.

Wang, X. and G.R. Gibson. 1993. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. **Journal of Applied Bacteriology**. 75: 373-380.

White, L. A., M. C. Newman, G. L. Cromwell and M. D. Lindemann. 2002. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **J. Anim. Sci.** 80: 2619-2628.

Younes, H., K. Garleb, S. Behr, C. Remesy and C. Demigne. 1994. Fermentable fibers or oligosaccharides reduce urinary nitrogen excretion by increasing urea disposal in the rat cecum. **J Nutr.** 125:1010-1016.





ภาคผนวก ก

การอธิบายแบบกลุ่มของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย แบบสอบถามสำรวจความคิดเห็น พฤติกรรม
และความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัข วิเคราะห์ทางสถิติของ Friedman และ
วิธี Analog Fishe Fisher's LSD_{rank}

ภาคผนวก ก1

การอภิปรายแบบกลุ่มของผู้เลี้ยงสุนัขกลุ่มเป้าหมาย (Focus Group Discussion)

วัตถุประสงค์ของการทำการอภิปรายแบบกลุ่ม

1. เพื่อศึกษาพฤติกรรม ทักษะ และความต้องการของผู้ร่วมสนทนาที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด
2. เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนำไปสร้างแบบสอบถาม และเพื่อนเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

คำแนะนำสำหรับประธานดำเนินการอภิปราย

1. การแนะนำ (5 นาที)

1.1 แนะนำตัวผู้ดำเนินการสนทนา

“สวัสดีค่ะผู้เข้าร่วมสนทนาทุกท่าน ดิฉันสุทธยาณ์ มณีพันธุ์ จะมาเป็นผู้นำในการสนทนากลุ่ม หรือ Focus group discussion ค่ะ ดดยอันดับแรกจะขออธิบายวัตถุประสงค์และรายละเอียดการสนทนากลุ่มในครั้งนี้ก่อนค่ะ”

1.2 วัตถุประสงค์

“การสนทนากลุ่มในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อต้องการทราบข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับพฤติกรรม ทักษะ ความคิดเห็น และความต้องการเกี่ยวกับหัวข้อที่เราสนใจ ซึ่งหัวข้อที่เราสนใจในวันนี้เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดค่ะ”

1.3 การชี้แจงเกณฑ์ในการร่วมสนทนากลุ่ม

“สำหรับการสนทนากลุ่มครั้งนี้ ดิฉันจะเป็นผู้ถามคำถามให้ทุกท่านตอบ ซึ่งคุณสามารถแสดงความคิดเห็นได้อย่างอิสระ ไม่มีคำตอบที่ถูกหรือผิดใด ๆ ทั้งสิ้น คุณสามารถพูดอะไรก็ได้ในมุมมองคุณ และถ้าคุณมีความคิดเห็นอย่างไรสามารถพูดออกมาได้เลยว่าเห็นด้วย หรือไม่

เห็นด้วยอย่างไร ซึ่งความคิดเห็นของคุณเป็นสิ่งจำเป็นในการสนทนากลุ่มครั้งนี้ค่ะ ทั้งนี้ระหว่างการสนทนาจะมีการถ้อยรูปและบันทึกเทปข้อมูลเพื่อความสะดวกในการบันทึกจดจำข้อมูล เทปนี้จะเตรียมไว้สำหรับการทำรายงาน โดยในรายงานนั้นจะไม่มีการอ้างอิงชื่อของคุณตลอดรายงาน ดังนั้นระหว่างการสนทนาขอให้ผู้เข้าร่วมสนทนาทุกท่านพูดเสียงดังฟังชัดเพื่อให้ทุกคนได้ยินชัดเจน และเมื่อคุณต้องการพูดหรือแสดงความคิดเห็นหรือคำถามใด ๆ กรุณาบอกชื่อของคุณก่อนทุกครั้ง กรุณาอย่าพูดแทรกระหว่างผู้อื่นกำลังแสดงความคิดเห็นและหลีกเลี่ยงการพูดคุยกันเองระหว่างการสนทนากลุ่มค่ะ หลังจากเสร็จสิ้นการสนทนากลุ่มทุกท่านจะได้รับของที่ระลึกเพื่อเป็นการตอบแทนในการให้ความร่วมมือในการสนทนากลุ่มครั้งนี้ค่ะ”

2. การสำรวจทั่วไป

2.1 แนะนำตัว (10 นาที)

“พวกเราจะทำความรู้จักกันก่อนโดยการแนะนำตัวเพื่อสร้าง คู่เนกกันระหว่างผู้เข้าร่วมสนทนาค่ะ (เริ่มจากผู้ดำเนินการสนทนาจนครบวง)”

2.2 ถามคำถาม (50-60 นาที)

“ขอเปิดการสนทนาโดยเริ่มจากคำถามแรกเกี่ยวกับพฤติกรรม ทักษะ และความต้องการเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด โดยมีคำถามดังนี้ค่ะ”

2.2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับสุนัข

คำถาม : สุนัขที่คุณเลี้ยงมีจำนวนเท่าไร เป็นสายพันธุ์อะไร

2.2.2 อาหารมื้อหลักของสุนัข

คำถาม : คุณให้อาหารสุนัขวันละกี่ครั้ง ช่วงเวลาใดบ้าง และรสชาติอะไร

คำถาม : จุดประสงค์ในการให้อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

2.2.3 สถานที่ซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

คำถาม : คุณซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดจากสถานที่ใดบ้าง เช่น ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง (Pet shop) โรงพยาบาลสัตว์ ห้างสรรพสินค้า ฯลฯ

2.2.4 ราคาสินค้าผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

คำถาม : ผลผลิตอาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่คุณ เคยซื้อมีตราสินค้าอะไรบ้าง

คำถาม : ผลผลิตอาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่คุณเลือกซื้อในปัจจุบันมีตราสินค้าอะไรบ้าง และเหตุใดจึงเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ตราสินค้านี้ (มีข้อดี หรือข้อแตกต่างจากตราสินค้าอื่น ๆ อย่างไร)

2.2.5 ปริมาณ ขนาดสินค้า และความรู้ในการซื้อ/ให้ผลิตภัณฑ์

คำถาม : ปริมาณที่คุณซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดต่อครั้งเป็นจำนวนเท่าไร (กิโลกรัม) ขนาดสินค้าเป็นขนาดใด (น้ำหนัก/ถุง) และคุณซื้อผลิตภัณฑ์บ่อยแค่ไหน

2.2.6 ปัจจัยสำคัญที่ใช้เป็นหลักในการเลือกซื้อ

คำถาม : ในการซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด คุณใช้เหตุผลใดบ้างในการตัดสินใจเลือกซื้อ

2.2.7 ปัญหาที่พบของผลิตภัณฑ์ของอาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด (ส่วนตัวผลิตภัณฑ์และส่วนบรรจุภัณฑ์)

คำถาม : ในการซื้อ/ให้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด คุณพบปัญหาใดบ้างเกี่ยวกับตัวผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์

2.2.8 ถ้ามีการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเพื่อ อสุขภาพ เจ้าของสุนัขอยากให้เน้นสุขภาพในด้านใด (เพื่อเป็นแนวคิดเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ที่จะทำการพัฒนา)

คำถาม : คุณต้องการให้ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด เพื่อเสริมสร้างสุขภาพ หรือป้องกันโรคในด้านใด

2.2.9 ความคาดหวังจากผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่ผ่านการพัฒนา

คำถาม : คุณมีความคาดหวังอย่างไรต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่ผ่านการพัฒนาเพื่อให้สุนัขมีสุขภาพที่ดีขึ้น

คำถาม : คุณต้องการให้รูปแบบของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ดที่ผ่านการพัฒนามีลักษณะอย่างไร (รูปร่าง ขนาด สี และกลิ่นรส)

2.3 สรุป

“ท่านมีความคิดเห็น ข้อเสนอแนะหรือคำถามอะไรที่สงสัยก่อนการปิดการอภิปรายครั้งนี้หรือไม่”

“ขอขอบคุณสำหรับความร่วมมือและความตั้งใจของท่าน และกรุณารับของที่ระลึกเพื่อเป็นการตอบแทนการให้ความร่วมมือในครั้งนี้ค่ะ”

ภาคผนวก ก2

แบบสอบถามการสำรวจความคิดเห็น พฤติกรรมและความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขต่อผลิตภัณฑ์
อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

เรียน ท่านผู้ตอบแบบสอบถาม

เรื่อง การสำรวจความต้องการของผู้เลี้ยงสุนัขเพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัข
สำเร็จรูปชนิดเม็ดเพื่อสุขภาพสำหรับสุนัขช่วงโตเต็มวัย

แบบสอบถามชุดนี้จัดทำขึ้นเพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลพฤติกรรมการให้ผลิตภัณฑ์ และความ
ต้องการของท่านที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด เพื่อให้ประกอบการวิจัยของ
นางสาว สุทธณัฏ มณีพันธุ์ นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศ าสตร์ จึงใคร่ขอความร่วมมือจากท่านกรุณาตอบแบบสอบถามให้สมบูรณ์
หากเกิดข้อสงสัยระหว่างทำแบบสอบถามกรุณาสอบถาม ข้อมูลทั้งหมดที่ท่านตอบจะเป็น
ประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการตอบ
แบบสอบถาม

ขอแสดงความนับถือ
ผู้ทำวิจัย

คำแนะนำ กรุณาทำเครื่องหมาย (/) ลงใน () หน้าข้อความที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมที่สุด

ส่วนที่ 1 : แบบสอบถามเกี่ยวกับ ข้อมูลส่วนบุคคล

1. เพศ

() ชาย () หญิง

2. อายุ

() ต่ำกว่า 20 ปี () 20-29 ปี () 30-39 ปี
() 40-49 ปี () 50-59 ปี () 60 ปีขึ้นไป

3. อาชีพ

- () นิสิต/นักศึกษา () ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว () ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ
 () พนักงานเอกชน/รับจ้าง () แม่บ้าน/พอบ้าน
 () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

4. ระดับการศึกษาสูงสุดที่ได้รับ

- () ต่ำกว่ามัธยมศึกษา () มัธยมศึกษา/ปวช. () อนุปริญญา/ปวส.
 () ปริญญาตรี () สูงกว่าปริญญาตรี

5. รายได้เฉลี่ยส่วนบุคคล (บาทต่อเดือน)

- () น้อยกว่า 20,000 บาท () 20,001 – 30,000 บาท () 30,000 – 40,000 บาท
 () 40,000 – 50,000 บาท () มากกว่า 50,000 บาท

ส่วนที่ 2 : แบบสอบถามเกี่ยวกับ ข้อมูลสุนัข

6. ข้อมูลสุนัขที่ท่านเลี้ยงในปัจจุบัน

6.1 พันธุ์สุนัข

- () แจ็ค รัสเซลล์ () พุดเดิ้ล () บ็อกซ์ () ชิววา
 () เยอรมัน เชฟเฟอร์ด () พันธุ์ไทย () ไชบีเรียน ฮัสกี้ () บางแก้ว
 () โกลเด้น รีทรีฟเวอร์ () รอทไวเลอร์ () คัลเมเชียน () ลาบราดอร์
 () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

6.2 อายุและจำนวนของสุนัขทั้งหมดที่เลี้ยงในปัจจุบัน

อายุ	จำนวน (ตัว)
☐ น้อยกว่า 1 ปี	
☐ 1-7 ปี	
☐ มากกว่า 7 ปี	

ส่วนที่ 3 : แบบสอบถามเกี่ยวกับ ข้อมูลผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

7. ความถี่ในการให้อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

- () ทุกวัน () มากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์ () 1 ครั้งต่อสัปดาห์
 () 2 – 3 ครั้งต่อเดือน () เดือนละครั้ง
 () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

8. ลักษณะการให้อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

- () ให้กินพอดี 1 ครั้ง () ให้ไว้ในชามอาหารให้มีกินตลอดเวลา
 () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

9. ความถี่ในการซื้ออาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด

- () 1 ครั้งต่อสัปดาห์ () 2-3 ครั้งต่อเดือน () 1 ครั้งต่อเดือน
 () 1 ครั้งต่อ 2-3 เดือน () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

10. ค่าใช้จ่ายเฉลี่ยในการซื้ออาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดต่อครั้ง

- () น้อยกว่า 50 บาท () 51 – 250 บาท () 251 – 400 บาท
 () 401 – 600 บาท () 601 – 800 บาท () มากกว่า 800 บาท

11. รสชาติของผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่ท่านซื้อ (ตอบได้เพียง 1 ข้อ)

- () รสไก่ () รสไก่และตับ () รสเนื้อ
 () รสเนื้อสัตว์ผสมผัก () รสเบคอน () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

12. สถานที่ซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดบ่อยที่สุด (เลือกเพียง 1 คำตอบ)

- () คลินิกสัตวแพทย์/ โรงพยาบาล
 () ซูเปอร์มาร์เกต/ห้างสรรพสินค้า
 () ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง (เพท ซอป)
 () ร้านจำหน่ายสินค้าลดราคายขนาดใหญ่ (เทสโก้ โลตัส, บิ๊กซี, คาร์ฟูร์, จัสโก้, แมคโคร)
 () ตลาดนัด () อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

13. ผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดตราสินค้าใด ที่ท่านซื้อบ่อยที่สุด (ตอบได้เพียง 1 ข้อ เท่านั้น)
- | | |
|--------------------------------------|---|
| ☐ Earth Borne | ☐ ANF |
| ☐ ยูคาบูบา | ☐ โรยัล แคนนิน |
| ☐ สมาร์ฮาร์ท | ☐ อัลโป |
| ☐ เอโปร | ☐ อิลล์ ซายเอนน์ ไคเอท |
| ☐ เพดดิกรี | ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ)..... |
14. เหตุผลสำคัญที่สุด ที่ท่านเลือกซื้ออาหารสุนัขตราสินค้าดังกล่าว (ตอบได้เพียง 1 ข้อเท่านั้น)
- ☐ ราคาถูก ☐ สารอาหารครบถ้วน ☐ หาซื้อง่าย ☐ อื่น ๆ
15. บุคคลใดที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดของท่านมากที่สุด (ตอบได้เพียง 1 ข้อเท่านั้น)
- | | |
|---|---|
| ☐ เจ้าของร้านจำหน่ายอาหารและอุปกรณ์สัตว์ | ☐ สัตวแพทย์ |
| ☐ เพื่อน | ☐ ผู้เพาะพันธุ์สุนัข |
| ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ)..... | |
16. หลักเกณฑ์ที่ท่านใช้ในการพิจารณาเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด (กรุณาตอบทุกข้อ โดยเรียงลำดับตามความสำคัญ 7 ลำดับ โดย 1 = สำคัญมากที่สุด 2 3 4...7 สำคัญรองลงมาตามลำดับ)
- | | |
|--|-----------------------------|
| ราคาเหมาะสม | ความชอบของสุนัข |
| ความสะอาด ปลอดภัย | ความมั่นใจในตราสินค้า |
| ความสะดวกในการหาซื้อ | |
| คุณค่าและสารอาหารต่อสุขภาพของสุนัข | |
| ลักษณะของสินค้าที่ดึงดูดใจ (เช่น รสชาติ, บรรจุภัณฑ์, รูปร่างเม็ดอาหาร เป็นต้น) | |
17. ส่วนใหญ่ท่านซื้อผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดตราสินค้าใดสินค้าหนึ่งเป็นประจำหรือไม่
- | | |
|---|---|
| ☐ ประจำ (เปลี่ยนยี่ห้อบ่อยมาก) | |
| ☐ ไม่ประจำ (เปลี่ยนยี่ห้อเรื่อย ๆ) สาเหตุเพราะ (เลือกตอบเพียง 1 คำตอบ) | |
| ☐ ให้สุนัขได้รับรสชาติใหม่ ๆ | ☐ ความสะดวกในการซื้อ |
| ☐ ส่วนลด/ของแถม | ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ)..... |

ส่วนที่ 4 : แบบสอบถามเกี่ยวกับ แนวคิดที่มีต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปเสริมสาร โพรไบโอติก และพรีไบโอติก

คำอธิบาย : โพรไบโอติก (Probiotics) เป็นจุลินทรีย์มีชีวิตช่วยเสริมการทำงานของระบบทางเดินอาหารให้แข็งแรงเป็นประโยชน์ต่อระบบการย่อยอาหาร ทำให้การขับถ่ายเป็นปกติ อีเป็นก้อนเก็บง่าย ลำไส้สะอาด ลดการสะสมของของเสียในร่างกาย ลดกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยในการดูดซึมอาหาร ทำให้ระบบการทำงานของไตดีขึ้น เสริมสร้างประสิทธิภาพการดูดซึมแคลเซียม และแมกนีเซียมในลำไส้ พร้อมทั้งเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน โดยการสร้างแบคทีเรียที่ดีขึ้นแทนแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมสัตว์เลี้ยงจะนำโพรไบโอติกมาเสริมกับอาหารสัตว์ โดยพบว่าสามารถลดความเครียดของสัตว์เพิ่มความต้านทานโรค และทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้อย่างแข็งแรงมากขึ้น

พรีไบโอติก (Prebiotics) เป็นอาหารที่ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งพรีไบโอติกเดินทางผ่านระบบทางเดินอาหารของสุนัขและช่วยให้แบคทีเรียที่ดีเจริญเติบโตขึ้น อีกทั้งยังเป็นอาหารของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ส่วนใหญ่มาจาก เส้นใยคาร์โบไฮเดรตที่เรียกว่า โอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharides) ไม่สามารถย่อยได้ คงสภาพอยู่ในระบบทางเดินอาหารและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น

18. หากมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเสริมสาร โพรไบโอติก และพรีไบโอติกใหม่ 1 ผลิตภัณฑ์ ท่านสนใจหรือไม่
- () สนใจ () ไม่สนใจ เพราะ..... (ข้ามไปข้อ 20)

19. กรุณาเรียงลำดับเกณฑ์ที่ท่านให้ความสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ด (กรุณาเรียงลำดับทุกข้อ โดยลำดับ 1 สำคัญที่สุด 2 และ 3 รองลงมาตามลำดับ)
- ลักษณะเม็ดและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ดึงดูดใจ
- ความชอบและการยอมรับของสุนัข
- ประโยชน์และสารอาหารที่สุนัขได้รับ

20. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมของท่านเกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขสำเร็จรูปชนิดเม็ดเพื่อสุขภาพสำหรับสุนัข ช่วงโตเต็มวัย
-

ขอบพระคุณในความร่วมมือ

ผู้วิจัย

ภาคผนวก ก3

วิธีวิเคราะห์ทางสถิติของ Friedman และวิธี Analog Fisher's LSD_{rank}

วิธีของ Friedman เป็นการประเมินแบบสองทาง (Two-Tailed Test) โดย

H_0 : ลำดับความชอบของทุกตัวอย่างเท่ากัน

H_1 : ลำดับความชอบของทุกตัวอย่างไม่เท่ากัน

ที่ α ใดๆ ที่กำหนด (เช่น $\alpha = 0.05$) ถ้าค่า T มากกว่าค่า X^2 ($\alpha, df = t - 1$) จากตาราง ต้องปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) หากปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) จะทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Analog Fisher's LSD_{rank} ต่อไป

สำหรับสูตรการคำนวณค่า T หรือไคสแควร์ (X^2_{Rank})

$$T \text{ หรือ } X^2_{Rank} = \left\{ \left[\frac{12}{bt(t+1)} \right] \times \sum R_j^2 \right\} - 3b(t+1)$$

โดย b = จำนวนผู้ประเมิน

t = จำนวนตัวอย่าง

R_j^2 = กำลังสองของผลรวมลำดับความชอบของตัวอย่าง (Rank sum)

สูตรการคำนวณค่า Analog Fisher's LSD_{rank}

$$\text{Analog Fisher's } LSD_{rank} = t(\alpha/2, \text{infinity}) \sqrt{bt(t+1)/6}$$

ที่ระดับความน่าจะเป็น $\alpha = 0.05$ ค่า $t(\alpha/2, \text{infinity}) = 1.96$ ดังนั้น

$$\text{Analog Fisher's } LSD_{rank} = 1.96 \sqrt{bt(t+1)/6}$$

เมื่อเปรียบเทียบลำดับความชอบ (Rank sum) ของ 2 ตัวอย่างใดๆ หากมีค่าแตกต่างกันมากกว่าค่า LSD_{rank} ที่คำนวณได้ให้สรุปว่า 2 ตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α ที่กำหนด



1. วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L* a* b* (ยี่ห้อ Minolta รุ่น CM 3500d)

ทำการเทียบมาตรฐานเครื่องวัดค่าสี Spectrophotometer โดยวัดค่าการสะท้อนแสง (Reflectance) ใช้แหล่งกำเนิดแสง D₆₅ มุมผู้สังเกตการณ์มาตรฐาน 10 องศา เตรียมตัวอย่างเป็นผงละเอียด บรรจุตัวอย่างครึ่งหนึ่งของความสูงที่ใส่ตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำวัด 4 ครั้ง

2. วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ด้วยเครื่อง Aqua Lab series 3 (ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น CX3TE)

ทำการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ตามคู่มือการใช้งาน เครื่อง วัดวอเตอร์แอกทิวิตีในอาหาร สำหรับเครื่อง Aqua Lab series 3 โดยเตรียมตัวอย่างเป็นผงละเอียด บรรจุตัวอย่างครึ่งหนึ่งของความสูงที่ใส่ตัวอย่าง และใส่เครื่องวัดวอเตอร์แอกทิวิตี บันทึกค่าที่อ่านได้

3. วิเคราะห์ความแข็งของเมล็ดอาหารด้วยเครื่อง Lloyd

3.1 ทำการวัดค่าความแข็งของเมล็ดอาหาร ด้วยเครื่อง Lloyd Instrument รุ่น TA 500 ด้วยวิธีการวัดค่าตามคู่มือปฏิบัติการวิชา 01054-343 การวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ (2554) กดตัวอย่างบริเวณกลางเมล็ดอาหาร ที่ความเร็วในการกด 20 มิลลิเมตรต่อนาที ระยะ ในการกด 0.30 มิลลิเมตร ทำการทดลอง 20 ซ้ำ

4. วิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์

ทำการวัดค่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลิตภัณฑ์ ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ ยี่ห้อ Sylvac รุ่น s_cal pro โดยวัดตรงกลางผลิตภัณฑ์ และบันทึกผลในหน่วยเซนติเมตร ทำการทดลอง 20 ซ้ำ



1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1.1 วิธีการวิเคราะห์

อบด้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ซึ่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 1.0-1.5 กรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแล้ว ทำแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่

1.2 วิธีคำนวณ

สามารถคำนวณหาปริมาณของความชื้นในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{100 \times (W1 - W2)}{W1 - W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด
 W1 = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
 W2 = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl method) (AOAC, 2000)

2.1 วิธีการวิเคราะห์

2.1.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5- 1.0 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยระวังอย่าให้ติดข้างหลอด

2.1.2 เติมตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และ คอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร

2.1.3 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดย่อยย่อยจนได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งไว้ให้เย็นและ ไออกรดมด

2.1.4 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดกลั่นอัตโนมัติ เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 จนกว่าสารละลายในหลอดเปลี่ยนเป็น

สีน้ำตาล

2.1.5 กรดสารละลายประมาณ 3 นาที่ และรองรับสารละลายที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ที่เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรดผสมโบรโมครีซอลกรีน 1:1

2.1.6 นำไปไตเตรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อน (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรสารละลายกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจน และร้อยละของโปรตีน

2.2 วิธีการคำนวณ

สามารถคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจนและร้อยละของโปรตีนในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V1-V2) \times \text{molarity} \times 14.007 \times 100}{\text{mg. of sample}}$$

เมื่อ V1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
V2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} \times F$$

เมื่อ F = conversion factor ซึ่งเป็นค่าคงที่เฉพาะของแหล่งโปรตีน ปริมาตรโปรตีนส่วนใหญ่ประกอบด้วย N = 16% ดังนั้นค่า F ของการคำนวณหาปริมาณในอาหารทั่วไป เท่ากับ 6.25

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

3.1 วิธีการวิเคราะห์

3.1.1 ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม ใส่กระดาดกรองที่ทราบน้ำหนัก หลังจากนั้นนำไปใส่ในทิมเบอร์ (thimber)

3.1.2 เติมน้ำมันปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 50-75 มิลลิลิตร ในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งรู้

น้ำหนักแน่นอน (W2)

3.1.3 นำทิมเบอร์และถ้วยอะลูมิเนียมต่อเข้ากับชุดวิเคราะห์ไขมัน

3.1.4 ทำการสกัดโดยการแช่ตัวอย่างในปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นเวลา 20 นาที แล้ว
จึงสกัดด้วยการไชฟอนเป็นเวลา 45 นาที

3.1.5 ระบายปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากถ้วยอะลูมิเนียมโดยการวางในตู้ดูดควัน
เป็นเวลา 10 นาที

3.1.6 นำถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งมีน้ำมันไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.1.7 ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

3.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{100 \times (W1 - W2)}{W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง (กรัม)
W1 = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมและไขมันหลังจากอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ (กรัม)
W2 = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมที่นำไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ (กรัม)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ (AOAC, 2000)

4.1 วิธีการวิเคราะห์

4.1.1 นำครุชเบิลที่บรรจุตัวอย่างประมาณ 0.5-3 กรัม วางลงในตำแหน่งที่บรรจุ
ครุชเบิลของเครื่อง Fibertec hot extraction unit

4.1.2 เติมสารละลายกรดซัลฟูริก 0.255 นอร์มัล ปริมาตร 100-200 มิลลิลิตร ลง
ในคอลัมน์ ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที

4.1.3 เมื่อครบเวลา ปล่อยให้สารละลายกรดซัลฟูริกออกจากคอลัมน์ ล้างกรดออก
จากตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นเดือด

4.1.4 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 นอร์มัล ปริมาตร 100-200
มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์ ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที

4.1.5 เมื่อครบเวลา ปล่อยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกจากคอลัมน์ เดิม เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 เพื่อล้างล้างออกจากตัวอย่าง

4.1.6 นำครุชิลเปิดพร้อมตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยกรดและเบสแล้วไปอบที่ 105-110 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

4.1.7 อบอีก 2 ครั้ง จนน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม จะได้น้ำหนักครุชิลเปิด รวมกับกาก (W1)

4.1.8 นำเข้าเตาเผา เเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสี ขาวหรือเทา ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก จะได้น้ำหนักครุชิลเปิด+เถ้า

4.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{Crude fiber} = \frac{100 \times (W1 - W2)}{W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
 W1 = น้ำหนักครุชิลเปิด + กาก (กรัม)
 W2 = น้ำหนักครุชิลเปิด + เถ้า (กรัม)

5. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

5.1 วิธีการวิเคราะห์

5.1.1 เเผาด้วยกระบือเพลิงเคลือบในเตาเผาเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก

5.1.2 ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมลงในถ้วยกระบือเพลิง เเผาไล่ควันด้วยตะเกียงบุนเสน

5.1.3 นำเข้าเตาเผา เเผาที่อุณหภูมิ 550 °ซ จนได้เถ้าสีขาวหรือเทา ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

5.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{100 \times (W2-W)}{W1-W}$$

- เมื่อ W = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)
 W1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)
 W2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)



ภาคผนวก ง

ปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน วิเคราะห์คุณภาพทาง
จุลชีววิทยา อาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย และเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ภาคผนวก ง1

ปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน

ตารางผนวกที่ ง1 ปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุนัขหลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน

สูตรอาหาร	สุนัข ตัวที่	ปริมาณ การกิน (กรัม)	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu log ₁₀ /g มูลสุนัข)			
			<i>B. subtilis</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp	<i>E.coli</i>
สูตรควบคุม	1	3,307	2.00	10.36	9.04	7.55
	2	5,181	2.00	10.00	10.30	7.68
	3	4,403	2.00	9.59	9.49	6.36
	4	5,916	2.00	9.98	9.58	5.43
T1+C	5	6,300	8.40	12.47	12.54	8.20
	6	6,210	8.47	10.49	10.34	5.32
	7	6,291	6.67	12.34	12.30	2.00
	8	5,267	7.01	9.73	9.41	2.00
T2+C	9	5,626	8.16	10.36	8.11	8.81
	10	4,470	6.62	10.11	7.86	6.47
	11	3,955	6.67	9.76	7.49	3.94
	12	3,800	7.48	9.52	8.08	2.00

ภาคผนวก ง2
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Chromogenic E. Coli (coliform medium[®]) ตามวิธีของ Christen *et al.* (1992)

Peptone	5.00 กรัม
Lactose	2.50 กรัม
Yeast extract	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

ต้มจนละลาย นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. MRS-agar ตามวิธีของ DeMan *et al.* (1960)

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
Agar	14.00 กรัม
Sorbitan monostearate	1.00 มิลลิลิตร
Distilled water into	1000.00 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH 5.0 ± 0.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1N นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Beeren's agar ตามวิธีของ Beerens (1990)

Columbia agar [®]	39.00 กรัม ประกอบด้วย
Peptone	23.00 กรัม
Starch	1.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Agar	10.00 กรัม
Glucose	5.00 กรัม
Cysteine hydrochloride	0.50 กรัม
Agar	5.00 กรัม
Propionic acid	5.00 กรัม
Distilled water	1000.00 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH 5.0 ± 0.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1N นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงสำหรับ *B. subtilis* ตามวิธีของ BAM (2002)

Nutrient Broth	
Peptone	10.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Beef extract	5.00 กรัม
Distilled water	1000.00 มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Nutrient agar	
Peptone	10.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Beef extract	5.00 กรัม
Distilled water	1000.00 มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Skimmilk Agar

สารละลายที่ 1

Agar	2.00 กรัม
Distilled water	70.00 มิลลิลิตร

นำไปต้มจนวุ้นละลาย

สารละลายที่ 2

Skimmilk	1.00 กรัม
Distilled water	30.00 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายที่ 1 และ 2 อย่างรวดเร็วและเติม sodium azide 1 มิลลิลิตร (ร้อยละ 0.02) จากนั้นเทใส่ petri dish ละ 25 มิลลิลิตร จะได้ความหนาของ skimmilk agar ที่เท่ากันทุก plate

Starch Agar

Potato starch	1.00 กรัม
Cooled Distilled water	10.00 มิลลิลิตร
Nutrient Agar	100.00 มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นถึง 45 องศาเซลเซียส แล้วเทลงเพลท

ภาคผนวก ง3

สารละลาย

1. **Maximum recovery diluents (MRD-broth)** สารละลายสำหรับทำ dilution เชื้อ *E. coli* และ *Lactobacillus*

Peptone	1.00 กรัม
Sodium chloride	8.50 กรัม
Distilled water	1000.00 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. **Dilution-broth *Bifidobacteria***

Peptone	1.00 กรัม
Sodium chloride	8.50 กรัม
Cysteine hydrochloride	0.50 กรัม
Distilled water	1000.00 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. **อาหารเหลวสำหรับทดสอบน้ำตาลของ *Lactobacillus***

อาหารเหลว MRS ไม่เติมกลูโคส และ meat extract

Bromocresol purple 0.004 %

น้ำตาลชนิดต่าง ๆ คือ arabinose glucose lactose maltose mannitol raffinose salicin sorbitol sucrose trehalose xylose esculin ให้น้ำตาลเข้มข้น 10%

4. **อาหารเหลวสำหรับทดสอบน้ำตาลของ *Bifidobacteria***

อาหารเหลว Beeren's agar

Bromocresol purple 0.004 %

น้ำตาลชนิดต่าง ๆ คือ arabinose lactose และ sorbitol เข้มข้น 10%

ภาคผนวก ง4

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. การนับเชื้อจุลินทรีย์ (Enumeration of microorganisms)

ใช้วิธีการทำ Dilution plate count เป็นเทคนิคการทำให้เชื้อหรือตัวอย่างเจือจางลงด้วย MRD-Broth (peptone 0.1% water) โดยทำการเจือจางเพิ่มครั้งละ 10 เท่าเป็นลำดับ (ten fold serial dilution) ตามวิธีของ Michael และ Burtor (1995)

วิธีการ

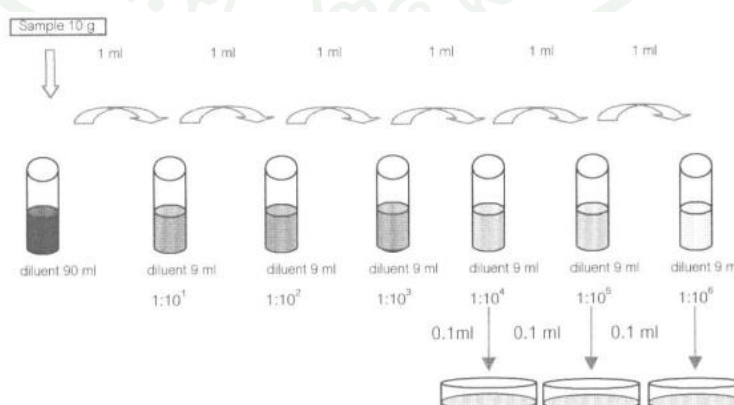
1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยชั่งส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด นำไปต้มจนละลาย และนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำมาเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.2 ทำการเจือจางตัวอย่าง

- ชั่งตัวอย่างหนัก 10 กรัม ใส่ในสารละลาย diluents โดยเชื้อ *E. Coli* และ *Lactobacillus* ให้ MRD-broth ส่วนเชื้อ *bifidobacteria* ใช้ MRD broth+cysteine ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:10 เขย่าให้เข้ากัน

- ใช้ปิเปต ดูดเชื้อที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน MRD broth 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:10² ทำการเจือจางต่อไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:10⁶

1.3 ทำการ spread plate โดยใช้ไมโครปิเปต ดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ในขั้นตอนการ spread plate เกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* จะใช้สารละลายเจือจางที่ 10⁴-10⁶ และ *E. Coli* จะเริ่มใช้สารละลายเจือจางที่ 10²-10⁴



ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการทำ Dilution

1.4 การบ่มเชื้อ

- การบ่มเชื้อ *E. Coli* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีออกซิเจนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- การบ่มเชื้อ *Lactobacillus* โดยการนำ plate ใส่ในโถ anaerobic jar ใน anaerobe count (เป็น pack ที่จะปล่อยคาร์บอนและไฮโดรเจนออกมา ปรับสภาพอากาศให้มีปริมาณออกซิเจน ประมาณร้อยละ 5 เมื่อเติมน้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

1.5 การนับโคโลนี จะเลือกนับ plate ที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณเชื้อโดยใช้สมการดังนี้

$$N = \frac{\sum C}{V [n_1 + 0.1n_2]d}$$

V = volume of sample

n_1 = number of plate (1 dilution step)

n_2 = number of plate (2 dilution step)

d = lowest count dilution

รายงานผลเป็น จำนวนโคโลนีของเชื้อต่อตัวอย่าง 1 กรัม (colony forming units/g CFU)

2. การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย (Identification of Bacteria)

2.1 การจำแนกเชื้อ *Lactobacillus* ตามวิธีของ Michael and Burtor (1995)

เชื้อมาจาก plate เลี้ยงเชื้อตัวอย่างมา streak plate บนอาหารแข็ง MRS เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ของ *Lactobacillus* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมงเพื่อนำไปทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางชีวเคมี ดังนี้

2.1.1 การตรวจสอบการติดสีแกรม เชื้อเชื้อบริสุทธิ์เกลี่ย (smear) ลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้น fix เชื้อโดยนำแผ่นสไลด์ที่ smear เชื้อแล้วไปผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง หยด crystal violet ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นหยดเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 นาน 30 วินาที ล้างแผ่นสไลด์ด้วยน้ำกลั่น แล้วจึงย้อมด้วยสีซาฟรานิน (safranin) เป็นเวลา 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซับแผ่นสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจสอบลักษณะเซลล์ การจัดเรียงตัวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (แกรมลบ จะให้สีเป็นสีม่วง, แกรมบวกจะให้สีเป็นสีแดง)

2.1.2 การทดสอบแคตาเลส (catalase) นำเชื้อบริสุทธิ์มาเขี่ยลงบนกระดากกรองที่หยดสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ร้อยละ 3 ถ้าพบโคโลนีที่เกิดฟองอากาศ แสดงว่าแบคทีเรียขึ้นเป็นบวก ส่วนโคโลนีที่ไม่เปลี่ยนแปลงจะให้ผลลบ

2.1.3 การตรวจสอบการสร้างก๊าซ เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS ที่ใส่หลอดดักก๊าซ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และทำการตรวจผลภายใน 7 วัน แบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative bacteria จะพบก๊าซในหลอดดักก๊าซ ส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative bacteria จะไม่พบก๊าซในหลอดดักก๊าซ

2.1.4 การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 10 37 และ 45 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญโดยดูจากความขุ่น เมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และภายใน 7 วัน

2.1.5 การทดสอบความทนเกลือ เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเหลว MRS ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 5 และ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญเติบโตโดยดูจากความขุ่นเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และภายใน 7 วัน

2.1.6 การทดสอบการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ

- เตรียมอาหารเหลว MRS ที่ไม่ได้ glucose และ meat extract เป็นอาหารสูตรพื้นฐาน (basal media) เติม bromocresol purple ร้อยละ 0.004 เป็นตัวบ่งชี้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- เติมน้ำตาลลงในอาหารพื้นฐานให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เตรียมสารละลายน้ำตาลที่ใช้ทดสอบได้แก่ อราบินอส (arabinose) กลูโคส (glucose) แลคโตส (lactose) มอลโตส (maltose) แมนนิทอล (mannitol) ราฟิโนส (raffinose) ซอร์บิทอล (sorbitol) ซาลิซิน (salicin) ซูโครส (sucrose) ทรีฮาโรส (trehalose) ไซโลส (xylose) เอสคิวลิน (esculin) เตรียมสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยเติมน้ำตาลลงผสมในอาหารพื้นฐานที่เตรียมไว้ นำมากรองให้ปราศจากเชื้อโดยใช้เครื่องกรองแบคทีเรีย Millipore filter ที่มีแผ่นเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอนเมตร

- เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS ที่เติมน้ำตาลแต่ละชนิดลงในแต่ละหลอดและหลอดที่เป็นอาหารพื้นฐาน (ไม่เติมกลูโคส) เขย่าให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจผลภายใน 7 วัน โดยดูจากการเปลี่ยนสีของตัวบ่งชี้ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อมีการเจริญและให้ผลบวก ส่วนเชื้อที่ไม่เปลี่ยนสีของอาหารเปรียบเทียบกับหลอดที่เป็นอาหารพื้นฐาน แสดงว่าให้ผลเป็นลบ

ผลที่ได้จากการทดสอบ จะให้ผลสองแบบ คือ ให้ผลบวก (+) แสดงว่าจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในอาหารทดสอบนั้น และให้ผลลบ (-) แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ใน

อาหารทดสอบนั้น นำผลการทดสอบที่ได้ไปอ่านผลโดยเทียบกับตารางจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ของ Bergey's manual

2.2 การจำแนกชนิดของ *Bifidobacteria* ตามวิธีของ Michael และ Burtor (1995)

เก็บเชื้อจากเฟลทเฉียงเชื้อตัวอย่างมา streak plate บนอาหารแข็ง Beeren's agar เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ของ *Bifidobacteria* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางชีวเคมีดังนี้

2.2.1 การทดสอบการติดสีแกรม เชื้อเชื้อบริสุทธิ์ที่เกลี่ยลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้น fix เชื้อโดยนำแผ่นสไลด์ที่ smear เชื้อแล้วไปผ่านเปลวไฟ อย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง หยดสีคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) ทิ้งไว้ 1 นาที เทสีทิ้ง จากนั้นหยดกลูคอลไอโอดีน (lugol's iodine) ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นหยดเอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 นาน 30 วินาที ล้างแผ่นสไลด์ด้วยน้ำกลั่น แล้วจึงย้อมด้วยสีซาฟรานิน (safranin) เป็นเวลา 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซับแผ่นสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจสอบลักษณะเซลล์ ดูการจัดเรียงตัวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (แกรมลบ จะให้สีเป็นสีม่วง แกรมบวกจะให้สีเป็นสีแดง)

2.2.2 การทดสอบแคตาเลส (catalase) นำเชื้อบริสุทธิ์มาเกลี่ยลงบนกระดาษกรองที่หยดสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ร้อยละ 3 ถ้าพบโคโลนีที่เกิดฟองอากาศ แสดงว่าแบคทีเรียขึ้นเป็นบวก ส่วนโคโลนีที่ไม่เปลี่ยนแปลงจะให้ผลลบ

2.2.3 การทดสอบยูรีเอส (urease) เป็นการทดสอบหาเอนไซม์ยูรีเอส ที่ใช้ในการย่อยยูเรียออกเป็นแอมโมเนีย จะใช้อาหารเหลว เดมียูเรีย $(NH_2)_2 C=O$ และ phenol red (pH indicator) จะทำการเก็บเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลองอาหารเหลว ที่เดมียูเรีย บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลภายใน 7 วัน โดยดูจากสีของตัวบ่งชี้ ถ้าเป็นจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ยูรีเอส จะเปลี่ยนสีของ phenol red จากสีเหลืองเป็นสีชมพู แสดงว่าให้ผลเป็นบวก ถ้าสีของ phenol red ไม่เปลี่ยนแปลงแสดงว่าให้ผลเป็นลบ

2.2.4 การทดสอบไนเตรท (nitrate) เป็นการตรวจวัดความสามารถในการ reduce nitrate (NO_3) ให้เป็น nitrite (NO_2) หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ เช่น N_2 ตรวจสอบโดยเตรียมอาหารเหลวที่เติมแหล่งไนเตรท (KNO_3) จากนั้นเก็บเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาตรวจวัดผลภายใน 7 วัน การตรวจวัดผล หลังจากนำออกจากตู้บ่มเชื้อแล้วจะเติม reagent 2 ชนิด คือ กรดซัลฟานิลิก (sulfanilic acid) และแอลฟา-แนฟทิลามีน (α -naphthylamine) เมื่อสีเปลี่ยนเป็นสีแดงแสดงว่าให้ผลเป็นบวก ส่วนหลอดที่ยังไม่เปลี่ยนสี จะทำการหยดสังกะสี (Zn) ลงไปในอาหาร ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่าให้ผลเป็นบวก แต่ถ้ายังไม่เปลี่ยนสีแสดงว่าให้ผลเป็นลบ

2.2.5 การทดสอบการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ

- เตรียมอาหารเหลว Beeren's agar ที่ไม่ใส่ glucose และ meat extract เป็นอาหารสูตรพื้นฐาน (basal media) เติม bromocresol purple ร้อยละ 0.004 เป็นตัวบ่งชี้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- เตรียมสารละลายน้ำตาลที่ใช้ทดสอบได้แก่ อราบินโนส (arabinose) กลูโคส (glucose) แลคโตส (lactose) ราฟิโนส (raffinose) ซอร์บิทอล (sorbital) เตรียมสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยเติมน้ำตาลลงผสมในอาหารพื้นฐานที่เตรียมไว้ นำมากรองให้ปราศจากเชื้อโดยใช้เครื่องกรองแบคทีเรีย Millipore filter ที่มีแผ่นเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอน เติมน้ำตาลลงในอาหารพื้นฐานให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

- เชื้อเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเหลว Beeren's agar ที่เติมน้ำตาลแต่ละชนิดลงในแต่ละหลอด และหลอดที่เป็นอาหารพื้นฐาน (ไม่เติมกลูโคส) เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาตรวจผลภายใน 7 วัน โดยดูจากการเปลี่ยนสีของตัวบ่งชี้ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อมีการเจริญและให้ผลบวก ส่วนเชื้อที่ไม่เปลี่ยนสีของอาหารเปรียบเทียบกับหลอดที่เป็นอาหารพื้นฐาน แสดงว่าให้ผลเป็นลบ

ผลที่ได้จากการทดสอบ จะให้ผลสองแบบ คือ ให้ผลบวก (+) แสดงว่าจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในอาหารทดสอบนั้น และให้ผลลบ (-) แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารทดสอบนั้น นำผลการทดสอบที่ได้ไปอ่านผลโดยเทียบกับตารางจำแนกชนิดจุลินทรีย์ของ Bergey's manual

2.3 การจำแนกเชื้อ *B. subtilis* ตามวิธีของ Norris *et al.* (1973)

2.3.1 การทดสอบแคตาเลส (catalase) เชื้อที่เจริญ Nutrient Agar slant 1-2 วัน มาทดสอบโดยใส่ร้อยละ 10 ของ H_2O_2 0.5 มิลลิลิตร ลงไปแล้วสังเกตการเกิดก๊าซ ถ้าไม่มีฟองก๊าซ ควรทดสอบซ้ำด้วยการใช้เชื้อจาก chocolate agar

2.3.2 Voges-Proskauer Reaction เป็นการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการใช้น้ำตาลกลูโคส แล้วให้ผลเป็น acetyl-methylcarbinol โดยใช้ VP-medium ใส่หลอดทดลองละ 5 มิลลิลิตร มาเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการทดสอบ acetylmethylcarbinol production โดยใช้ปิเปตดูดเชื้อจาก VP-medium มาใส่หลอด Wassermann ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เติม alpha-naphthol ความเข้มข้นร้อยละ 5 ใน absolute alcohol ลงในหลอด 0.6 มิลลิลิตร จากนั้นเติม potassium hydroxide-creatine solution 0.2 มิลลิลิตร เขย่าหลอดแรงๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ 10-20 นาที ถ้ามี acetyl-methylcarbinol อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะ ปรากฏสีแดงส้มสดขึ้นที่บริเวณผิวหน้าของอาหารก่อน และในที่สุดจะแดงไปทั่วทั้งหลอด

2.3.3 Growth in anaerobic agar ทำการ inoculate เชื้อลงบนอาหาร Nutrient Agar 1 ชุด และนำไปบ่มใน anaerobic jar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อีกชุดหนึ่งเป็นการทดลองควบคุมโดยบ่มที่สภาพมีอากาศ โดยชุดที่บ่มใน anaerobic jar ใช้ Anaerocult® A เติมน้ำจนท่วมก่อนใช้งานแล้วรีบใส่ใน jar ทันที ข้างในมีผงเหล็กละเอียด ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจนเหล็กเป็นสนิม ทำให้ไร้ออกซิเจน และยังมีสารเคมีที่ทำปฏิกิริยากับน้ำได้คาร์บอนไดออกไซด์ และคอยสังเกตว่าเป็นสภาพที่ไร้ออกซิเจนแล้ว โดยใช้ Redox indicator คือ Resazulin เป็นตัวบ่งชี้สภาพไร้ออกซิเจน โดยถ้ามีออกซิเจนจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีชมพู ถ้าไม่มีออกซิเจนจะเป็นสีขาว หลังจากบ่มเชื้อใน Anaerobic jar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจดูการเจริญเทียบกับชุดการทดลองควบคุม

2.3.4 Hydrolysis of starch ทำโดยการเพาะเชื้อลงเพลทที่มี starch agar ทำ 2 ขั้ว บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วนำมาหยดสารละลายของไอโอดีน จะปรากฏวงใสรอบบริเวณที่บ่มเชื้อ ถ้าเชื้อมีการสร้างเอนไซม์มาย่อยแป้ง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสุทธยาณ์ มณีพันธุ์
เกิดวันที่	25 กรกฎาคม พ.ศ. 2529
สถานที่เกิด	สระบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีทางกระบวนการเคมีและฟิสิกส์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2552)
ผลงานทางวิชาการ	สุทธยาณ์ มณีพันธุ์ ทานตะวัน พิรัชย์ กมลวรรณ แจ้งชัด และจุฬาลักษณ์ จารุณช. 2556. การศึกษาพฤติกรรม และความต้องการ ของผู้เลี้ยงสุนัขเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุนัขชนิดเม็ด. การ ประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยศรีปทุม วิทยาเขตชลบุรี ปี 2556.