บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โปรไบโอติก

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์แห่งประเทศไทยเรียกโปรไบโอติกว่าสารเสริมชีวนะ ตามความหมายของราชบัณฑิตยสถาน ซึ่ง "โปรไบโอติก" หมายถึงจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ที่อยู่ในรูปของอาหารหรืออาหารเสริม (Bielecka, 2007) เมื่อนำจุลินทรีย์โปรไบโอติกมาเพาะเลี้ยง แล้วเสริมลงไปในอาหารสัตว์ โปรไบโอติกจะเข้าไปมีบทบาทในลำไส้โดยเข้าไปปรับสมดุลของจุลินทรีย์ท้องถิ่นในลำไส้ โดยลดปริมาณเชื้อก่อโทษและก่อประโยชน์ให้แก่ร่างกายสัตว์ เช่น ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหาร เพราะโปรไบโอติกสามารถย่อยสลายสารอาหารกลุ่มพรีไบโอติกเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและร่างกายสัตว์ก็ได้รับสารอาหารที่มีประโยชน์เหล่านั้นด้วย จึงอาจกล่าวได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์โปรไบโอติกกับตัวสัตว์เป็นความสัมพันธ์กันแบบพึ่งพาอาศัย (ไชยวัฒน์ไชยสุต, 2556) รวมทั้งโปรไบโอติกยังสามารถย่อยสลายสารอาหารกลุ่มเยื่อใยที่มีในวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ในระดับหนึ่งจึงทำให้สัตว์สามารถดูดซึมสารอาหารได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้โปรไบโอติกยังหมายรวมถึงจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูปแบบเซลล์ที่ตายแล้ว แต่ส่วนประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ เช่น โปรตีนของเซลล์ และองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ สามารถก่อประโยชน์ให้กับสัตว์ได้ (Chuang, et al., 2007; Maeda, et al., 2009; Nan, et al., 2009) โดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์นี้สามารถพบได้ทั้งในรูปของแบคทีเรีย (bacteria) ยีสต์ (yeast) และรา (mould) (ตาราง 1)

ในกลุ่มแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นิยมนำมาใช้เป็นสารเสริมในอาหารและเครื่องดื่มในอุตสาหกรรมอาหารมักเป็นแบคทีเรียในกลุ่มผลิตกรดแลคติก (Lacticacid bacteria) เช่น *Lactobacillus casei* ที่ใช้ในยาคูลท์ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactococcus* spp. ที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวและเนยแข็ง รวมทั้ง *Leuconostoc* spp. ที่ใช้ในการหมักผลไม้ดอง ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็น Generally Regarded As Safe (GRAS) ส่วนในด้านอุตสาหกรรมอาหารสัตว์นิยมใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติก เช่น *Lactobacillus, Bacillus* และ *Saccharomyces* (ตาราง 1) ซึ่งจะสังเกตได้ว่ามีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา แต่ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติที่หลากหลาย เช่น การทนอุณหภูมิได้สูงในกลุ่มของ *Bacillus* sp. การผลิตสารยับยั้งเชื้อก่อโรค

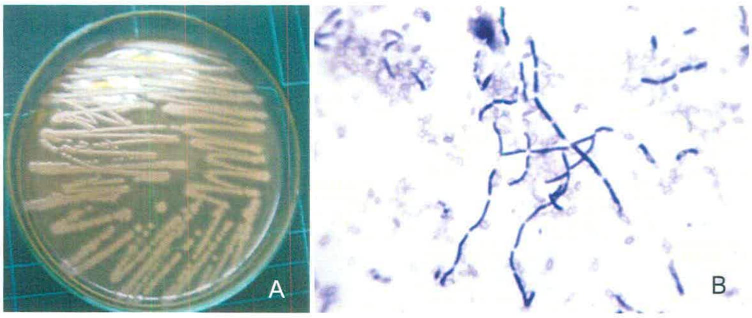
ได้ต่างกัน เช่น การผลิตกรดน้ำส้ม (aceticacid) ใน *Bifidobacterium breve* การผลิตสาร แบคเทอริโอซินจาก *Lactobacillus* sp. เป็นต้น

ตาราง 1 รายชื่อจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่นำมาประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์

Genus	Species	ชนิดจุลินทรีย์
Bacillus	*B. subtilis, B. licheniformis, B. cereus,*	แบคทีเรีย
Pediococcus	*P. pentosaceus* subsp. *pentosaceous*	แบคทีเรีย
	P. acidilactici	
Bifidobacterium	*B. animalis* subsp. *animalis,*	แบคทีเรีย
	B. lactis subsp. *lactis,*	
	B. longum subsp. *longum*	
	B. pseudolongum subsp. *pseudolongum*	
	B. thermohilum	
Enterococcus	*E. faecalis, E. faecium*	แบคทีเรีย
Lactobacillus	*L. casei* subsp. *casei,*	แบคทีเรีย
	L. plantarum subsp. *plantarum*	
	L. acidophilus, L. amylovorus, L. brevis,	
	L. crispotus, L. farmicinis, L. fermentum,	
	L. murinus, L. reuteri, L. rhamnosus,	
	L. salivarius	
Lactococcus	*L. lactis* subsp. *cremoris*	แบคทีเรีย
	L. lactis subsp. *lactis*	
Leuconostoc	*L. citreum, L. lactis, L. mesenteroides*	แบคทีเรีย
Propionibacterium	*P. freudenreichii*	แบคทีเรีย
Streptococcus	*S. infantarius, S. thermophilus*	แบคทีเรีย
	S. salivarius subsp. *salivarius*	
Saccharomyces	*S. cerevisiae, S. pastorianus*	ยีสต์
Kluyveromyces	*K. fragilis, K. marxianus*	ยีสต์
Aspergyllus	*A. orizae, A. niger*	รา

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gaggìa, Mattarelli and Biavati, 2010

1. **ลักษณะของแบคทีเรียโปรไบโอติก** *Bacillus* sp.



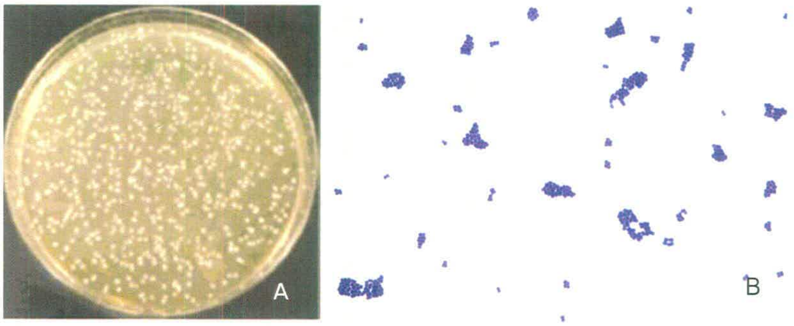
ภาพ 1 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (A) **โคโลนี** (B) **รูปร่างเซลล์แบบท่อน**

ที่มา: ลาวัลย์ จีระพงษ์ และกมลทิพย์ รักประวงค์, 2553; American society for microbiology, 2011

บาซิลลัสเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเซลล์เป็นรูปแท่งตรงหรือเป็นท่อน ขนาด 0.5-2.5 ไมโครเมตร หรือ 1.2-7.0 ไมโครเมตร มักจะเรียงตัวกันเป็นคู่หรือเส้นสายแต่บางครั้งอาจเรียงตัวเป็นวงกลมหรือสี่เหลี่ยม (Haberer, et al., 2003) เมื่อย้อมแกรมจะติดสีม่วงหมายถึงบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเมื่ออาศัยอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิต เช่นสารอาหารที่จำเป็น คือ แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส มีอยู่อย่างจำกัด เซลล์มักจะมีการสร้าง endospore รูปไข่ กลม หรือ ทรงกระบอก ที่มีความกว้างขนาด 0.8 และ 1.4 มิลลิเมตร (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย) โดย endospore จะถูกสร้างขึ้นภายใน 8 ชั่วโมง หลังจากที่เซลล์แบคทีเรียอยู่ในสภาพแวดล้อมดังกล่าว (Errington, 2003; Simon, 2011) โครงสร้างของ endospore ประกอบด้วย core และ inactive chromosome ในส่วนของ spore คือ peptidoglycan-rich cortex และมี proteinaceous เป็น spore coat (Henriques and Moran, 2007) โดยส่วน spore coat นี้อาจจะสร้างขึ้นมาเพียงชั้นเดียวหรือหลายชั้นก็ได้ บริเวณพื้นผิวของสปอร์เป็นประจุลบ และมีลักษณะชอบน้ำระดับปานกลาง (moderately hydrophobic) ดังนั้นจึงสามารถปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากรังสี UV การสัมผัสกับสารละลาย เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และเอนไซม์ เช่น lysozyme รวมทั้งอุณหภูมิสูง (80-85°C ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย) เพราะ cytoplasm ของ endospore ได้กำจัดน้ำออก (Setlow, et al., 2006) ดังนั้นจึงไม่เกิดกระบวนการ metabolism (Simon, 2011) และเมื่อ endospore โตเต็มที่จะติดสีย้อมสปอร์เป็นสีม่วงเข้ม

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ต้องการออกซิเจน (aerobic bacteria) หรือต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (facultative anaerobic bacteria) Sorokulova, et al. (2008) รายงานว่า *B. Subtilis* และ *B. licheniformis* เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ผลิต Nhe endotoxins เพราะตรวจไม่พบยีน *bceT* และ *cytK* ซึ่งเป็นยีนสำหรับสร้างสารพิษ ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้จึงไม่ก่อให้เกิดโรค แบคทีเรียในตระกูล *B. subtilis* นี้สามารถพบได้ในหลาย ๆ แหล่ง เช่น ในมูลสัตว์หรือระบบทางเดินอาหารของสุกร และมีการพบได้ทั่วไปในดิน น้ำ และอากาศ (Gaggìa, Viet and Lindberg, 2010) มีการเจริญได้ดีที่ pH 5.5-8.5 สามารถสร้าง Hydrolytic enzyme ที่สลาย Polysaccharide, Nucleic acid และ Lipid ได้แล้วใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นตัวให้อิเลคตรอนโดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน ซึ่ง *B. subtilis* มีคุณสมบัติเด่นคือทนอุณหภูมิสูง (Bainkand Prakash, 2004; Patel, Dodia and Singh, 2005) และมีบทบาทสำคัญคือการปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีน

2. **ลักษณะของ** *Pediococcus* sp.



ภาพ 2 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Pediococcus pentocaceae* (A) **โคโลนี** (B) **รูปร่างเซลล์แบบกลม**

ที่มา: Lmagilin technology, 2011; Trafic, 2009

Pediococcus จัดอยู่ในวงศ์ *Lactobacillaceae* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobic) และสามารถหมักน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (hexosesugar) เช่น น้ำตาลกลูโคสและแลกโตสได้เป็นกรดแลคติก (lactic acid fermentation) จึงจัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (lacticacid bacteria) เมื่อย้อมสีแกรมติดสีม่วงหมายถึงเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกชนิดเดียวที่มีการแบ่งเซลล์ได้ 2 ทิศทาง

สังเกตเห็นเป็น tetrad รูปร่างกลม ลักษณะเหมือนกันทุกเซลล์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ 0.36-1.43 ไมโครเมตร ไม่เกิดการขยายยาวออก (elongated) ไม่สร้างสปอร์และเคลื่อนที่ไม่ได้ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-40°C และที่ค่า pH เท่ากับ 4.5-8.0 มีความสามารถในการทนกรดได้ดี และสามารถผลิตแบคเทอริโอซิน (bacteriocins) เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในลำไส้ได้ ลักษณะโคโลนีไม่มีสี ขอบเรียบ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ซึ่งลักษณะนี้แตกต่างกับแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมพวกอื่นๆ เช่น *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp. และ *Enterococcus* spp. เป็นต้น *Pediococcus* พบได้ทั่วไปในอาหารหมักดองและระบบทางเดินอาหารของสัตว์ มีลักษณะดีที่สำคัญคือสามารถทนเกลือความเข้มข้นสูงได้ (>18% NaCl)

3. กลไกการทำงาน และบทบาทของโปรไบโอติกกับการผลิตสุกรในเชิงอุตสาหกรรม

ปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกในกลุ่มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีความสัมพันธ์กับความต้องการใช้พลังงานของสัตว์ คือจะขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ (Mueller, et al, 2006) รวมถึงสุขภาพหรือปริมาณเชื้อก่อโรคที่มีอยู่ (Abt and Artis, 2009) ถ้าในลำไส้ของสัตว์มีเชื้อก่อโรคเพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างต่อเนื่องก็จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหารผ่านผนังลำไส้ของสัตว์ลดลง ส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของสุกรต่ำลงตามไปด้วย (Cho, Zhao and Kim, 2011) ดังนั้นในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศจึงเล็งเห็นความสำคัญของการใช้เทคโนโลยีจากโปรไบโอติกเนื่องจากโปรไบโอติกเป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีกลไกการทำงานที่น่าสนใจ ดังนี้

3.1 โปรไบโอติกกับจุลินทรีย์ก่อโรค

โปรไบโอติกสามารถต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้โดยสร้างข้อจำกัดของสภาพแวดล้อมภายในลำไส้ของสัตว์ เช่น การสร้างสภาวะแวดล้อมให้เป็นกรดโดยผลิตกรดน้ำส้ม (acetic acid) เพื่อลดค่า pH ในลำไส้ เช่น *Bifidobacterium breve* สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้หนูทดลองลองที่ได้รับเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ได้ โดย *B. breve* ได้ผลิตกรดน้ำส้มซึ่งส่งผลให้ค่า pH ในลำไส้เล็กของหนูทดลองต่ำลงร่วมกับการสร้างสารแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งมีผลยับยั้งการผลิตสารพิษของเชื้อ *E. coli* 0157:H7 และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* 0157 ได้ (Asahara, et al., 2004) นอกจากนี้ Gotteland, Brunser and Cruchet (2006) พบว่าแบคเทอริโอซินที่ได้จากโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* สามารถลดการยึดเกาะของเชื้อ *Helicobacterpylori* ต่อเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารของหนูทดลองได้ โดยโปรไบโอติกจะเข้าไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เยื่อบุ ดังนั้นเซลล์เยื่อบุจึงแข็งแรงมากยิ่งขึ้นซึ่งเป็นการขัดขวาง

การทำงานเชื้อก่อโรค (Medding, 2008) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าโปรไบโอติกเข้าไปมีบทบาทช่วยรักษาโครงสร้างระหว่างเซลล์ในสัตว์ (cytoskeleton)

สาเหตุหลักของการเกิดโรคท้องร่วงในสุกรมักเกิดจากเชื้ออีโคไล (*Escherichia coli; E.coli*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 35-37°C แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 45°C และสามารถผลิต Shiga-like toxic (SLT) หรือ Verotoxins (VT) ที่ทำให้เกิดอาการถ่ายเป็นน้ำและเป็นสาเหตุให้เม็ดเลือดแดงแตก (วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554) จึงมีอาการถ่ายเป็นเลือดร่วมด้วย ในกลุ่มเชื้อ *E. coli* ที่สร้างสารพิษในทางเดินอาหาร (Enterotoxigenic E.coli; ETEC) และฉวยโอกาสเพิ่มจำนวนในลำไส้เล็กพร้อมกับขับสารพิษออกมาเป็นสาเหตุของการเกิดโรคท้องร่วงในสุกรคือถ่ายเหลวเป็นน้ำ แต่บางครั้งสาเหตุของการเกิดโรคอาจเป็นผลข้างเคียงจากการใช้ยาปฏิชีวนะเพราะยาปฏิชีวนะทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้เสียไปเชื้อก่อโรคจึงฉวยโอกาสเพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างรวดเร็วแล้วยึดครองพื้นที่ในลำไส้ ดังนั้นการเลือกใช้โปรไบโอติกที่มีคุณสมบัติลดปริมาณเชื้อก่อโรคจำพวก enterbacteria ในลำไส้จึงเป็นแนวทางป้องกันปัญหาที่มีประสิทธิภาพในบริเวณทางเดินอาหาร จำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ และกิตติพงษ์ ทิพยะ (2553) พบว่าโปรไบโอติกสายพันธ์ *Bacillus subtilis* MP9 และ *B. subtilis* MP10 สามารถลดความรุนแรงของโรคท้องร่วงในลูกสุกรโดยลดจำนวนวันที่เกิดอาการท้องเสีย และลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* ในมูลให้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากคุณสมบัติการลดปริมาณเชื้อก่อโรคจำพวก enterbacteria ในลำไส้แล้วความสามารถในการยึดเกาะผนังของลำไส้เป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของโปรไบโอติกเนื่องจากมีความสัมพันธ์กับการควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้และยับยั้งการยึดเกาะลำไส้ของเชื้อก่อโรค (Collado, Meriluoto and Salminen, 2007; Collado, Meriluoto and Salminen, 2006) ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพสัตว์ Roselli, et al. (2003) พบว่า *Bacillus animalis* มีความสามารถในการลดการยึดเกาะของเชื้อ *E. coli* K88 และนอกจากนี้ *B. animalis* และ *Lactobacillus casei* ยังสามารถลดการบุกรุกเซลล์จาก *E. coli* K88 ได้นอกจากนี้โปรไบโอติกยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันและรักษาลำไส้อักเสบ (Collado, et al., 2009) ลดการเกิดมะเร็งลำไส้ในลูกสุกร (Haberer, et al., 2003) โดยไปลดการเกิดแผลในบริเวณลำไส้ใหญ่ (Duncker, et al., 2006)

3.2 โปรไบโอติกกับการพัฒนาภูมิคุ้มกัน

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์สามารถทำได้หลายวิธี เช่นการกระตุ้นกลุ่มเซลล์ชนิด enterocytes และ mucosalimmune cells มายังบริเวณที่เซลล์เกิดการอักเสบ เพื่อกระตุ้นการสร้าง anti-inflammatorycytokines และลดการสร้าง proinflammatory cytokines (O'Hara, et al., 2006; Walsh, et al., 2008; Wang, et al., 2009) ซึ่งโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* มีความสามารถกระตุ้นการทำงานของ macrophage และเพิ่มระดับแอนติบอดี อย่างไรก็ตามโปรไบโอติกมีความแตกต่างกับระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ คือโปรไบโอติกไม่มีเป้าหมายในการกำจัดเชื้อก่อโรคต่างๆ ภายในตัวสัตว์แต่เป็นเพียงการดำรงชีวิตอย่างสมดุลระหว่างเชื้อในลำไส้ของสัตว์เท่านั้นเอง เช่น การป้องกันโรคท้องร่วง ร่างกายสัตว์จะเพิ่มการสร้าง IgA และกระตุ้นการทำงานของ macrophage และ natural killer (NK) (Collado, et al., 2005) นิตยา ยิ้มเจริญ และคณะ (2549) พบว่าการใช้โปรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* ร่วมกับ *B. licheniformis* ที่แยกจากลำไส้กุ้งกุลาดำผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 1 เดือน ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาณ 3 กรัมต่ออาหารกุ้ง 1 กิโลกรัม มีผลทำให้ระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสอดคล้องกับงานวิจัยของอัมรา นาพนัง ชะลอ ลิ้มสุวรรณ และสุปราณี พึ่งแสง (2556) ที่พบว่าการให้แบคทีเรียโปรไบโอติก *Bacillus* W120 ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} CFU ต่อกรัม เป็นเวลา 15 วัน สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาดุกลูกผสม (*Clariasmacrocephalus* vs *Clariasgariepinus*) ให้สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.3 ประโยชน์และคุณสมบัติที่ดีของโปรไบโอติก

ประโยชน์ของโปรไบโอติก

1. ช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้และยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยการแข่งขันการใช้สารอาหาร และผลิตสารที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น สร้างกรดอินทรีย์ และสร้างสารแบคเทอริโอซินหรือโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Procarcinogenic และยับยั้งความสามารถในการเกาะติดที่เยื่อเมือกในลำไส้ของเชื้อก่อโรค (Gill, 2003)

2. ให้คุณค่าทางโภชนาการ จุลินทรีย์โปรไบโอติกจะผลิตเอนไซม์หลายชนิดออกมาช่วยย่อยสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในกลุ่มของพรีไบโอติก เช่น Galactooligosaccharides (GOS) และ Oligofructose เป็นต้น ทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมสารอาหารได้เต็มที่

3. ช่วยป้องกันและลดอัตราการเกิดท้องเสียช่วยให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้นและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (Bielecka, 2007)

4. ช่วยลดปัญหาการดื้อยาในสัตว์ รวมไปถึงการลดสารตกค้างจากยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ของสัตว์

คุณสมบัติที่ดีของโปรไบโอติก

การคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติกเพื่อให้ได้โปรไบโอติกที่มีคุณสมบัติที่ดีนั้นไม่มีข้อกำหนดที่ตายตัวเสมอไป เพียงแต่ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติตรงตามวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้งานและเหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิตที่จะนำไปใช้ (host) เช่น การเลือกใช้โปรไบโอติกสายพันธุ์ที่ได้จากสุกรมาผลิตเป็นอาหารเสริมให้สุกรนั้นมีข้อดีคือโปรไบโอติกจะสามารถปรับตัวและแสดงออกคุณสมบัติต่างๆ ได้ดีในสิ่งแวดล้อมที่คุ้นเคยได้

คุณสมบัติที่สำคัญของโปรไบโอติกที่ดีโดยทั่วไปคือต้องเป็นสายพันธุ์หรือชนิดที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยต่อสัตว์ สามารถนำมาใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้ มีแหล่งที่มาของเชื้อโปรไบโอติกที่ปลอดภัยไม่มีคุณสมบัติในการสร้างสารพิษรวมทั้งสามารถมีชีวิตรอดในสภาวะกรดเกลือน้ำดีและสภาพแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารได้รวมทั้งแข่งขันกับเชื้อก่อโรคได้เมื่อเข้าสู่กระบวนการผลิต เช่น กระบวนการทำแห้งแบบแช่แข็งแบบใช้ลมร้อน การบดละเอียด การถูกความชื้น ความร้อนและความดันจากกระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์ต้องมีคุณสมบัติคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลง และสามารถอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นรวมทั้งออกฤทธิ์ได้ดีในระบบทางเดินอาหารโดยอาจจะใช้งานเพียงสายพันธุ์เดียวหรือหลายๆ สายพันธุ์ร่วมกันก็ได้

การตรึงเซลล์จุลินทรีย์

การตรึงเซลล์ หมายถึง การจำกัดขอบเขตหรือสถานที่ทางฟิสิกส์ของเซลล์ไว้กับวัสดุที่ใช้ตรึงหรือสารอินทรีย์กลุ่มไฮโดรคอนลอยด์ เช่น แซนแทนกัมหรือเจลแลนกัมเพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์อยู่ภายใน semi-permeable polymeric matrix (Sweta, et al., 2013) ช่วยให้เซลล์ปลอดภัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก รวมทั้งการควบคุมการปล่อยเซลล์ไปสู่สิ่งแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจงในระบบทางเดินอาหารและจะเรียกว่า “เซลล์ตรึง (Immobilized cell)” โดยเซลล์ที่ใช้ตรึงอาจอยู่ในระยะที่กำลังเจริญ ระยะพัก หรืออาจเป็นเซลล์ที่ตายแล้วก็ได้ (สมใจ ศิริโภค, 2550)

1. วิธีที่ใช้ตรึงเซลล์จุลินทรีย์

การตรึงเซลล์จุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 3 วิธีใหญ่ๆ คือ การยึดด้วยตัวนำ (carrier-binding method) การเชื่อมไขว้ (cross-linking method) และการห่อหุ้ม (entrapping method) ดังนี้

1.1 **การยึดด้วยตัวนำ** (carrier-binding method) หมายถึงการเชื่อมเซลล์จุลินทรีย์โดยตรงกับตัวนำที่ไม่ละลายน้ำ (water-insolublecarrier) ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 2 วิธีย่อย คือ วิธีการดูดติด (adsorption method) และวิธีพันธะโควาเลนท์ (covalent binding method) ดังนี้

1.1.1 **การดูดติด** (adsorption method) เป็นวิธีการตรึงเซลล์โดยให้เซลล์ดูดซับอยู่กับสารที่เป็นตัวนำด้วยพันธะไอออนิก พันธะไฮโดรโฟบิค หรือพันธะไฮโดรเจน โดยอาศัยหลักการธรรมชาติทางเคมีเนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียหรือยีสต์ประกอบไปด้วย diminopimelic acid และ hexosamines ซึ่งสามารถเกิด ionic interaction กับตัวนำที่ใช้ได้โดยแรงดูดซับนี้จะขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของเซลล์รวมทั้งปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องด้วย การตรึงเซลล์วิธีนี้เป็นวิธีการที่ง่ายแต่แรงดูดซับที่ได้นั้นค่อนข้างอ่อน และอาจมีการสูญเสียเซลล์ได้ง่ายเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH, ionic strength การไหลของน้ำ การเกิดฟองอากาศ และเมื่อมีการแบ่งเซลล์ ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่เหมาะสมสำหรับการตรึงเซลล์ในกรณีที่ต้องการผลผลิตของเซลล์ที่ปราศจากการปนเปื้อนของเซลล์ แต่ก็อาจปรับปรุงแรงดูดซับให้สูงขึ้นได้โดยการทำ cross-linking หลังการดูดซับ นอกจากนี้การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ยังมีข้อเสียอีกประการหนึ่งคืออัตราการดูดซับเซลล์จากเซลล์หนึ่งต่อหนึ่งหน่วยของตัวนำค่อนข้างต่ำ แต่ก็อาจแก้ไขโดยใช้สารที่มีรูพรุนเป็นตัวดูดซับ เช่น พอลิเมอร์สังเคราะห์ และสารอินทรีย์

1.1.2 **การยึดด้วยพันธะโควาเลนท์** (covalentbinding method) วิธีนี้ไม่นิยมในการตรึงเซลล์เนื่องจากเป็นวิธีที่ค่อนข้างรุนแรงต่อเซลล์ เนื่องจากการสร้างพันธะโควาเลนท์จำเป็นต้องใช้ตัวนำที่เป็นสารเคมีที่เป็นพิษต่อเซลล์จึงอาจทำให้เซลล์ตายและส่งผลให้เอนไซม์ภายในเซลล์ถูกทำลายไปด้วย ซึ่งวิธีนี้เป็นการเชื่อมเซลล์โดยตรงกับ activated support โดยสารที่ใช้เป็นตัวดูดซับนั้นสามารถเชื่อมต่อกับหมู่อะตอมซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ผิวเซลล์ เช่น หมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล หมู่ไฮดรอกซิล หมู่ซัลฟ์ไฮดริล หมู่อิมมิดาโซ หรือหมู่ฟีนอลของโปรตีน แต่วิธีนี้ก็มีข้อดีคือเซลล์จะเชื่อมอยู่กับผิวหน้าของตัวนำอย่างสม่ำเสมอ มีความคงตัวดี และมีการรั่วไหลของเซลล์น้อย ดังนั้นวิธีการนี้จึงเหมาะสำหรับการตรึงเซลล์ในกรณีที่ต้องการเอนไซม์เพียงนิดเดียว โดยเอนไซม์ที่ต้องการนั้นอยู่ภายในเซลล์ที่ไม่มีการสัมผัสกับสารเคมีในระหว่างการตรึงเซลล์

1.2 **การเชื่อมไขว้** (cross-linking method) หมายถึงการเชื่อมเซลล์จุลินทรีย์เข้าด้วยกันโดยใช้สารจำพวก bi- หรือ multifunctional reagent เช่น glutaraldehyde และ toluene diisocyanate เป็นต้น การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ต่างจากวิธีอื่นๆ คือ เซลล์ไม่ได้ถูกตรึงอยู่กับสารที่เป็นตัวดูดซับหรือถูกห่อหุ้มอยู่ในเจลหรือใน semi-permeable membrane แต่เป็นการเชื่อมเซลล์เข้า

ด้วยกันโดยใช้สารเคมีภายใต้สภาวะที่ค่อนข้างรุนแรงทำให้เซลล์ตายได้ดังนั้นการตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้จึงไม่เป็นที่นิยม

1.3 **การห่อหุ้ม** (entrapping method) เป็นการดักจับเซลล์ด้วยสารพาหะที่มีลักษณะเป็นเจลซึ่งอาจจะเป็นสารอินทรีย์ที่พบในธรรมชาติ เช่น โปรตีนนม เจลแลนกัม และแซนแทนกัม เป็นต้น หรืออาจจะเป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น พอลิเอไครเลไมด์ และพอลิยูริเทน เป็นต้น วิธีการห่อหุ้มจุลินทรีย์นี้แตกต่างจากวิธีการอื่นๆ คือเซลล์จุลินทรีย์ไม่ได้เกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับวัสดุตรึงรูปแต่เซลล์จุลินทรีย์จะถูกห่อหุ้มให้อยู่ในวัสดุที่ใช้ตรึง เทคนิคการหุ้มจุลินทรีย์นี้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อปกป้องเซลล์จุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมทำให้จุลินทรีย์สามารถมีชีวิตรอดและสามารถดำเนินกิจกรรมการผลิตสารที่มีประโยชน์ได้ต่อไป การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ microencapsulation และ lattice type

ไมโครเอนแคปซูเลชัน (Microencapsulation) หมายถึงการห่อหุ้มเซลล์ไว้อยู่ภายใน semi-permeable polymeric matrix (Sweta, et al., 2013) ที่ถูกทำให้เป็นเจล เช่น โปรตีนนม (milk protein) เจลาติน (gelatin) หรืออนุภาคของสารแกน (core material) เซลล์จะถูกล้อมรอบไว้ด้วยแผ่นฟิล์มบางๆ ของสารเคลือบ (coating material) เพื่อเป็นการป้องกันเซลล์จากสภาวะแวดล้อมภายนอกเอาไว้จนกว่าจะถึงเวลาที่ต้องปล่อยเซลล์ออกมาอย่างเฉพาะเจาะจงในระบบทางเดินอาหาร (เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล, 2553) เทคนิคนี้ต้องดำเนินไปภายใต้เงื่อนไขที่ไม่รุนแรง เพื่อให้ได้ปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์อย่างมีประสิทธิภาพรวมทั้งต้องมีเสถียรภาพมากพอที่จะรองรับการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะยาวด้วย (Sweta, et al., 2013) ลักษณะโดยทั่วไปของเซลล์ตรึงที่ได้จากเทคนิค microencapsulation จะมีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีขนาดเล็กมีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 1-1,000 ไมโครเมตร และมีความหนาของผนังอยู่ระหว่าง 0.1-0.3 ไมโครเมตร โดยขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่เลือกใช้ ขั้นตอนที่สำคัญของวิธีการนี้คือการรวมองค์ประกอบที่จะใช้เป็น matrix และการทำให้สารเคลือบเกิดเป็นฟิล์มบางๆ หรือทำให้เกิดเป็นอิมัลชัน โดยฟิล์มนั้นต้องมีความแข็งแรงเหมาะกับการใช้งาน เพื่อให้เกิดเสถียรภาพทางโครงสร้างทั้งทางเคมีและทางกายภาพของพอลิเมอร์ (Burgain, et al., 2011)

De Vos, et al. (2010) แบ่งวิธีการตรึงเซลล์ด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันได้อีก 4 วิธี คือ Extrusion, Coacevation, Spray drying และ Emulsification ซึ่งทั้ง 4 วิธีการให้ลักษณะของไมโครแคปซูลที่ต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้จะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้งานและงบประมาณที่มีอยู่ รวมไปถึงประสิทธิภาพการรอดชีวิตของเซลล์หลังการผลิต เพื่อให้ง่ายในการขยายขนาดการผลิต (scal up)

1. **เทคนิค** Extrusion เป็นที่นิยมใช้สำหรับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์แบบไมโครเอนแคปซูเลชัน (Özer, Uzun and Kimaci, 2008) โดยเริ่มจากการผสมพอลิเมอร์กับเซลล์จุลินทรีย์แล้วอัดผ่านหัวเข็มฉีดยาหรือท่อเล็กๆ ที่มีแรงดันสูงเพื่อให้ฟอร์มตัวออกมาเป็นหยดและหยดลงในสารละลาย เช่น ไคโตซาน เจลาติน และอัลจิเนต เพื่อให้เกิด cross-linking เกิดเป็นเม็ดเจลของสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ที่ถูกบังคับให้ผ่านหัวเข็มฉีดยาลงไปในสารละลาย NaCl ซึ่งทำหน้าที่เป็น hardening solution ขนาดของแคปซูลขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวเข็มฉีดยาและความสูงของการหยด suspension ของเซลล์โปรไบโอติกลงไปในสารละลาย NaCl รวมทั้งความเข้มข้น ความหนืด และอัตราการไหลของพอลิเมอร์ที่ใช้ (Brun-Graeppi, et al., 2011)

ข้อดีของเทคนิคนี้คือทำได้ง่าย ราคาไม่แพง และยังใช้ตัวทำละลายที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ (De Vos, et al., 2010) ดังนั้นการมีชีวิตของเซลล์ตรึงจึงสูง แต่วิธีนี้ก็มีข้อเสียคือได้ขนาดของไมโครแคปซูลใหญ่ ประมาณ 500 ไมโครเมตร (Sweta, et al., 2011) และขยายการผลิตให้ใหญ่ขึ้นยากเพราะมีการฟอร์มตัวเป็นเม็ดเจลช้า (Burgain, et al., 2011)

2. **เทคนิค** Coacervation โดยทั่วไปแล้วมักนิยมใช้ในการตรึงน้ำมันหอมระเหย สารป้องกันเซลล์และเอนไซม์ (John, et al., 2011) แต่ก็มีการใช้ตรึงเซลล์จุลินทรีย์เช่นกันโดยข้อดีของการใช้เทคนิคนี้คือสามารถควบคุมอัตราการปล่อยเซลล์ที่ลำไส้ใหญ่ได้ (Sweta, et al., 2011) โดยอาศัยค่า pH ประมาณ 5.20-7.02 ที่ลำไส้ใหญ่ (Cook, et al., 2012) เทคนิคนี้ใช้หลักการแยกส่วนของพอลิเมอร์ที่ละลายเข้ากันไม่ได้ แล้วเริ่มจากการเติมพอลิเมอร์ที่ละลายเข้ากันไม่ได้นี้ลงไปในสารละลายพอลิเมอร์ตัวกลางภายใต้สภาวะที่มีความเฉพาะเจาะจงของค่า pH อุณหภูมิ และองค์ประกอบของสารละลาย เป็นการเคลือบวัสดุหลักหรือเซลล์หลายๆ ชั้น อย่างหนาแน่นด้วยการปั่นกวน ส่งผลให้เกิดเป็น microspheres และสามารถเพิ่มความแข็งแรงของ microspheres ได้โดยใช้สารสำหรับให้เกิดการ cross-linking ปัจจัยสำคัญของเทคนิคนี้คืออัตราการเติมพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายเข้ากันลงไปในสารละลายพอลิเมอร์ตัวกลางในขณะที่มีการปั่นกวนเพื่อให้วัสดุหลักหรือเซลล์ที่ใช้ตรึงเกิดการกระจายตัว เทคนิคนี้สามารถควบคุมการปล่อยวัสดุหลักหรือเซลล์จุลินทรีย์จากกลไกการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ คือ อุณหภูมิ และค่า pH (Oliveira, et al., 2007) แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือค่าใช้จ่ายสูงและไม่สามารถผลิตไมโครแคปซูลขนาดเล็กมากๆ ได้ (John, et al., 2011)

3. **เทคนิค** Spray drying ใช้หลักการตรึงเซลล์โดยนำเซลล์โปรไบโอติกที่มีชีวิตผสมลงในสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งส่วนใหญ่มักจะใช้ gum arabic และ starch เพราะให้อนุภาคไมโครแคปซูลเป็นทรงกลมในระหว่างการอบแห้ง (Burgain, et al., 2011) แล้วทำให้เป็นละออง

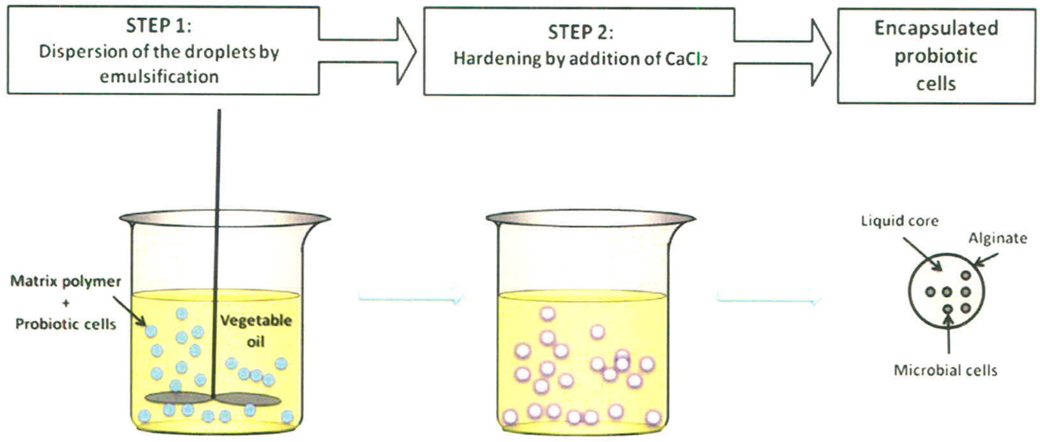
โดยอาศัยอากาศร้อนแบบแห้งเพื่อให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็ว (Zhao, et al., 2008) เทคนิคนี้มีตัวแปรสำคัญที่เกี่ยวข้องคืออัตราการไหลของอากาศและอุณหภูมิขณะเข้าเครื่อง เพราะอุณหภูมิที่ใช้มีผลต่อการระเหยของน้ำที่นำไปสู่การก่อตัวเป็นผนังของไมโครแคปซูล (Sweta, et al., 2011) และยังมีผลต่อการมีชีวิตของเซลล์อีกด้วย ดังนั้นต้องปรับให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ลักษณะไมโครแคปซูลที่ดี นอกจากนี้ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ก็มีผลเช่นกัน (Brun-Graeppi, et al., 2011) ในขั้นตอนการฉีดพ่นเป็นละอองซึ่งควรจะเนียนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันให้ได้มากที่สุด

เทคนิคนี้มีข้อดีคือทำได้ง่าย รวดเร็ว และยังสามารถประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ (Burgain, et al., 2011) แต่ก็มีข้อเสียคือการใช้อุณหภูมิสูงซึ่งมีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ตรึง (ขึ้นอยู่กับชนิด และสายพันธ์ของจุลินทรีย์ที่เลือกใช้) และข้อจำกัดในการเลือกใช้พอลิเมอร์ (Sweta, et al., 2011) เพราะพอลิเมอร์ที่เลือกใช้ต้องไม่ได้รับผลกระทบจากการระเหยความชื้นอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดรอยแตกแต่ก็อาจแก้ไขได้โดยผสมสารสื่อที่เป็นสารป้องกันเซลล์ลงไปด้วย เช่น เม็ดแป้ง เยื่อใยที่ละลายน้ำ และทรีฮาโลส (Semyonov, et al., 2010) ก่อนที่จะนำไปเข้าเครื่อง spray dry มีหลายงานวิจัยที่ทดลองใช้เทคนิคนี้ในการตรึงเซลล์ เช่นงานวิจัยของ De castro-Cislaghi, et al. (2012) ได้ทดลองใช้เทคนิคนี้ตรึงเซลล์ *Bifidobacterium lactis* B6-12 ด้วย whey protein เขาพบว่าเทคนิคนี้สามารถช่วยปรับปรุงการมีชีวิตของเซลล์ในสภาวะเกลือน้ำดีได้และยังมีอายุการเก็บรักษานานถึง 12 สัปดาห์

นอกจากนี้ยังมีอีกเทคนิคหนึ่ง ที่ใช้หลักการเดียวกันกับเทคนิค spray drying แต่เปลี่ยนจากการใช้ลมร้อนเป็นการใช้ลมเย็นของ cryogenic liquid เช่น ไนโตรเจนเหลว นั้นคือเทคนิค Spray chilling หรือ Spray cooling ซึ่งเทคนิคนี้มีข้อดีคือสามารถช่วยแก้ปัญหาการรอดชีวิตของเซลล์จากความร้อนสูงได้ และยังสามารถควบคุมขนาดของเซลล์ตรึงแบบเฉพาะเจาะจงได้ดีกว่าเทคนิค spray drying แต่ก็มีข้อเสียคือต้องใช้พลังงานและค่าใช้จ่ายสูงกว่าเทคนิค spray drying (Burgain, et al., 2011) Pedroso, et al. (2012) ได้ทดลองใช้เทคนิค spray chilling emulsion ตรึงเซลล์ *Bifidobacterium lactis* และ *Lactobacillus acidophilus* ด้วยไขมันและเลซิติน (lecithin) ที่ถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนที่จะนำมาเคลือบเซลล์ ซึ่งเขารายงานว่าวิธีการนี้ไม่มีผลกระทบต่อการมีชีวิตของเซลล์แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด

4. **เทคนิค** Emulsification เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กับสิ่งมีชีวิตโดยวัสดุที่ใช้ในการตรึงเซลล์จะเป็นกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ เช่น alginate, carrageenang และ pectin เป็นต้น เทคนิคนี้จะเกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของเซลล์หรือพอลิเมอร์ในน้ำมัน ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยการ

ปั่นกวน เรียกว่า อิมัลชันน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion) เทคนิคนี้จำเป็นต้องเติมสาร solidifying agent คือ $CaCl_2$ ลงไปในสารละลายอิมัลชันด้วย (Chen and Chen, 2007; Kailasapathy, 2009; De Vos, et al., 2010) เพื่อเป็นตัวเหนี่ยวนำให้พอลิเมอร์ฟอร์มตัวเป็นผนังแคปซูล (ภาพ 3) ขนาดของเซลล์ตรึงที่ได้จะขึ้นอยู่กับความเร็วในการปั่นกวน อัตราเร็วในการเติมสาร ความเข้มข้นของสารอิเล็คโตรไลท์รวมทั้งชนิดและความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่ใช้



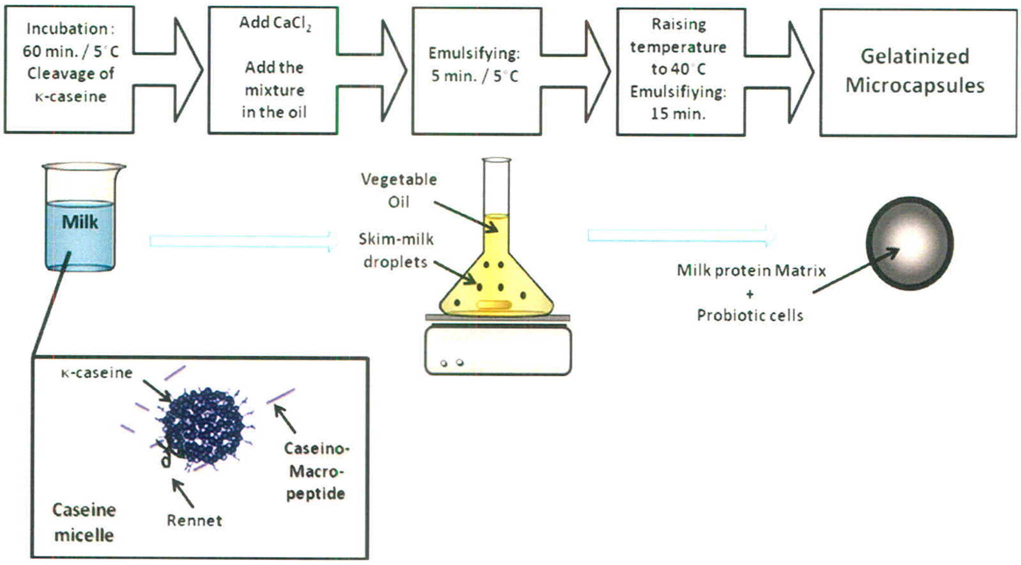
ภาพ 3 รูปแบบของ Water-in-oil emulsion

ที่มา: Burgain, et al., 2011

เทคนิคนี้มีข้อดีคือทำได้ง่าย ขยายการผลิตให้ใหญ่ขึ้นได้ง่าย และให้การรอดชีวิตของเซลล์สูง (Chen and Chen, 2007) นอกจากนี้ยังได้เซลล์ตรึงที่มีขนาดเล็ก แต่มีข้อเสียคือได้เซลล์ตรึงที่มีขนาดและรูปร่างที่หลากหลาย (Burgain, et al., 2011) ไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นควรแก้ไขโดยเพิ่มอัตราเร็วในการปั่นกวน และต้องใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำและน้ำมัน (water in oil) ให้เหมาะสมด้วย (Kailsapathy, 2009)

การตรึงเซลล์โดยใช้พอลิเมอร์บางชนิดเช่น alginate, k-carrageenan, gellan gum หรือ xanthan gum เพื่อใช้เป็นส่วนหนึ่งในอาหารอาจไม่เป็นที่ยอมรับจากบางประเทศ (Picot and Lacroix, 2004) ดังนั้นหลายๆ งานวิจัยจึงหันมาสนใจการใช้สารละลายโปรตีนนมในการตรึงเซลล์มากขึ้น เพราะโปรตีนนมเป็น Natural vehicles สำหรับจุลินทรีย์โปรไบโอติกและมีคุณสมบัติในการเกิดเจลได้ดี (Livney, 2010) โดยอาจจะใช้เอนไซม์เป็นตัวเหนี่ยวนำให้โปรตีนนมเกิดกระบวนการ gelation (Heidebach, Försb and Kulozik, 2009)

ดังภาพ 4 แต่กระบวนการเกิดเจลนั้นก็สามารถเกิดขึ้นได้หลากหลายกลไก เช่น 1) Ionotropic gelation คือการเติมสารละลายอิเล็คโตรไลท์ ได้แก่ $CaCl_2$ หรือเกลือของแคลเซียมที่ไม่ละลายน้ำ เช่น $CaCO_3$ ลงไปในน้ำเพื่อให้แคลเซียมปล่อยประจุออกมาแล้วเกิดการเชื่อมไขว้ (cross link) กับเจลพอลิเมอร์โดยพันธะไฮโดรเจน 2) Thermal gelation จะเกี่ยวข้องกับ emulsifying ที่เป็นสารละลายของไฮโดรคอลลอยด์ เช่น k-carrageenan หรือ agarose agar โดยมีไอออนของ K^+ เป็นตัว stabilizations 3) Cross-linking เป็นความสัมพันธ์ภายในโมเลกุลระหว่าง 2 โมเลกุล ที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดเจลโดยการเชื่อมไขว้ (cross-link) ด้วยพันธะไฮโดรเจน และ 4) Polymerization คือการเติมสารที่ไม่ชอบน้ำและตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา polymerization (Rathore, et al., 2011; Vemmer and Patel, 2013) โดยรูปแบบกระบวนการเกิดเจลจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของพอลิเมอร์ที่ใช้ (De Vos, et al., 2010)



ภาพ 4 รูปแบบกระบวนการเกิดเจลโดย Rennet-gelation **ของโปรตีนนม**

ที่มา: Burgain, et al., 2011

2. วัสดุที่นิยมใช้ในการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

ชนิดของพอลิเมอร์ที่ใช้ตรึงเซลล์จุลินทรีย์มีบทบาทเด่นในการกำหนดคุณลักษณะทางกายภาพของไมโครแคปซูลโดยส่วนใหญ่วัสดุที่ใช้มักจะเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้โดยอาจจะเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติหรือเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ก็ได้ แต่ถึงแม้ว่าพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีคุณสมบัติกลไกที่แข็งแรงและมีเสถียรภาพมากกว่าพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ แต่งานวิจัยส่วนใหญ่ก็มักจะเลือกใช้พอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติมากกว่า เนื่องจากเหตุผลด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและความเป็นพิษต่อเซลล์จะน้อยกว่าพอลิเมอร์สังเคราะห์เสมอ (Rathore, et al., 2011) โดยสารอินทรีย์ที่นิยมใช้เป็นพาหะในการตรึงเซลล์ จัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และพอลิเมอร์สังเคราะห์ (ตาราง 2)

ตาราง 2 วัสดุประเภทสารอินทรีย์ที่ใช้ตรึงเซลล์จุลินทรีย์

พอลิแซ็กคาไรด์	โปรตีน	พอลิเมอร์สังเคราะห์
เซลลูโลส (cellulose)	คอลลาเจน (collagen)	พอลิเอไครเลไมด์ (polyacrylamide)
เอการ์/อกาโรส (agar/agarose)	เจลาติน (gelatin)	อีพอกซีเรซิน (epoxy-rasin)
ไคโทซาน (chitosan)	อัลบูมิน (albumin)	พอลิเอสเทอร์ (polyester)
เดกซ์แทรน (dexyran)	ไฟบริน (fibrin)	เมทาไครเลต (methacrylate)
คาร์ราจีแนน (carrageenan)		พอลิยูริเทน (polyuritane)
แซนแทนกัม (xanthan gum)		

ที่มา: ปาจรีย์ เรืองกลับ, 2549

ตาราง 3 พอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันเซลล์จุลินทรีย์

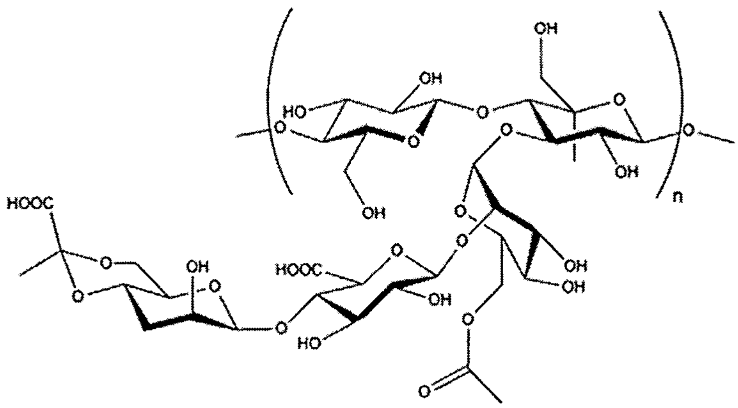
พอลิเมอร์	โครงสร้างทางเคมี	กลไกการเกิดเจล	หมายเหตุ	อ้างอิง
Agar	แกนกลางคือ Agarbiose ที่มีการสลับกันของ 1, 3-linked 3-D-galactopyranose และ 1, 4-linked 3, 6-anhydro-alpha-L-galactopyranose	Thermal gelation	ต้านทานการย่อยจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ แต่ราคาสูงและมีกลไกที่ไม่แข็งแรง	Ollguin (2012)
k-Carrageenan	สลับกันของ 1, 3-linked ß-D-galactopyranose และหน่วยของ 1, 4- linked alpha-D-galactopyranose	Thermal/ionotropic gelation ในที่มีโพแทสเซียม หรือ Ca^{2+}	หากใช้โพแทสเซียมในการ cross-linking เป็นพิษต่อเซลล์	Ollguin (2012), Rokka and Rantamäki (2010)
Starch	หน่วยของ amylase และ amylopectin ที่ต่อกันด้วยพันธะ glycosidic	Thermal gelation	ถูกย่อยสลายภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและเอนไซม์ในกระเพาะ แต่จะไม่ถูกย่อยจากเอนไซม์ amylases ในลำไส้เล็ก และสามารถเกิดการหมักที่ลำไส้ใหญ่ได้	Anal and Singh (2007), Sajilata, Singhal and Kulkarmi (2006)
Chitosan	พอลิแซ็กคาไรด์สายตรงที่เป็นหน่วยของ glucosamine	Ionotropic gelation ในที่มีประจุไอออนลบ	การมีชีวิตของเซลล์ตรึงลดลง	Chávarri, et al. (2010)
Alginate	พอลิแซ็กคาไรด์สายตรงที่เป็นหน่วยของ D-mannuronic และ L-guluronic acid	Ionotropic gelation ในที่มีประจุไอออนบวก โดยทั่วไปใช้แคลเซียมไอออน (Ca^{2+})	ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และมีคุณสมบัติเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต (biocompatibility)	Chan, et al. (2011), Ding and Shah (2007)
Gellan gum	พอลิแซ็กคาไรด์สายตรงที่เป็นหน่วยซ้ำๆของ glucose, glucuronic acid, glucose และ rhamnose	Thermal/ionotropic gelation ในที่มีประจุบวก	ทนทานต่อกรด	Moslemy, Neufeld and Guiot, 2002; Muthukumarasamy and Holley, 2006
Gelatin	ประกอบด้วย glycineproline และ 4-hydroxyproline residues	Thermal/cross-linking โดยใช้ formaldehyde หรือ glutaraldehyde/physical cross-linking โดยใช้ความดันสูงหรือการฉายรังสี	มีคุณสมบัติ thermal-reversible gelling ที่สามารถใช้ตรึงเซลล์ได้ หรือใช้ร่วมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่นเพื่อเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์ตรึง เช่นเจลแลนกัม	Annan, Borza and Hansen (2008), Da Silva and Pinto (2012)

ตาราง 3 (ต่อ)

พอลิเมอร์	โครงสร้างทางเคมี	กลไกการเกิดเจล	หมายเหตุ	อ้างอิง
Xanthan gum	ประกอบด้วย glucose, mannose และ glucorunic acid	Ionotropic gelation ในที่มีประจุไอออนบวก โดยทั่วไปใช้ Ca^{2+}	ทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์สูง และมีความเสถียรต่อ pH ต่ำ	Muthukumarasamy and Holley (2006)
Milk protein (เช่น casein และ whey protein)	ประกอบด้วย lactose และโปรตีนที่ละลายน้ำ	Caseins ถูกกรดเหนี่ยวนำให้เกิด gelation ส่วน whey protein ถูกความร้อนเหนี่ยวนำให้เกิด gelation	มีคุณสมบัติการเป็นเจลที่ดี และมักใช้ตรึงเซลล์โปรไบโอติก	Livney (2010)
Polyacrylamide	ประกอบด้วยหน่วยของ acrylamide	เกิดการเชื่อมไขว้โดยใช้ ammonium persulfate, *N,N*-methylenebis (acr aylamide), *N,N,N,N*-tetramethylenediamine	เป็นพอลิเมอร์สังเคาระห์ที่เกิดเป็นเจลในลักษณะรูพรุนและมีความเป็นพิษต่อผนังเซลล์ ส่งผลให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลง	Calvet, Wong and Giasson (2004), Wyss, Von Stockar and Marison (2004)
Polyvinyl alcohol (PVA)	ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ vinyl alcohol	เกิดการเชื่อมไขว้โดยใช้กรดบอริก (H_3BO_3)	สามารถใช้ Na_2SO_4 แทน H_3BO_3 เพื่อลดความเป็นพิษได้	Gao, et al. (2004)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Rathore, et al., 2013

2.1 **แซนแทนกัม** (Xanthan gum) มีชื่อทางการค้าว่า Keltol เป็น gum ได้มาจากการหมักของเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์สายพันธ์ *Xanthomonas campestris* แซนแทนกัมเป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่มีโครงสร้างเป็น heteropolysaccahride ที่ประกอบด้วยหน่วยโมโนเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส แมนโนส และกรดกลูคูโรนิก ในอัตราส่วน 2.8:3:2 มีหมู่เอซิลประมาณ 4.7% และกรดไพรูวิก ประมาณ 3% โดยกลูโคสต่อกับแมนโนสด้วยพันธะ ß-1,4 และแมนโนสที่เป็นสายแขนงต่อกับสายหลักด้วยพันธะ 1,2 หรือ 1,3 ส่วนกรดกลูคูโรนิกต่อด้วยพันธะ ß-1,2 (ภาพ 5) แซนแทนกัมไม่มีคุณสมบัติเป็น gelling agent แต่สามารถเกิด elastic themoreversible gel ได้

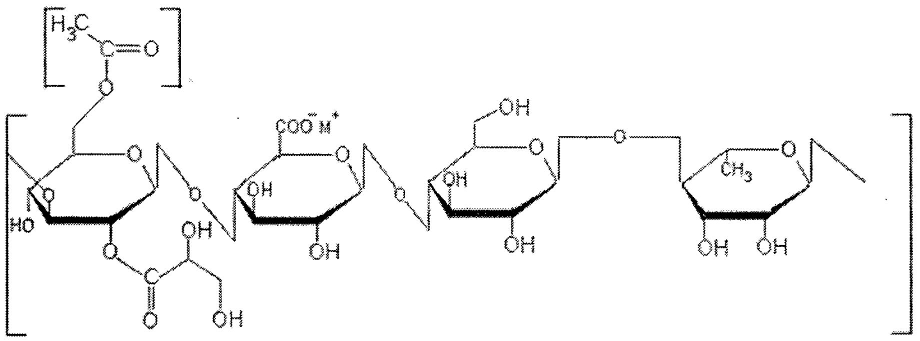


ภาพ 5 โครงสร้างทางเคมีของแซนแทนกัม

ที่มา: Cook, et al., 2012

เมื่อใช้แซนแทนกัมร่วมกับ Locust bean gum หรือ Guar gum จะให้สารละลายที่มีความหนืดสูง สามารถละลายได้ทั้งในน้ำเย็นและน้ำร้อน ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ มีความคงตัวสูงต่อความร้อนและค่า pH ความหนืดของสารละลายแซนแทนกัมจะคงที่แม้ว่าอุณหภูมิจะมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 0-100°C หรือค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 1-13 ก็ตาม ในระหว่างการให้ความร้อนแซนแทนกัมจะเปลี่ยนจากโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (rigid ordered structure) ไปอยู่ในสภาวะที่ไม่เป็นระเบียบ (flexible disordered coil) ซึ่งทำให้ง่ายต่อการเกิดอันตรกิริยาของสายโมเลกุลแซนแทนกัมกับสายพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ เช่นบางงานวิจัยใช้แซนแทนกัมร่วมกับเจลแลนกัมเพื่อให้ได้ลักษณะของไมโครแคปซูลที่มีความเสถียรต่อกรด (Muthukumarasamy and Holley, 2006)

2.2 **เจลแลนกัม** (Gellangum) เป็นไฮโดรคอลลอย์ชนิดหนึ่งที่มักถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหาร เนื่องจากเกิดเจลได้ดีแม้จะใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย (0.01-0.15%) โดยเจลแลนกัมเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากการหมักคาร์โบไฮเดรตด้วยแบคทีเรีย *Sphingomonas elodea* หรือ *Pseudomonas elodea* ได้เจลแลนกัมที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงซึ่งสายหลักประกอบด้วยหน่วยซ้ำๆ ของน้ำตาลกลูโคส กรดกลูคูโรนิก น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแรมโนส (ภาพ 6)



ภาพ 6 โครงสร้างทางเคมีของเจลแลนกัม

ที่มา: Bajaj, et al., 2007

การละลายของเจลแลนกัมต้องใช้ความร้อนสูงกว่า 90°C และไม่สามารถละลายได้ในน้ำกระด้างในการเกิดเป็นเจลต้องใช้ไอออนประจุบวก (divalentcation) เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เป็นต้น ปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเกิดเป็นเจลของเจลแลนกัม ได้แก่ความเป็นกรด และความร้อนที่ใช้ในการทำละลาย ปริมาณน้ำตาล และไอออนในสารละลาย เจลที่ได้จากเจลแลนกัมจะมีลักษณะใสจัดเป็นตัวปลดปล่อยกลิ่นรสที่ดีและทนต่อความร้อนได้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีค่า pH ในระดับต่างๆ ได้ในช่วงกว้างและสามารถทนกรดได้ (Moslemy, Neufeld and Guot, 2002; Muthukumarasamy and Holley, 2006)

2.3 **โปรตีนนมไฮโดรไลเซต** (Milk Protein Hydrolysates; MPH) เกิดจากกระบวนการแยกสลายน้ำนมพาสเจอไรส์ด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์กลุ่ม proteolytic bacteria และการไฮโดรไลท์ด้วยสารละลายด่าง ได้เป็นโปรตีนนมไฮโดรไลเซตที่มีคุณสมบัติดี คือมีความสามารถในการละลายและความสามารถในการเกิดอิมัลชันโดยส่วนประกอบของสารอาหารในนมยังคงเดิม แต่ได้โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง เป็น peptide หรือกรดอะมิโน และเปลี่ยนจากน้ำตาลนม (lactose) เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กลูโคสและกาแลคโตสเมื่อผ่านการไฮโดรไลท์แบคทีเรียสามารถดูดซึมไปใช้ได้ง่ายขึ้นจึงสามารถลดระยะเวลาในการเจริญเติบโตและส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (Lucas, et al., 2004)

2.3.1 **การย่อยสลายโปรตีนนมด้วยเอนไซม์** (Enzyme hydrolysis) เป็นวิธีการนี้มีประสิทธิภาพเนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นอีกทั้งยังเป็นสภาวะที่ไม่รุนแรงสามารถควบคุมการย่อยสลายได้โดยเลือกใช้ชนิดเอนไซม์และสภาวะการย่อยสลายให้เหมาะสมเพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีคุณภาพตามต้องการ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่ม proteolytic

bacteria เช่น *Micrococus* sp., *Streptococus liquefaciens* และ *Bacillus* sp. จะมีเอนไซม์กลุ่มแอสปาเตต โปรตีเอส ได้แก่ เปปซิน คาเทปซิน และไคโมซิน (เรนนิน) (จิรณัฐ ยูซูฟี และภูริญ์ บรรจบ, 2551) ที่ทำให้เคซีนโปรตีนในน้ำนมสลายตัวกลายเป็นเปปโตน กรดอะมิโน แอมโมเนีย และไนโตรเจนอิสระ จากกระบวนการหมักน้ำตาลแลคโตสของจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นส่งผลให้ในน้ำนมมีกลิ่นรสเปรี้ยว เมื่อมีค่า pH ประมาณ 4.0-4.6 จึงเห็นน้ำนมหมักมีการแยกเป็น 2 ส่วน คือส่วนสารละลายที่มีโปรตีนละลายอยู่เรียกว่า "Whey" จะมีสีเหลืองอมเขียว และอีกส่วนคือส่วนของแข็งเกิดจากโปรตีนเคซีนในน้ำนมเกาะตัวเป็นก้อนเนื่องจากกรดที่ถูกผลิตขึ้นจากการหมักนมด้วยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โปรตีนนมที่จับตัวเป็นลิ่มหรือเป็นก้อนนี้เรียกว่า "Curd" มีสีขาวขุ่น

2.3.2 **การย่อยด้วยสารละลายด่าง** (Base hydrolysis) วิธีการนี้ใช้ต้นทุนต่ำ เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการแตกตัวของโมเลกุลโปรตีนโดยการเติมโมเลกุลของน้ำเข้าไปแทรกในระหว่างพันธะของสาย building block ที่ถูกตัดโดยต้องใช้สารละลายด่าง pH สูงกว่า 6.5 ขึ้นไป กระบวนการนี้ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่ให้ได้เป็นกรดอะมิโนขนาดเล็ก โดยทั่วไปนิยมใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ในการย่อยโปรตีนเพราะในสภาวะที่มีสารละลายเกลืออยู่เล็กน้อยจะช่วยให้โปรตีนละลายน้ำได้ดีขึ้น เนื่องจากขณะที่โปรตีนจับกับเกลือ ส่งผลให้โปรตีนมีประจุลบจึงทำให้เกิดแรงผลักดันระหว่างสายโปรตีนส่งผลให้โปรตีนทำปฏิกิริยากับน้ำมากขึ้น เรียกว่าการเกิด salting in แต่ถ้าหากมีปริมาณเกลือมากเกินไป เกลือจะเข้าไปแย่งโปรตีนทำปฏิกิริยากับน้ำ และเกลือยังมีผลทำให้โปรตีนคลายตัว ดังนั้นเคซีนโปรตีนส่วนที่ไม่ชอบน้ำจึงหันมาเกาะกลุ่มกันเอง ทำให้โปรตีนส่วนนี้รวมตัวกันมากขึ้นจึงเกิดการตกตะกอน เรียกว่าการเกิด salting out

3. ข้อดีและข้อเสียของการตรึงเซลล์

ข้อดี

1. สามารถปกป้องเซลล์จากสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดังนั้นเซลล์จึงมีการรอดชีวิตมากขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์อิสระและส่งผลให้ใช้ปริมาณเซลล์สดน้อยกว่า

2. สามารถควบคุมการปล่อยเซลล์จุลินทรีย์ในสภาวะที่เฉพาะเจาะจงได้ โดยอาศัยประเภทของพอลิเมอร์และสภาวะวิธีการตรึงเซลล์

3. ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้

ข้อเสีย

1. ประสิทธิภาพของเซลล์ตรึงจะขึ้นอยู่กับวัสดุและวิธีการที่ใช้ตรึงเซลล์

2. ค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้น

สารเสริมและอาหารเสริมสำหรับสัตว์

พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2525 ในมาตรา 4 ได้ให้คำนิยามของอาหารสัตว์ไว้ดังนี้ "อาหารสัตว์ หมายความว่า วัตถุที่มุ่งหมายเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ที่รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ ประกาศเป็นอาหารสัตว์ในราชกิจจานุเบกษา" โดยในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์จะมีการใช้โปรไบโอติกชนิดเดียว หรือหลายชนิดผสมลงในอาหารสัตว์เพื่อตอบสนองเมตาบอลิซึมในลำไส้สัตว์และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ตัวสัตว์ (สำนักเทคโนโลยีความปลอดภัย กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2555) ในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์นั้นจะเริ่มจากการตรวจสอบวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด แร่ธาตุ สารเสริมอาหารต่างๆ จากนั้นจึงบดส่วนประกอบต่างๆ ให้มีขนาดเล็กลงแล้วจึงผสมให้เข้ากันตามอัตราส่วนที่ต้องการนำไปเลี้ยงสัตว์ในแต่ละช่วงอายุ ปัจจุบันมีการใช้สารเสริมอาหาร (feed additive) และอาหารเสริมสำหรับสัตว์ (feed supplement) เพิ่มมากขึ้นเพื่อให้สัตว์เจริญเติบโตไปตามแนวทางที่ต้องการ

1. **สารเสริมหรือวัตถุที่เติมลงในอาหารสัตว์** (Feed additive)

หมายถึงวัตถุที่เติมลงไปในอาหารเพื่อจุดประสงค์ต่างๆ แต่ไม่ใช่การให้สารอาหารโดยตรงกับสัตว์เพียงแต่เติมลงไปเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตผลผลิตหรือช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหารสัตว์ เพื่อให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้นหรือเพื่อป้องกันรักษาโรค ตัวอย่างสารเสริมในอาหารสัตว์ เช่น ฮอร์โมน (hormones) น้ำย่อย (enzymes) สารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth promoter) เป็นต้น โดยต้องไม่ใช่สารผิดกฎหมายหรือใช้เกินที่กฎหมายกำหนด (ณัฐสิทธิ์ ต้นสกุล, 2555) เมื่อพิจารณาตามประกาศของกลุ่มสหภาพยุโรป สามารถจัดแบ่งสารเสริมอาหารได้ดังนี้ (ณัฐสิทธิ์ ต้นสกุล, 2555)

1.1 Technological additives หมายถึงสารที่เติมลงไปในอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ต่อคุณลักษณะการจัดเก็บ การ handling หรือ สุขลักษณะของอาหาร เช่นการเติม Organic acid ลงไปเพื่อเป็นการถนอมอาหารแต่ไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อเสริมคุณลักษณะทางโภชนะแก่สัตว์

1.2 Sensory additives หมายถึงสารที่เติมเข้าไปเพื่อกระตุ้นความอยากอาหาร (appetite) โดยทั่วไปจะเป็นสารแต่งกลิ่น รส สี เช่นการเติมผงสกัดรสวนิลา หรือกลิ่นกล้วยในอาหารลูกสุกร

1.3 Nutritional additives หมายถึงสาร (เป็นส่วนผสมในอาหารสูตรพื้นฐานอยู่แล้ว) ที่เติมลงไปในอาหารมากเป็นพิเศษตามความต้องการทางสรีระของสัตว์แต่ละชนิด ประเภท เพศ อายุ ตามที่ผู้เลี้ยงสัตว์ต้องการ หรือเมื่อเกิดสภาวะของโรคบางชนิด เช่นการเสริมธาตุสังกะสีให้สัตว์ในกรณีที่มีภาวะพร่องสังกะสี

1.4 Zootechnical additives หมายถึงสารเสริมที่ไปช่วยเสริมประสิทธิภาพการนำโภชนะไปใช้โดยไม่ใช่สารอาหารที่เฉพาะ แต่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิผลของโภชนะที่สัตว์ได้รับ เช่น การเสริม Enzyme หรือ Direct fed microbial product (หรือบางครั้งอาจเรียกว่าเป็น Pro-nutrient) เป็นต้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและการดูดซึมสารอาหาร

1.5 Coccidiostats **และ** Histomonostats หมายถึงสารหรือผลิตภัณฑ์ที่เติมเข้าไปในอาหารสัตว์เพื่อควบคุมการติดเชื้อค๊อคซิเดีย หรือ ฮีสโตโมแนสในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ แต่บางครั้งอาจมีการจัดรวมสารกลุ่มนี้เป็นสารในกลุ่ม zootechnical additive

2. **อาหารเสริมสำหรับสัตว์** (Feed supplement)

หมายถึงวัตถุที่ผสมแล้ว วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ เพื่อใช้เพิ่มคุณค่าทางโภชนะแก่สัตว์ โดยให้สัตว์กินโดยตรง และหรือทำให้เจือจางก่อนใช้เลี้ยงสัตว์ และหรือใช้ผสมอาหารสัตว์อื่นเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ (สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา พ.ศ. 2531, 5 กันยายน 2531) โดยสามารถแบ่งอาหารเสริมสำหรับสัตว์ออกเป็น 4 ชนิด ดังนี้

2.1 **อาหารเสริมโปรตีน** คือผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่มีวัตถุดิบโปรตีนมากกว่า 1 ชนิด เช่น ยีสต์ ไลซีน เมไทโอนีน เป็นต้นซึ่งผสมกันอยู่อย่างน้อย 20% แต่ต้องไม่ใช่อาหารสัตว์สำเร็จรูป หัวอาหารสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์นมสำหรับสัตว์

2.2 **อาหารเสริมแร่ธาตุ** คือผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่มีส่วนประกอบของแร่ธาตุชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดรวมกันก็ได้ และต้องไม่มีสารสื่อ เช่น แร่ธาตุก้อน คอปเปอร์ซัลเฟตฟีดเกรด เป็นต้น เป็นส่วนประกอบ

2.3 **อาหารเสริมวิตามิน** คือผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่มีส่วนประกอบของวิตามินชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดรวมกันก็ได้ และไม่มีสื่อเป็นส่วนประกอบ เช่น วิตามินบี 1 ฟีดเกรด เป็นต้น

2.4 **อาหารเสริมไขมัน** คือผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดรวมกัน และอาจมีวัตถุในอาหารสัตว์อื่นเป็นส่วนประกอบด้วย เช่น ไขมันพืช ไขมันสัตว์ เป็นต้น

3. **การอัดเม็ดอาหารสัตว์**

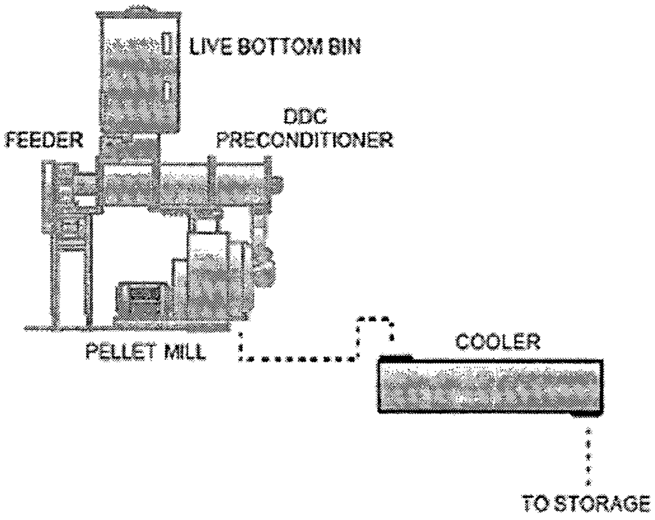
การอัดเม็ดคือการนำอาหารสัตว์ที่ผสมเรียบร้อยแล้วในรูปของอาหารผงหรืออาหารผงสำเร็จรูปมาทำการอัดให้เป็นก้อนขนาดเล็กๆ เท่าๆ กัน ก่อนการนำไปเลี้ยงสัตว์ หรือบรรจุเพื่อจำหน่าย (จีรวัชร์ เข็มสวัสดิ์ และธำรงศักดิ์พลบำรุง, 2551) ดังนั้นการผลิตอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกก็คือการเติมจุลินทรีย์โปรไบโอติกในรูปแบบเชื้อสดหรือเชื้อแห้งลงไปในอาหารสัตว์รูปแบบผงสำเร็จรูป สูตรพื้นฐาน ให้เข้ากันแล้วนำเข้าเครื่องอัดเม็ดเพื่ออัดอาหารให้เป็นก้อนเล็กๆ

เท่าๆ กัน โดยการอัดเม็ดอาหารไม่ได้ทำให้คุณค่าทางโภชนะของอาหารเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แย่ลงหรือดีขึ้นแต่เป็นเพียงการปรับสภาพทางกายภาพของอาหารให้เหมาะสมและสะดวกในการใช้งาน การอัดเม็ดอาหารสัตว์มีกระบวนการแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ การปรับสภาพอาหาร การอัดเม็ด และ การทำให้เย็นดังนี้

3.1 **การปรับสภาพอาหาร** (Conditioning) คือการนำอาหารสัตว์ที่ผสมเสร็จแล้วที่อยู่ในรูปอาหารผงมาปรับปรุงสภาพให้สามารถอัดเป็นเม็ดได้ตามต้องการคือต้องนำอาหารมาผ่านกระบวนการบดให้วัตถุดิบอาหารมีขนาดเล็กสม่ำเสมอหากวัตถุดิบมีขนาดใหญ่จะได้อาหารอัดเม็ดที่แตกง่ายแต่ถ้าบดวัตถุดิบละเอียดมากเกินไปจะต้องใช้พลังงานมากขึ้นและได้เม็ดอาหารที่แข็งมากเกินไปส่วนการปรับปรุงสภาพอาหารผสมในรูปผง สามารถเพิ่มความชื้น เพิ่มวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิดที่เป็นสารปรับปรุงสภาพและเพิ่มโภชนะในอาหาร หรืออาจมีการเติมวัตถุดิบบางชนิดที่ไม่สามารถเติมได้ระหว่างการผสมอาหารในกระบวนการปกติ เช่น การอบไอน้ำในกระบวนการอัดเม็ดก่อนที่อาหารผสมนั้นจะผ่านการเติมน้ำตาลและเติมไขมันเพื่อสู่ขั้นตอนของการอัดเม็ด โดยทั่วไปโรงงานอัดเม็ดอาหารสัตว์จะเพิ่มประสิทธิภาพการอัดเม็ดโดยการอบอาหารด้วยไอน้ำที่ใช้ระยะเวลาประมาณ 15-20 วินาที จนอาหารมีอุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 85-95°C และมีความชื้น 16-20% (จากปกติอาหารสภาพแห้งทั่วไปมีความชื้น 10-12%) (อุทัย คันโท และคณะ, 2552)

3.2 **การอัดเม็ด** (Pelleting) หลักการอัดเม็ดอาหารเม็ดจม เช่น อาหารสุกร อาหารไก่ อาหารกุ้ง เป็นการบีบอัดอาหารให้ผ่านเข้าไปในรูขนาดเล็กอาหารจะถูกกดและรีดเป็นเส้นกลมตามความลึกของรูอัดอาหารเมื่ออาหารพ้นออกจากรูด้านตรงข้ามจะมีลักษณะเป็นเส้นกลมเหมือนดินสอแล้วถูกตัดด้วยใบมีดตามความยาวที่ต้องการอุปกรณ์ที่สำคัญในการอัดเม็ดอาหารคือลูกกลิ้งที่ทำหน้าที่บีบอัดอาหารเป็นชิ้นส่วนที่ต้องมีความแข็งแรงทนการเสียดสีและไม่เกิดความร้อนเมื่อเสียดสีเป็นเวลานานกับส่วนที่ทำหน้าที่เหมือนแม่พิมพ์ปั้นเม็ดอาหารให้มีขนาดเท่าๆ กัน โดยสุกรหลังหย่านมหรือสุกรอนุบาลมักนิยมใช้อาหารอัดเม็ดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร เนื่องจากยังไม่คุ้นชินกับอาหารที่ต้องเคี้ยว ดังนั้นควรเลือกใช้เม็ดอาหารที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ใหญ่เกินไป

3.3 **การทำให้เย็น** (Cooling) อาหารเม็ดที่ผ่านออกมาจากเครื่องอัดเม็ดซึ่งมีอุณหภูมิสูงและอ่อนนิ่มจะถูกทำให้อาหารเย็นลงพร้อมทั้งลดความชื้นส่งผลให้เม็ดอาหารแห้งและแข็งมากขึ้นโดยให้อากาศผ่านผิวนอกของเม็ดอาหารให้มากที่สุดโดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 8-12 นาที สำหรับอาหารอัดเม็ดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า 2 มิลลิเมตร และใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที สำหรับอาหารอัดเม็ดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร



ภาพ 7 กระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์

ที่มา: จีรวะวัชร์ เข็มสวัสดิ์ และธำรงศักดิ์ พลบำรุง, 2551

4. ข้อดีของอาหารอัดเม็ดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารผง

1. ส่วนประกอบในอาหารอัดเม็ดจะเกาะตัวแน่นขึ้น ดังนั้นสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าอาหารผงที่ผ่านการคลุกเคล้าเพียงอย่างเดียวเพราะหากมีการกระทบกระเทือนจากเคลื่อนย้ายหรือขนส่งรวมทั้งเก็บรักษาไว้นานๆ วัตถุดิบที่ผสมอยู่ในอาหารอาจแยกตัวออกตามแรงโน้มถ่วงของโลกส่งผลให้สัตว์ได้รับโภชนะที่ต่างกันไป ดังนั้นควรทำการผสมอาหารใหม่ก่อนนำไปใช้เลี้ยงสัตว์

2. อาหารอัดเม็ดผ่านความร้อนและแรงบีบอัดค่อนข้างสูง ซึ่งความร้อนมีผลทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคที่ไม่ทนอุณหภูมิสูงอย่างเช่น *E. coli* และ *Salmonella* ที่ติดมากับวัตถุดิบบางชนิดชะงักการเจริญเติบโตหรือตายส่งผลให้อาหารสัตว์มีสุขลักษณะดีขึ้น (อุทัย คันโท และคณะ, 2552)

3. การใช้อาหารอัดเม็ดเลี้ยงสัตว์ช่วยให้สัตว์กินอาหารง่ายกว่ารูปแบบอาหารผงและกินอาหารมากขึ้นพอสมควร เนื่องจากอาหารอัดเม็ดมีปริมาตรต่อน้ำหนักอาหารน้อยกว่าอาหารผงและการสูญเสียจากการฟุ้งกระจายหรือตกหล่นน้อยกว่าอาหารในรูปอาหารผง (อุทัย คันโท และคณะ, 2552)

ถึงแม้ว่าอาหารสัตว์ในรูปแบบอัดเม็ดจะมีข้อดีมากกว่าอาหารสัตว์ในรูปแบบอาหารผง แต่การอัดเม็ดก็มีข้อเสียคือด้านการลงทุน ต้นทุน รวมทั้งพลังงานในการผลิตซึ่งอาจไม่คุ้มสำหรับฟาร์มขนาดเล็ก ดังนั้นฟาร์มขนาดเล็กก็ควรหาวิธีการป้องกัน หรือลดปริมาณเชื้อโรคในอาหารในระดับหนึ่งเพื่อให้ได้อาหารสัตว์ที่มีสุขลักษณะ เช่น การนำอาหารสำเร็จรูปผึ่งแดดก่อนใช้

เลี้ยงสัตว์ หรืออาจใช้เครื่องผสมอาหารที่มีระบบทำความร้อนขณะคลุกเคล้าผสมอาหารด้วย รวมทั้งต้องคลุกเคล้าอาหารก่อนนำไปให้เลี้ยงสัตว์อย่างสม่ำเสมอหากเป็นกระสอบที่เก็บรักษาไว้นานแล้ว เพื่อให้สัตว์ได้รับโภชนะอาหารคงที่

สุกรและการใช้โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร

1. สุกรและระบบทางเดินอาหารสุกร

สุกรเป็นสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Simple nonruminant หรือ monogastrics) หมายถึงมีกระเพาะที่มีลักษณะเป็นถุงที่ไม่มีการแบ่งพื้นที่เป็นห้องๆ มีวงจรชีวิต 12-15 ปี โดยมีระยะตั้งท้องประมาณ 114 วัน ระยะการให้นม 8-10 สัปดาห์ มักจะหย่านมเมื่ออายุ 3-5 สัปดาห์ (ขึ้นอยู่กับการจัดการผลิตสุกรในแต่ละฟาร์ม) ซึ่งการผลิตสุกรมักมีปัญหาในช่วงนี้เนื่องจากเป็นระยะสิ้นสุดการดูดนมจากสุกรแม่พันธุ์มากินอาหารเองและต้องแยกออกจากแม่พันธุ์มาอยู่รวมกลุ่มกันภายในคอก ประกอบกับระบบย่อยอาหารของสุกรระยะนี้ยังพัฒนาไม่เต็มที่ ดังนั้นสุกรระยะหลังหย่านมจะมีประสิทธิภาพการย่อยและการดูดซึมโภชนะต่ำ (วันดี ทาตระกูล, 2546) และเนื่องจากลูกสุกรไม่ได้รับน้ำนมจากสุกรแม่พันธุ์แล้วดังนั้นสภาวะภูมิคุ้มกันโรคต่อสภาพแวดล้อมของสุกรระยะหย่านมจึงลดลงส่งผลต่อปริมาณเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น *E. coli* ที่จะถือโอกาสเพิ่มจำนวนและปล่อยสารพิษออกมาจนเป็นสาเหตุให้ลูกสุกรท้องเสียหรือเกิดโรคได้ง่าย

สายพันธุ์ที่นิยมใช้ในการผลิตสุกรขุนเพื่อบริโภคในปัจจุบันใช้สายพันธุ์ลูกผสม 3 สาย คือ พันธุ์ดูรอค x พันธุ์ยอคร์คเชียร์หรือลาจไวท์ x พันธุ์แลนด์เรซ เนื่องจากสุกรทั้ง 3 สายพันธุ์นี้มีข้อดีต่างกันไป (วันดี ทาตระกูล, 2546) ดังนี้

พันธุ์ดูรอค-จอร์ซี่ (Duroc-Jersey) เป็นพันธุ์พื้นเมืองของทางตะวันออกเฉียงเหนือของสหรัฐอเมริกา ผิวสีแดง สุกรพันธุ์นี้มีจุดเด่นคือ มีการเจริญพันธุ์รวดเร็วมากในช่วงวัยเจริญพันธุ์ มีอัตราการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักสูง มีโครงสร้างด้านร่างกายแข็งแรงและปรับตัวเข้าสภาพแวดล้อมได้ดี แต่ได้ขนาดครอกเล็กกว่าสุกรพันธุ์อื่นๆ ดังนั้นจึงมักใช้เป็นสุกรพ่อพันธุ์

พันธุ์ยอคร์คเชีร์ (Yorkshire) หรือลาจไวท์ (Large White) เป็นพันธุ์ผิวสีขาวที่มีต้นกำเนิดจากประเทศอังกฤษ มีลักษณะเด่นคือมีอัตราการเจริญเติบโตดีเป็นเลิศเมื่อเทียบกับสุกรพันธุ์อื่นๆ ให้ลูกดก ขนาดครอกหย่านมสูงและได้เปอร์เซ็นต์ซากสูงแต่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักแค่พอใช้ได้ ดังนั้นจึงมักใช้เป็นสุกรแม่พันธุ์

พันธุ์แลนด์เรซ (Landrace) เป็นพันธุ์ผิวสีขาวเช่นเดียวกับสุกรพันธุ์ยอคร์คเชียร์หรือลาจไวท์ แต่เป็นพันธุ์พื้นเมืองของสแกนดิเนเวียมีลักษณะเด่นคือให้ลูกดกพอสมควรและให้น้ำนมมาก ดังนั้นลูกสุกรจึงโตเร็วมากจึงนิยมใช้เป็นแม่พันธุ์เช่นกัน

ระบบทางเดินอาหารสุกร เริ่มจากปากและต่อมน้ำลายไปจนถึงลำไส้ใหญ่และช่องทวารหนัก ดังนี้

1. ปากและต่อมน้ำลายสุกร มีลักษณะช่องปากตามชนิดของสายพันธุ์ โดยภายในปากจะมีต่อมน้ำลายหลักๆ 3 ต่อม คือ ต่อมพาโรติด (parotidgland) ต่อมแมนดิบูลาร์ (mandibular gland หรือ sub maxillary) และต่อมสับลิงกัวล์ (sublingual land) ที่ผลิตเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ช่วยในการย่อยอาหาร ในปากสุกรมีฟันทั้งหมด 44 ซี่ เพื่อทำหน้าที่บดอาหารให้ละเอียดแล้วกลืน

2. คอหอยและหลอดอาหาร มีลักษณะยาวแคบและจะมีกล้ามเนื้อหูรูดทำหน้าที่ควบคุมการลำเลียงก้อนอาหารเคลื่อนเข้าสู่กระเพาะอาหาร

3. กระเพาะอาหาร แบ่งเป็น 5 ส่วนหลักๆ คือ คาร์เดีย (cardia) ฟันดัส (fundus) บอดี้ (body) แอนทรัม (antrum) และพัยลอรัส (pylorus) มีค่า pH น้อยกว่า 3.6 หรือประมาณ pH 1-2.5 (Cook, et al., 2012) เนื่องจากกรดเกลือหรือกรดไฮโดรคลอริก นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อีกหลายชนิดในการย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) เช่น โปรติเอส และแปบซิน โดยอาหารจะใช้เวลาในการย่อยที่กระเพาะอาหารประมาณ 80.5 นาที (Cook, et al., 2012)

4. ลำไส้เล็ก แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) มีค่า pH ประมาณ 6.15-7.35 ลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) มีค่า pH ประมาณ 6.80-7.88 และลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) มีค่า pH ประมาณ 5.26-6.72 โดยอาหารจะใช้เวลาย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กประมาณ 3.2±1.6 ชั่วโมง (Cook, et al., 2012) โดยในสุกรแรกเกิดจะมีลำไส้เล็กยาว 2-4 เมตร และเมื่อสุกรโตลำไส้เล็กจะมีความยาวถึง 16-21 เมตร (วันดี ทาตระกูล, 2546) ลักษณะโครงสร้างของผนังลำไส้เล็กจะประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อ 4 ชั้น แต่ชั้นที่สำคัญคือชั้นเนื้อเยื่อบุทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นในสุดที่เป็นส่วนของพื้นผิวของวิลไลที่เป็นส่วนสำคัญในการย่อยและดูดซึมสารอาหาร

5. ตับอ่อน เป็นส่วนที่เชื่อมต่อกับลำไส้เล็กส่วนต้นและกระเพาะอาหาร ทำหน้าที่หลั่งไบคาร์บอเนตและโซเดียมเป็นหลักโดยสารที่หลั่งมีค่า pH ประมาณ 7.2-7.4 และยังมีการปล่อยซัยโมเจนที่ประกอบด้วยเอนเทอโรไคเนส (enterokinase หรือ enteropeptidase) เข้าสู่โพรงของลำไส้เล็กเพื่อไปปรับสภาพแวดล้อมในลำไส้ให้เป็นกลางและไปกระตุ้นเอนไซม์ให้อยู่ในสภาวะที่ทำงานได้ เช่นกระตุ้นการแตกตัวของพันธะเพปไทด์ของทริปซิโนเจนให้เปลี่ยนเป็นทริปซิน เป็นต้น

6. ตับ เป็นแหล่งผลิตน้ำดี ภายในตับจะมีท่อน้ำดีอยู่ภายในที่แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ท่อซิสติค (cystic duct) ที่เชื่อมอยู่กับถุงน้ำดี และท่อน้ำดีปกติ (common bile duct) ซึ่งเชื่อมอยู่กับลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัมที่เข้าไปช่วยในการตีไขมันให้แตกเป็นเม็ดเล็กๆ

7. ลำไส้ใหญ่ สุกรหรือสัตว์กระเพาะเดี่ยวที่กินพืชจะมีส่วนของซีกัม (caecum) ที่สั้นแต่ของโคลอน (colon) จะยาว ส่วนโคลอนนี้แบ่งได้เป็น 3 ส่วน ถ้านับจากส่วนปลายของลำไส้เล็ก คือ ลำไส้ใหญ่ส่วนขึ้น (ascending colon) ลำไส้ใหญ่ส่วนขวาง (transverse colon) และลำไส้ใหญ่ส่วนลง (descending colon) ซึ่งส่วนลงจะต่อกับไส้ตรง (rectum) โดยรวมแล้วภายในลำไส้ใหญ่มีค่า pH ประมาณ 5.20-7.02 (Cook, et al., 2012) ในสุกรที่โตเต็มที่ลำไส้ใหญ่จะยาวประมาณ 3.5-6 เมตร (วันดี ทาตระกูล, 2546) ในส่วนลำไส้ใหญ่บริเวณเซลล์เยื่อบุจะไม่มีวิลไล แต่จะมีส่วนของไมโครวิลไลที่ไม่สามารถหลั่งน้ำย่อยได้เหมือนลำไส้เล็ก เนื่องจากลำไส้ใหญ่ไม่มีหน้าที่ย่อยอาหาร เพียงแต่มีหน้าที่ดูดซึมสารอาหารส่วนเหลือที่หลุดลอดมาจากการดูดซึมของลำไส้เล็กและทำหน้าที่ในการลำเลียงกากอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้สู่ทางช่องทวารหนัก

2. การใช้โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร

การใช้โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรมีจุดประสงค์เพื่อการลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและส่งเสริมการทำงานของลำไส้ การให้โปรไบโอติกเสริมร่วมกับสูตรอาหารพื้นฐานของสุกรนั้นส่งผลให้สุกรมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Davis, et al., 2008) อย่างไรก็ตามสายพันธุ์โปรไบโอติกที่ใช้จะเป็นสิ่งที่กำหนดทิศทางของผลจากการใช้งานในเบื้องต้น เช่น การให้โปรไบโอติกสายพันธุ์ *Bacillus* เพิ่มเข้าไปกับอาหารของสุกรส่งผลดีต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย (Average Daily Gain) อีกทั้งสามารถลดอัตราการตายในสุกร (Davis, et al., 2008) ส่วนโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacilli* ที่มีคุณสมบัติในการผลิตกรดแลคติกและเอนไซม์ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกิดการย่อยและดูดซึมอาหารที่ดีขึ้นในลำไส้ของสัตว์ (Yu, et al., 2008)

Meng, et al. (2010) พบว่าสุกรที่ได้รับโปรไบโอติกมีการย่อยโปรตีนได้ดีกว่าและส่งผลให้สุกรได้รับพลังงานสูงกว่าสุกรกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส่วนความสามารถในการกระตุ้นภูมิต้านทานโรคในลูกสุกรหย่านมเป็นอีกบทบาทหนึ่งของโปรไบโอติกที่สำคัญเนื่องจากอาการท้องเสียในลูกสุกรหย่านมเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดความสูญเสียในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรในหลายๆ งานวิจัยพบว่าการให้โปรไบโอติกเพิ่มเติมในอาหารของลูกสุกรและลูกสุกรหย่านมสามารถลดอัตราการเกิดการท้องเสียและอัตราการตายในลูกสุกรได้ (ตาราง 4) และจากการศึกษาอีกหลายๆ งานพบว่าโปรไบโอติกมีส่วนช่วยในการทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ของสัตว์ทำงานได้ดีขึ้นจึงส่งผลให้เชื้อก่อโรครุกล้ำเข้าไปในเซลล์ของสัตว์ได้ลดลง และโปรไบโอติกบาง

สายพันธ์ เช่น *Bacillus cereus* และ *B. toyoi* ยังสามารถกระตุ้น T-Cells เพื่อมาช่วยต่อสู้การรุกล้ำของเชื้อก่อโรคในสัตว์ได้ (Lebon, et al., 2010; Simon, 2011)

แต่ในกระบวนการเลี้ยงสัตว์อาจจำเป็นต้องมีการใช้ยาปฏิชีวนะร่วมด้วยบ้างเพื่อป้องกันและรักษาโรค ซึ่งต้องคำนึงถึงการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาเพราะส่งผลต่อจำนวนโปรไบโอติกที่มีชีวิตที่เข้าไปทำหน้าที่ได้ในขณะผ่านระบบทางเดินอาหารของสัตว์รวมทั้งผลกระทบด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกมากขึ้นในหลากหลายรูปแบบ เช่น ให้สัตว์กินโดยตรง หรือผสมลงในอาหารสัตว์ โดยรูปแบบการใช้งานต้องคำนึงถึงความเหมาะสม การให้สัตว์กินโดยตรง เช่น วิธีกรอกทางปาก ถึงแม้ว่าสัตว์จะได้รับโปรไบโอติกตามความเข้มข้นที่ต้องการและใช้โปรไบโอติกในปริมาณน้อยแต่ก็ต้องคำนึงถึงสภาพจิตใจของสัตว์ด้วยเพราะธรรมชาติของสัตว์นั้นไม่ชอบถูกจับกรอกปากหรือฉีดยา ดังนั้นหากทำบ่อยครั้งอาจทำให้สัตว์เกิดอาการเครียดได้ ส่วนรูปแบบการให้โปรไบโอติกโดยการผสมในอาหารสัตว์เพื่อให้สัตว์กินเป็นรูปแบบที่มีการใช้งานเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบันเนื่องจากสามารถใช้เทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อโปรไบโอติกก่อนได้ เช่นการทำแห้งก่อนนำมาผสมในอาหารแต่ปริมาณโปรไบโอติกที่สัตว์ได้รับก็จะขึ้นอยู่กับการกินอาหารของสัตว์แต่ละตัว หากสัตว์มีอาการป่วย เครียด เบื่ออาหารก็จะกินอาหารได้น้อยลงหรือไม่กินเลย ดังนั้นการได้รับโปรไบโอติกก็จะลดลงตามไปด้วย

ตาราง 4 การทดสอบใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในสุกร

สายพันธุ์	กลุ่มทดลอง	ผลการทดลอง	อ้างอิง
Lactobacillus spp.	1. กลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับโปรไบโอติก) 2. *Lactobacillus* spp. $2x10^5$ cfu/ml 3. *Lactobacillus* spp. $4x10^5$ cfu/ml	1. กลุ่มสุกรหย่านมที่เสริมโปรไบโอติกมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 2. การใช้ *Lactobacillus* $2x10^5$ cfu/ml ช่วยให้สุกรหย่านมมีอาการท้องร่วงน้อยกว่ากลุ่มควบคุมและ *Lactobacillus* $4x10^5$ cfu/ml 3. การใช้ *Lactobacillus* $4x10^5$ cfu/ml มีอัตราการตายเท่ากับกลุ่มควบคุม	สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์ และคณะ, 2545
1. *Lactobacillus* sp. 2. *Bacillus* sp.	1. กลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับโปรไบโอติก) 2. *Bacillus* sp. 0.1% 3. *Lactobacillus* sp. 0.1% 4. Chlortetracycline 0.4%	1. กลุ่มสุกรที่เสริม *Bacillus* sp. 0.1% มีแนวโน้มน้ำหนักตัวต่อวันเพิ่มมากที่สุด 2. ทุกกลุ่มการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันใกล้เคียงกัน แต่สูงกว่ากลุ่มควบคุม	จำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ และกิตติพงษ์ ทิพยะ, 2551
Bacillus subtillus	1. กลุ่มควบคุม (ได้รับสารละลาย Phosphate Buffered Saline; PBS) 2. *B. subtillus* MP9 ที่ละลายใน PBS ความเข้มข้น 10^{11} cfu/ml 3. *B. subtillus* MP10 ที่ละลายใน PBS ความเข้มข้น 10^{11} cfu/ml 4. Chlortetracycline 1g/ตัว/วัน (ติดต่อกัน 3 วัน)	*B. subtillus* MP9 และ MP10 1. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำหนักลูกสุกรได้มากกว่ากลุ่มอื่น 2. ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน 3. จำนวนเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* ในมูลต่ำกว่ากลุ่มอื่น 4. จำนวนวันการเกิดท้องเสียจนหายเป็นปกติน้อยกว่ากลุ่มอื่น	จำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ และกิตติพงษ์ ทิพยะ, 2553

การเลือกใช้วิธีการให้โปรไบโอติกที่มีชีวิตแก่สุกรโดยตรงเรียกว่าวิธี directfed microbials โดยจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในวิธีนี้ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมโดยอาจจะเลือกชนิดสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้แต่ต้องไม่สร้างสารพิษกับสัตว์ เนื่องจากสปอร์นั้นมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่รุนแรงและหลากหลาย ดังนั้นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้งานจึงอยู่ในสายพันธุ์ *Bacillus* เช่น *B. subtilis* และ *B. cereus* var. *toyoi* เนื่องจากสายพันธุ์ *Bacillus* สามารถสร้างสปอร์เพื่อป้องกันตัวเองจากความร้อนและอุณหภูมิสูงระหว่างกระบวนการผลิตและทนต่อกระบวนการย่อยในกระเพาะอาหารของสัตว์ โดยส่วนมากระยะเวลาที่เหมาะสมกับการใช้โปรไบโอติกคือตั้งแต่แรกเกิดจนถึงสี่สัปดาห์หลังจากหย่านม เนื่องจากง่ายต่อการใช้งาน แต่มีข้อจำกัดคือต้องเลือกสายพันธุ์โปรไบโอติกที่ทนทานต่อกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ที่ต้องใช้ความร้อนสูงด้วย (Marcobal, Underwood and Mills, 2008)

จากการศึกษาของ Scharek, et al. (2007) โดยให้ *B. cereus* var. *toyoi* แก่แม่สุกรพบว่าสามารถลดการส่งผ่านของเชื้อ *E. coli* ก่อโรคสู่ลูกสุกรและลดอาการท้องเสียในฝูงลูกสุกร และยังให้ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงขึ้นและมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักที่ดีขึ้น ในการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะที่ทดลองในลูกสุกรประมาณ 20,000 ตัว ของ Scharek, et al. (2007) พบว่าลูกสุกรที่ได้รับอาหารที่มีโปรไบโอติกและลูกสุกรที่รับอาหารที่มียาปฏิชีวนะให้ผลการทดลองที่เหมือนกันในทางสถิติทั้งทางด้านต้นทุนและการผลิตต่อกิโลกรัม ด้วยเหตุนี้จึงเป็นไปได้ว่าการใช้โปรไบโอติกสามารถลดหรือทดแทนปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะได้เป็นอย่างดีในเบื้องต้น แต่ควรมีการทำซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลอง

สำหรับการใช้โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจ เช่น กุ้ง ไก่ ปลา สุกร วัว มีการรายงานว่าพบการใช้โปรไบโอติกมากในกลุ่มสัตว์น้ำ เช่น ปลา และกุ้ง เนื่องจากโปรไบโอติกในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถปรับสภาพสิ่งแวดล้อมภายในบ่อเพาะเลี้ยงให้ดีขึ้นและแบคทีเรียโปรไบโอติกยังมีความสามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ในบ่อเพาะเลี้ยงเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และลดการสะสมของคาร์บอนจากสารอินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงได้ เป็นอย่างดี เช่น การใช้โปรไบโอติกสายพันธุ์ *Bacillus* sp. ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถปรับสภาพของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงให้มีคุณภาพดีขึ้น (Balcazar, et al., 2006) ปัจจุบันการใช้โปรไบโอติกสำหรับการเลี้ยงสุกรมีรายงานน้อยมาก อาจเนื่องมาจากการเลี้ยงสุกรมีปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ค่อนข้างมาก เริ่มตั้งแต่การจัดการสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ไปจนถึงระบบการจัดการฟาร์มที่ต่างกันในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทย