

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

โปรไบโอติกถือได้ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารของสัตว์ เพราะช่วยย่อยสลายอาหารส่วนเหลือในส่วนที่ร่างกายสัตว์ไม่สามารถย่อยได้คือสารอาหารจำพวกเยื่อใย เช่น เฮมิเซลลูโลสที่เป็นส่วนประกอบในวัตถุดิบอาหารจำพวกพืชซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในวัตถุดิบอาหารสัตว์ รวมทั้งกลุ่มพรีไบโอติกซึ่งเป็นสารอาหารที่ร่างกายสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถย่อยได้ แต่มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (Gaggia, Mattarelli and Biavati, 2010) ส่งผลให้ผู้ถูกอาศัย (host) สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้มากขึ้นการเจริญเติบโตจึงเพิ่มขึ้นด้วย และโปรไบโอติกยังสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้อีกด้วยโดยส่วนใหญ่โปรไบโอติกมักเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus* sp. *Streptococcus* sp. และ *Enterococcus faecium* เป็นต้น ถึงแม้ว่าโปรไบโอติกจะมีข้อดีอยู่มาก แต่ก็ยังมีข้อเสียอยู่บ้างเช่นกัน คือ ผลที่ได้จากการใช้งานไม่แน่นอนซึ่งอาจเนื่องมาจากปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ (Chen, et al., 2012) เพราะเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดและแหล่งที่มาของเชื้อจุลินทรีย์มักมีความเฉพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์ โดยเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดอาจใช้ได้ผลดีกับสัตว์ชนิดหนึ่งแต่อาจให้ผลไม่ตอบสนองในสัตว์อีกชนิดหนึ่ง หรือเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์นั้นสามารถปรับตัวและมีการแสดงคุณสมบัติต่างๆ ได้ดีในสภาพแวดล้อมที่คุ้นเคย ดังนั้นจึงควรศึกษารายละเอียดและคุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นอาหารเสริมชีวภาพ รวมถึงการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตและการเก็บรักษาด้วย ถ้าหากมีวิธีการเก็บรักษาที่ยั่งยืนเกินไปอาจทำให้จุลินทรีย์มีอัตราการรอดชีวิตต่ำ ส่วนวิธีการใช้หรือวิธีการให้อาหาร ตลอดจนความถี่ในการให้อาหารของแต่ละฟาร์มก็มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์เช่นกัน โดยปริมาณจุลินทรีย์ที่สัตว์ได้รับอาจมีความแตกต่างกัน โดยระดับการใช้งานต้องไม่ต่ำกว่า 10^6 - 10^7 เซลล์ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม (Burgain, et al., 2011) รวมทั้งระยะเวลาที่ให้อาหารเสริมควรเป็นช่วงที่มีความเหมาะสมในการใช้งานด้วย โดยส่วนใหญ่มักใช้กับสัตว์เลี้ยงที่กำลังหย่านมหรือระยะวัยอ่อนรวมทั้งใช้ช่วยบำรุงสัตว์ในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมหรือมีการเคลื่อนย้ายถิ่น

ในอุตสาหกรรมผลิตสัตว์มักเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์อย่างต่อเนื่องเพื่อให้สัตว์มีการเจริญเติบโตไปในทางที่ต้องการ ส่งผลให้เชื้อก่อโรคดื้อต่อยาปฏิชีวนะรวมทั้งอาจเกิดสารเคมีจากยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์อีกด้วย อาจส่งผลเสียต่อผู้บริโภคซึ่งขัดกับ

วัตถุประสงค์ของการปศุสัตว์ที่ต้องการส่งมอบอาหารที่ปลอดภัย มีคุณภาพ และไม่กระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Gaggia, Mattarelli and Biavati, 2010) นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพสินค้าในการส่งออก คือไม่ได้รับการยอมรับจากบางประเทศโดยเฉพาะแถบสหภาพยุโรป ซึ่งเคร่งครัดเกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะ และได้ยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ ตั้งแต่ 1 มกราคม ปี 2006 (EC, 2003; Gaggia, Mattarelli and Biavati, 2010) ดังนั้นอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ในประเทศไทยจึงควรปรับปรุงกระบวนการผลิตโดยลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงหรือยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในกระบวนการผลิตสัตว์ เพราะฉะนั้นการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ที่จะช่วยลดระดับความรุนแรงของการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมผลิตสัตว์ แต่พบว่าจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ใช้ในปัจจุบันมักเป็นจุลินทรีย์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งลักษณะสภาพแวดล้อมภูมิประเทศและสายพันธุ์สัตว์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมของไทย อาจไม่จำเพาะต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่นำเข้ามา ดังนั้นควรมีการคัดแยกจุลินทรีย์โปรไบโอติกภายในประเทศเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์และอุตสาหกรรมผลิตสัตว์

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากลำไส้สุกร เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกที่ดีตามต้องการแบบที่เรียโปรไบโอติกถูกนำมาตรึงเซลล์โดยใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยโปรตีนนมผสมกับพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อเพิ่มการรอดชีวิตของโปรไบโอติกในสภาวะกรดและน้ำย่อยในระบบย่อยอาหารเมื่อถูกใช้เป็นอาหารเสริมรวมทั้งในกระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์ที่ต้องใช้ความร้อนนอกจากนี้ยังสามารถยืดอายุการเก็บรักษาแบบที่เรียโปรไบโอติกที่ผสมรวมในอาหารสัตว์ และทำการประเมินผลกระทบจากการใช้แบบที่เรียโปรไบโอติกเป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงลูกสุกรระยะหลังหย่านมโดยพิจารณาจากผลการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และค่าการย่อยได้ของโภชนา คือ โปรตีน ไขมันและเยื่อใย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสามารถแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากลำไส้และมูลสุกรสุขภาพดี
2. เพื่อทดสอบคัดเลือกจนได้สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกดีที่สุด
3. เพื่อให้ได้โปรไบโอติกที่อยู่ในสภาพเซลล์ตรึง สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการนำไปใช้และยืดอายุการเก็บรักษา
4. เพื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้เข้าสู่กระบวนการผลิตเป็นสินค้าทดสอบได้
5. เพื่อทราบผลการเสริมโปรไบโอติกในอาหารต่อการเจริญเติบโตของสุกร

ขอบเขตของการวิจัย

1. คัดแยกแบคทีเรียโปรไบโอติกในกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากลำไส้และมูลสุกรที่ถูกเลี้ยงในฟาร์มของบริษัท CP รวมทั้งสุกรในฟาร์มเกษตรกรรมขนาดเล็กที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปของบริษัท CP ลำไส้สุกรถูกนำมาจากโรงฆ่าสัตว์ของเทศบาลเมือง จังหวัดพิษณุโลก โดยนำมาคัดแยกด้วยสูตรอาหารจำเพาะ MRS ผสมโบรโมครีซอลเพอร์พอลเพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติกคือการทนอุณหภูมิสูง (80°C , 85°C , 90°C และ 95°C นาน 1.0-1.5 ชั่วโมง) การทนต่อสภาวะกรด (pH 1, 2, 3 และ 4 นาน 3-5 ชั่วโมง) การทนต่อยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Tetracycline, Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, 10% Enrofloxacin และ Potencil® ที่มีส่วนประกอบคือ 0.1% Amoxicillin และ 0.1% Colistin sulphate และทดสอบความสามารถการผลิตเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non-starch polysaccharides; NSP) คือ เซลลูโลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูโลส แบคทีเรียที่คัดแยกได้เหล่านี้ถูกจัดจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีการหาลำดับของยีนส่วน 16s rRNA ความยาวประมาณ 1.3 kb โดยบริษัท MacroGen Inc. ประเทศเกาหลี

2. การตรึงเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติกโดยใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยโปรตีนนมที่ผ่านการย่อยบางส่วน (Milk Protein Hydrolysates; MPH) ผสมกับพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ 0.5% (w/v) xanthan gum และหรือ 0.25% (w/v) gellan gum โดยวิธีทำให้เกิดอิมัลชันน้ำในน้ำมันพืชเพื่อเพิ่มการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกในสภาวะย่อยอาหารจำลองของสุกร pH 2.0 นาน 2 ชั่วโมง ตามด้วยสภาวะน้ำย่อยในลำไส้เล็ก นาน 4 ชั่วโมง ติดตามผลการรอดชีวิตด้วยการนับเซลล์ที่ย้อมสี trypan blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ทุก 2-6 ชั่วโมง

3. การอัดเม็ดอาหารสุกรผสมโปรไบโอติก ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยผสมโปรไบโอติกรวมกับอาหารผงสุกรสูตรอนุบาลสำเร็จรูป ทำการอัดเม็ดที่อุณหภูมิ 80°C นาน 30 วินาที ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาตรวจสอบการรอดชีวิตของโปรไบโอติกภายหลังกระบวนการอัดเม็ด และตรวจสอบการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้งรูปแบบอาหารผงและอาหารอัดเม็ดด้วยวิธีการนับเซลล์แบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกสัปดาห์

4. การทดสอบประสิทธิภาพอาหารเสริมโปรไบโอติกกับสุกรระยะหลังหย่านม อายุ 25 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 6.5 กิโลกรัม พันธุ์แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์ x ดุรอก ในฟาร์มเกษตรกรรมแบบเปิด จังหวัดสุโขทัย จำนวนทั้งหมด 84 ตัว โดยเลี้ยงเป็นกลุ่ม จำนวน 4 คอก โดยให้คอกละ 21 ตัว แต่ละตัวทำการปั๊มเบอร์หู เลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน ทำการชั่งน้ำหนักตัวทุกสัปดาห์เพื่อหา

อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเก็บ
มูลสุกรเพื่อวิเคราะห์ค่าการย่อยได้ของโภชนะ คือ โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย เปรียบเทียบกับกลุ่ม
ควบคุมที่ให้อาหารสูตรพื้นฐานอย่างเดียวและกลุ่มที่ให้อาหารสูตรพื้นฐานผสมกับยาปฏิชีวนะ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ดีและสามารถใช้เสริมลงในอาหารสุกรได้
2. ได้เซลล์ตรึงโปรไบโอติกที่สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหารสุกร และทนอุณหภูมิ

ในกระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์ได้อย่างเหมาะสม

3. สามารถผลิตโปรไบโอติกเป็นอาหารเสริมเชิงพาณิชย์ได้
4. สามารถส่งเสริมให้ผู้เลี้ยงสุกรผลิตอาหารเสริมสำหรับผู้เลี้ยงสุกรใช้เองได้