

ชื่อเรื่อง	การผลิตโปรไบโอติกสำหรับเป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงสุกร
ผู้วิจัย	ดร.ณิ โสมนัส
สถานที่ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส
กรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศิริ นีรังค์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทิพวรรณ ทองสุข
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2557
คำสำคัญ	แบคทีเรียโปรไบโอติก ไมโครเอนแคปซูเลชัน อายุผลิตภัณฑ์ สารเสริมอาหาร การเสริมอาหาร สุกรหลังหย่านม

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อผลิตอาหารเสริมชีวภาพสำหรับสุกร เริ่มจากการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกจากลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ และมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นของสุกร บนอาหารจำเพาะสูตร MRS ผสมโบรคซีซอลเพอร์พอล และนำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติก ได้แก่ ความสามารถทนอุณหภูมิสูง 80-95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง ความสามารถทนต่อสภาวะกรดต่ำ pH 1-4 นาน 3-5 ชั่วโมง สามารถต้านทานยาปฏิชีวนะได้ระดับหนึ่ง คือ Erythromycin, Tetracycline, Chloramphenicol, Kanamycin, Neomycin, 10% Enrofloxacin, 0.1% Amoxicillin และ 0.1% Colistin sulphate รวมทั้งสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช คือ เซลลูเลส ไสแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส แบคทีเรียที่คัดแยกได้นี้ถูกจัดจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีการหาลำดับเบสของยีนส่วน 16S rRNA ขนาด 1.3 kb พบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากลำไส้สุกรได้ทั้งหมด 93 ไอโซเลท แต่แสดงคุณสมบัติโปรไบโอติกเพียง 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ที่สามารถให้ผลเป็นอาหารเสริมสำหรับสุกรได้ตามคู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพ กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2555)

การศึกษการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกเมื่อนำไปผสมกับอาหารพื้นฐานสุกรเพื่อเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ดซึ่งต้องผ่านความร้อนสูงระยะสั้น (อุณหภูมิ 80°C นาน 15 วินาที) และเมื่อทดสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกในระบบการย่อยอาหารจำลองของสุกร พบว่าหากใช้เทคนิคการตรึงเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยโปรตีนนมและพอลิแซ็กคาไรด์

คอมเพล็กซ์ (Milk protein hydrolysate (MPH), 0.5% (w/v) xanthan gum และ 0.25% (w/v) gellan gum) ในอัตราส่วน 1:0.5:0.5 ของอิมัลชันน้ำในน้ำมัน จะสามารถเพิ่มการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกในกระบวนการอัดเม็ดอาหารได้ $77.25 \pm 4.2\%$ โดยให้ค่าครึ่งชีวิตของผลิตภัณฑ์ 41 วัน และสามารถรอดชีวิตได้ถึง 80% เมื่อทดสอบในน้ำย่อยกระเพาะอาหารสุกรจำลองที่ pH 2.0 นาน 2 ชั่วโมง ขณะเดียวกันเซลล์โปรไบโอติกสามารถเพิ่มปริมาณเป็นสองเท่า ($216.30 \pm 11.6\%$) เมื่อผ่านเข้าสู่สภาวะน้ำย่อยของลำไส้เล็กที่มี pH 7.4 นาน 4 ชั่วโมง การทดสอบประสิทธิภาพอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ เมื่อถูกผสมในอาหารพื้นฐานทั้งในรูปแบบผงและอัดเม็ด (3×10^6 เซลล์ต่อกรัมอาหาร) เพื่อใช้เลี้ยงสุกรพันธุ์ผสม (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์ x ดุรอค) ระยะหลังหย่านม อายุ 25 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 6.5 กิโลกรัม จำนวน 84 ตัว เลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน ในฟาร์มเกษตรกรแบบเปิด ผลการทดลองพบว่าการเสริมโปรไบโอติกลงในอาหารพื้นฐานแบบผงมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการให้อาหารแบบผงเสริมยาปฏิชีวนะ (0.1% amoxicillin และ 0.1% colistin) เนื่องจากค่าอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักใกล้เคียงกัน ขณะที่การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกลงในอาหารทั้งแบบอัดเม็ดและแบบผงมีแนวโน้มให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนและเยื่อใยดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะการใช้รูปแบบอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกส่งผลให้สุกรมีประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ดีกว่าอาหารผงเสริมโปรไบโอติก

Title	PROBIOTIC PRODUCTION FOR DIETARY SUPPLEMENTS IN SWINE RAISE
Author	Darunee Sommanas
Advisor	Assistant Professor Sirilux Chaijamrus, Ph.D.
Co-Advisor	Associate Professor Pensiri Nabheerong, Ph.D. Assistant Professor Tipawan Thongsook, Ph.D.
Academic Paper	Thesis M.S. in Biotechnology, Naresuan University, 2014
Keywords	Probiotics bacteria, Microencapsulation, Shelf life, Feed additive, Supplement, Weaned swine

ABSTRACT

This research aims to produce a biological supplement for swine. Bacterial screening was initially determined as lactic acid bacteria from swine intestine; small intestine, large intestine and feces from the cecum which were carried out on MRS agar with bromocresol purple. The isolated bacteria were investigated the probiotic properties such as heat resistance (80-95°C for 1-1.5 h), acidic resistance (pH 1-4 for 3-5 h), antibiotic resistance at the level; Erythromycin, Tetracycline, Chloramphenicol, Kanamycin, Neomycin, 10% Enrofloxacin, 0.1% Amoxicilin and 0.1% Colistin sulphate and, including ability of enzyme secretion to hydrolyze non starch polysaccharides; cellulase, xylanase and hemicellulase. The isolated bacteria were identified by full sequencing of 16s rRNA for 1.3 kb. The lactic acid bacteria were found total 93 isolates from swine intestine, however their probiotic properties were interestingly displayed only 5 isolates; *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 and *Pediococcus pentosaceus*. These five strains were allowed from handbook of Biosafety, Department of Industrial Works (2555) for using as probiotic-supplemented diets for swine.

The studies on survival probiotic bacteria after mixing with swine diets prior to pelleting process at high temp and shortly time (80°C for 15 seconds) and under condition in gastro-intestinal tract of swine, *in vitro* model were determined to increase

survival by cell immobilization technique as microencapsulation with protein-polysaccharide complex (milk protein hydrolysate (MPH), 0.5% (w/v) xanthan gum and 0.25% (w/v) gellan gum) of 1:0.5:0.5 ratios in water-in-oil emulsion. The encapsulated cell showed increase survivability of $77.25 \pm 4.2\%$ after pelleting process. Their half-life was 41 days. And survivability of encapsulated cell reached to 80% during gastric transit after incubation in simulated gastric juice under pH 2.0 for 2 h. In the meantime, probiotic cells was able increased 2 folds ($216.30 \pm 11.6\%$) after incubation in simulated intestinal juice at pH 7.4 for 4 h. Efficiency of probiotic-supplemented diet was evaluated for weaned swine as hybrid crossbred (Landrace x Large White x Duroc) aged 25 days, average weight 6.5 kg total 84 weaned swine in open farm system for 42 days. Five strains of probiotic bacteria were mixed with basal diet prior pelleting (3×10^6 cell/g feed dry wt.). The result showed that probiotic supplementation in ground diet was evaluated the efficiency as same as adding antibiotics (0.1% amoxicillin and 0.1% colistin) in ground diet due to the average daily gain (ADG) was not significant value ($p < 0.05$) and the feed conversion ratio (FCR) has similarity. While, supplementation of probiotic bacteria in both ground diet and pelleted diet tend to give the digestibility of crude protein and crude fiber better than the control. Particularly, supplementation of probiotic bacteria in pelleted diet have an effect on feed efficiency (FE) that was better than in ground diet.