บทที่ 4

ผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ และมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นของสุกรพบว่าได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 93 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลทที่คัดแยกได้จากลำไส้เล็กจำนวน 47 ไอโซเลท จากลำไส้ใหญ่ 35 ไอโซเลท และจากมูลในบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนต้นอีก 11 ไอโซเลท (ตาราง 10)

ตาราง 10 จำนวนไอโซเลทที่คัดแยกได้จากลำไส้สุกร

แหล่งที่มา	ไอโซเลท	แกรมแบคทีเรีย	
		บวก	ลบ
ลำไส้เล็ก	47	34	13
ลำไส้ใหญ่	35	33	2
มูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น	11	11	0
รวม	93	78	15

การคัดเลือกแบคทีเรียคุณสมบัติโปรไบโอติก

1. การทนต่ออุณหภูมิสูง

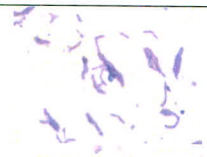
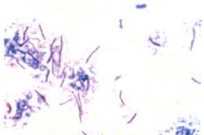
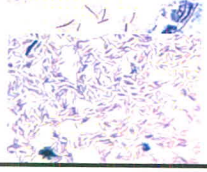
จากแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 93 ไอโซเลท พบว่ามีแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูง 80°C, 85°C, 90°C และ 95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง จำนวนทั้งหมด 31 ไอโซเลท (ตาราง 11) และคาดว่าจะเป็นจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่แบคทีเรียอีก 6 ไอโซเลท เนื่องจากมีลักษณะโคโลนีที่ต่างจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่ คือมีลักษณะโคโลนีขอบหยักและค่อนข้างแข็ง ลักษณะโคโลนีที่สร้างเส้นใยรวมทั้งโคโลนีรูปกลมรีที่เจริญอยู่ภายในเนื้อของอาหารแข็ง MRS ซึ่งลักษณะของไอโซเลทดังกล่าวไม่สามารถระบุสายพันธุ์ได้โดยวิธีหาลำดับของยีนดังนั้นจึงมีจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูง รวมทั้งสิ้นเป็น 37 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลทที่คัดแยกได้จากลำไส้เล็กจำนวน 8 ไอโซเลท จากลำไส้ใหญ่ 12 ไอโซเลท และจากมูลในบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนต้นอีก 17 ไอโซเลท โดยจากจำนวนไอโซเลททั้งหมดที่ทดสอบ (93 ไอโซเลท) สามารถคัดเลือก

ไอโซเลทที่สามารถทนอุณหภูมิสูง คือ 90°C และ 95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง ได้จำนวน 5 ไอโซเลท (ตาราง 12)

ตาราง 11 จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูง (80-95°C)

อุณหภูมิ (°C)	ไอโซเลท	แกรมแบคทีเรีย	
		แกรมบวก	แกรมลบ
80	17	15	2
85	9	9	0
90	2	2	0
95	3	3	0
รวม	31	29	2

ตาราง 12 แบคทีเรียที่สามารถทนอุณหภูมิสูง (90-95°C)

รหัสไอโซเลท	แหล่งที่มา	แกรม	อุณหภูมิ (°C)
LAB 1	ลำไส้ใหญ่		90
LAB 2	ลำไส้ใหญ่		90
LAB 3	ลำไส้เล็ก		95
LAB 4	ลำไส้เล็ก		95
LAB 5	ลำไส้เล็ก		95

หมายเหตุ: แกรมบวก ผนังเซลล์แบคทีเรียติดสีม่วงของ Crystal violet

2. การทนต่อสภาวะความเป็นกรด

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่มีรูปร่างเซลล์เป็นท่อนและสามารถทนอุณหภูมิสูง 90-95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง ทั้ง 5 ไอโซเลท (ตาราง 12) รวมทั้งไอโซเลทที่ไม่สามารถทนอุณหภูมิสูงถึง 80°C แต่มีรูปร่างเซลล์เป็นลักษณะกลมคู่ (LAB 20-2) ที่ได้จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกส่วนของมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น มาทดสอบความสามารถในการทนต่อสภาวะกรดที่ pH 1, 2, 3 และ 4 นาน 3 และ 5 ชั่วโมง พบว่าไอโซเลท LAB 4 และ LAB 5 มีความสามารถทนกรดค่อนข้างต่ำได้แต่อยู่ในระดับน้อยที่สุดในขณะที่ไอโซเลท LAB 20-2 มีความสามารถในการทนกรดค่อนข้างต่ำได้เช่นกันแต่อยู่ในระดับมากที่สุด ดังแสดงในตาราง 13

ตาราง 13 แบคทีเรียที่แยกได้สามารถทนกรด

รหัสไอโซเลท	pH							
	1		2		3		4	
	3 h	5 h	3 h	5 h	3 h	5 h	3 h	5 h
LAB 1	++	+++	++	++	++	++	++	++
LAB 2	++	+	++	+	++	+	++	+
LAB 3	++	++	++	++	++	+	++	++
LAB 4	+	+	+	+	+	+	+	+
LAB 5	+	+	+	+	+	+	+	+
LAB 20-2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

หมายเหตุ: + คือ ทนกรดได้น้อยที่สุด

+++ คือ ทนกรดได้มากที่สุด

3. การต้านทานยาปฏิชีวนะ

เมื่อนำไอโซเลทของแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบความสามารถในการทนสภาวะความเป็นกรดต่ำ คือ pH 1-4 นาน 3-5 ชั่วโมง ทั้ง 6 ไอโซเลท คือ LAB 1, 2, 3, 4, 5 และ 20-2 มาทดสอบความสามารถการต้านทานยาปฏิชีวนะ ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มแผ่นยาปฏิชีวนะสำเร็จรูป 5 ชนิด คือ 30 µg Tetracycline, 30 µg Neomycin, 30 µg Chloramphenicol, 30 µg Kanamycin และ 15 µg Erythromycin, (Oxoid, UK)

2. กลุ่มยาปฏิชีวนะที่เกษตรกรใช้ในการเลี้ยงสุกร โดยใช้ผสมลงในอาหาร คือ 0.1% Amoxicilin และ 0.1% Colistin sulphate (Potencil®, Virbac, France) รวมทั้งยาปฏิชีวนะที่ให้สุกรกินโดยตรงด้วยวิธีการกรอกทางปากคือ 10% Enrofloxacin (โนวา เมดิซีน จำกัด, ประเทศไทย)

พบว่าหลังจากบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ไอโซเลท LAB 20-2 มีความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด ส่วนไอโซเลท LAB 1, 2, 3 และ 4 เริ่มมีโคโลนีขึ้นบนรอยวงใสบางๆ (ตาราง 14)

และเมื่อบ่มเชื้อต่อจนครบ 46 ชั่วโมง พบว่ามีโคโลนีของแบคทีเรียไอโซเลท LAB 2 เกิดขึ้นบริเวณภายในวงใสอย่างชัดเจนของเพลทที่ทดสอบยาปฏิชีวนะ 30 µg Chloramphenicol, 15 µg Erythromycin, 30 µg Kanamycin และ 30 µg Neomycin ของไอโซเลท LAB 2 (ตาราง 14 และภาพ 15) และมีโคโลนีของแบคทีเรียไอโซเลท LAB 4 เกิดขึ้นบริเวณภายในวงใสอย่างชัดเจนของเพลทที่ทดสอบยาปฏิชีวนะ 30 µg Chloramphenicol, 15 µg Erythromycin, 30 µg Kanamycin และ 30 µg Neomycin ของไอโซเลท LAB 4 เช่นกัน (ตาราง 15 และภาพ 16)

ต่อมาเมื่อบ่มเชื้อไว้อีกจนครบ 54 ชั่วโมง พบว่ามีโคโลนีแบคทีเรียของ LAB 1 เกิดขึ้นในบริเวณวงใสของเพลทที่ทดสอบการต้านทานยาปฏิชีวนะ 30 µg Tetracycline และมีโคโลนีแบคทีเรียของ LAB 3 เกิดขึ้นในบริเวณวงใสของเพลทที่ทดสอบการต้านทานยาปฏิชีวนะ 30 µg Chloramphenicol และ 30 µg Neomycin (ตาราง 16)

และพบว่าไอโซเลท LAB 5 ไม่มีความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบในงานวิจัยนี้

ตาราง 14 การต้านทานยาปฏิชีวนะหลังจากบ่ม 24 ชั่วโมง ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

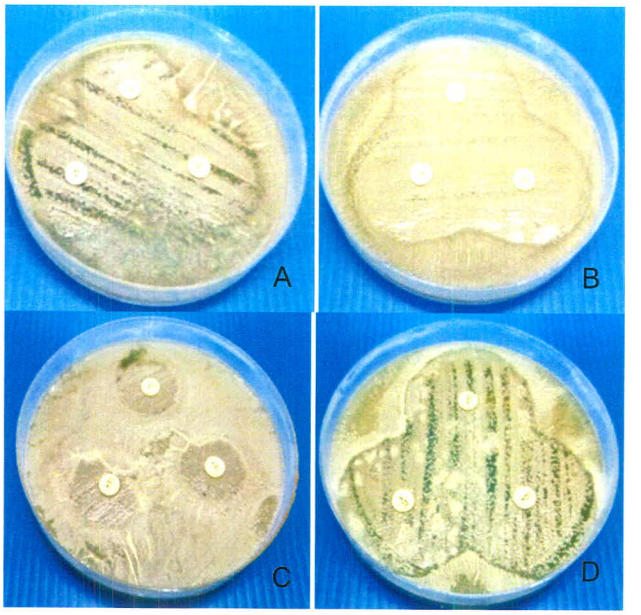
รหัสไอโซเลท	30 µg Tetra cycline	30 µg Chloram phenical	30 µg Kana mycin	30 µg Neo mycin	15 µg Erythro mycin	10% Enro floxacin	0.1% Amoxi cilin and 0.1% Colistin sulphate
LAB 1	S	S	S	S	S	S	S
LAB 2	S	S	S	S	S	S	S
LAB 3	S	S	S	S	S	S	S
LAB 4	S	S	S	S	S	S	S
LAB 5	S	S	S	S	S	S	S
LAB 20-2	R	R	R	R	R	R	R
E. coli	S	R*	R	I	R	S	R*

ตาราง 15 การต้านทานยาปฏิชีวนะหลังจากบ่ม 46 ชั่วโมง ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

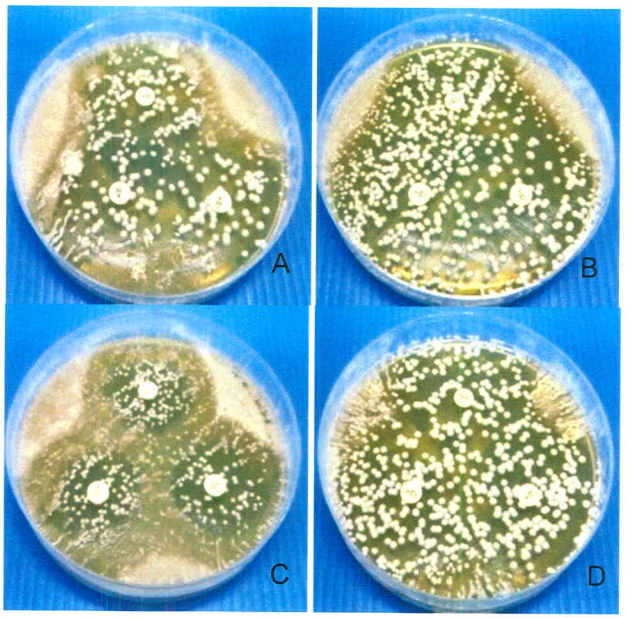
รหัสไอโซเลท	30 µg Tetra cycline	30 µg Chloram phenical	30 µg Kana mycin	30 µg Neo mycin	15 µg Erythro mycin	10% Enro floxacin	0.1% Amoxi cilin and 0.1% Colistin sulphate
LAB 2	S	R*	R*	R*	R*	R*	R*
LAB 4	S	R*	R*	R*	R*	R*	R*

ตาราง 16 การต้านทานยาปฏิชีวนะหลังจากบ่ม 54 ชั่วโมง ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

รหัสไอโซเลท	30 µg Tetra cycline	30 µg Chloram phenical	30 µg Kana mycin	30 µg Neo mycin	15 µg Erythro mycin	10% Enro floxacin	0.1% Amoxi cilin and 0.1% Colistin sulphate
LAB 1	R*	S	S	S	S	S	S
LAB 3	S	R*	S	R*	S	S	S



ภาพ 15 แสดงการต้านทานยาปฏิชีวนะของไอโซเลท LAB 2 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 46 ชั่วโมง; (A) 30 µg Kanamycin, (B) 30 µg Chloramphenecal, (C) 30 µg Neomycin และ (D) 15 µg Erytheromycin



ภาพ 16 แสดงการต้านทานยาปฏิชีวนะของไอโซเลท LAB 4 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 46 ชั่วโมง; (A) 30 µg Kanamycin, (B) 30 µg Chloramphenecal, (C) 30 µg Neomycin และ (D) 15 µg Erytheromycin

4. ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ท (Non-starch polysaccharide; NSP)

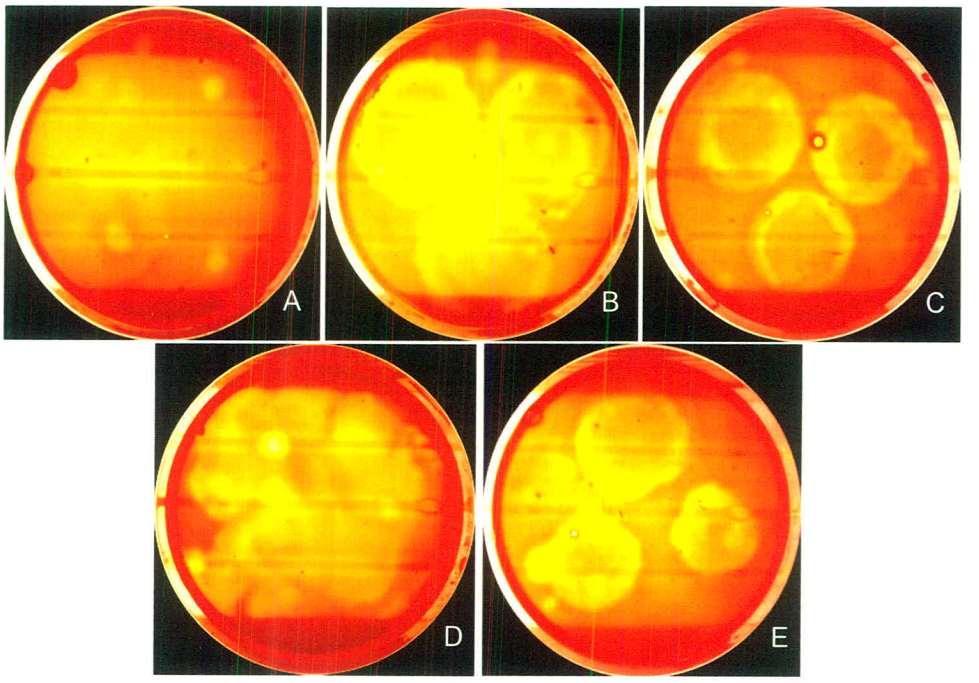
เมื่อนำไอโซเลทแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบการต้านทานยาปฏิชีวนะทั้ง 8 ชนิด คือ Tetracycline, Chrolamphenical, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, 10% Enrofloxacin และ Potencil® ที่ประกอบด้วย 0.1% Amoxicilin และ 0.1% Colistin sulphate ทั้งหมด 5 ไอโซเลท คือไอโซเลท LAB 1, 2, 3, 4 และ 20-2 มาทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อย NSP คือ เซลลูเลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส พบว่าไอโซเลทที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อย NSP ได้ดีโดยเฉพาะเอนไซม์ไซแลนเนสและเฮมิเซลลูเลสคือไอโซเลท LAB 3 (ภาพ 17 (B) และ (C) ตามลำดับ) และไอโซเลท LAB 4 (ภาพ 17 (D) และ (E) ตามลำดับ) ส่วนไอโซเลท LAB 1 สามารถผลิตได้ดีเฉพาะเอนไซม์เฮมิเซลลูเลสเท่านั้น (ภาพ 17 (A)) ส่วนไอโซเลท LAB 20-2 พบว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อย NSP คือ เซลลูเลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส ได้เช่นกัน แต่อยู่ในระดับที่น้อยที่สุด (ตาราง 17)

ตาราง 17 แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อย NSP

รหัสไอโซเลท	Cellulase	Hemicellulase	Xylanase	MRS (control)
LAB 1	++	+++	++	++
LAB 2	++	+++	++	++
LAB 3	++	+++	+++	+
LAB 4	++	+++	+++	+
LAB 20-2	+	+	+	+

หมายเหตุ: + คือ ผลิตเอนไซม์ย่อยNSPได้น้อยที่สุด

+++ คือ ผลิตเอนไซม์ย่อยNSPได้มากที่สุด



ภาพ 17 แสดงการผลิตเอนไซม์ย่อย NSP บริเวณวงสีเหลือง; (A) การผลิตเอนไซม์ Hemicellulase ของ LAB 1, (B) การผลิตเอนไซม์ Xylanse และ (C) Hemicellulaseของ LAB 3, (D) การผลิตเอนไซม์ Xylanse และ (E) Hemicellulase ของ LAB 4

การจัดจำแนกแบคทีเรีย

1. สีแกรม

แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้จากลำไส้สุกรทั้งหมด 93 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 78 ไอโซเลท เนื่องจากผนังเซลล์ติดสีม่วงของคริสตอลไวโอเลตและเป็นแบคทีเรียแกรมลบ 15 ไอโซเลท เนื่องจากผนังเซลล์ติดสีแดงของซาฟรานิน (ตาราง 10) โดยแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด

2. การหาลำดับเบส

ผลจากการจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยวิธีการหาลำดับของยีนส่วน 16s rRNA ที่มีความยาวประมาณ 1.3 kb โดยบริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี (ตาราง 18) พบว่าไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติกที่ดีทั้ง 5 ไอโซเลท คือแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* sp. เป็นส่วนใหญ่ โดยไอโซเลท LAB 1 คือ *Bacillus subtilis* strain K21, ไอโซเลท LAB 2 คือ *B. licheniformis*, ไอโซเลท LAB 3 คือ *B. subtilis* strain KISR, ไอโซเลท LAB 4 คือ *B. subtilis* strain KL-007 และไอโซเลท LAB 20-2 คือ *Pediococcus pentosaceus* ส่วน

ไอโซเลท LAB 5 ที่มีความสามารถทนอุณหภูมิสูง 95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง และสามารถทนความเป็นกรดค่อนข้างต่ำ คือ pH 1, 2, 3, 4 นาน 3-5 ชั่วโมง แต่ไม่สามารถต้านทานยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบได้นั้นคือ *B. tigulensis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีในรายชื่อสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารสัตว์ในคู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพ กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2555)

ตาราง 18 การจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ได้จากการทดลอง

รหัสไอโซเลท	สายพันธุ์	รหัสไอโซเลท	สายพันธุ์
[1]LAB_1	*Bacillus subtilis* strain K21	LAB_12	*B. subtilis* strain ASC4
[1]LAB_2	*B. licheniformis*	LAB_13-1	*B. coagulans*
[1]LAB_3	*B. subtilis* strain KISR	LAB_13-2	*Uncultured bacterium*
[1]LAB_4	*B. subtilis* strain KL-007	LAB_14-1	*B. subtilis* strain CLW-BA1-5
[2]LAB_5	*B. tiquilensis*	LAB_14-2	*B. coagulans*
LAB_6-1	*B. coagulans* strain WYS-02	LAB_14-3	*B. coagulans*
LAB_6-2	*B. coagulans* strain X16	LAB_15	*B. oleronius* strain 30N3-6
LAB_7-1	*B. coagulans*	LAB_16	*B. coagulans*
LAB_7-2	*B. coagulans*	LAB_17-1	*B. subtilis* strain CLW-BA1-5
LAB_8	*B. subtilis* strain BS0521	LAB_17-2	*B. subtilis* strain AIMST KSC.3
LAB_9	*Bacillus sp.*	LAB_18	*B. coagulans* 36D1
LAB_9-1	*Bacillus sp.*	LAB_19-1	*Pediococcus pentosaceus*
LAB_9-2	*B. subtilis* strain KL-077	LAB_19-2	*Weissella paramesenteroides* strain TR7.1.6
LAB_9-3	*B. subtilis* subsp. *subtilis* strain CICC 10078	LAB_20-1	*B. coagulans*
LAB_9-4	*B. subtilis* subsp. *subtilis* strain CICC 10078	[1]LAB_20-2	*P. pentosaceus*
LAB_10-1	*B. coagulans*	[2]LAB_23-2	*Kurthia gibsonii* strain SP22
LAB_10-2	*B. subtilis* strain FS05	LAB_25-2	*P. pentosaceus*
LAB_11	*B. coagulans*	LAB_25-3	*B. subtilis* subsp. *subtilis* strain RG

หมายเหตุ: [1] จุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติ และอนุญาตให้ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์
[2] จุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบบางส่วนและไม่มีรายชื่ออนุญาตให้ผลิตอาหารสัตว์

ตาราง 19 แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ดีจากการทดสอบคัดเลือกได้

สายพันธุ์	แหล่งที่มา	คุณสมบัติที่ทดสอบ			
		อุณหภูมิสูง (^{o}C)	กรดต่ำ	การต้านทานยาปฏิชีวนะ	ผลิตเอนไซม์ย่อย NSP
Bacillus subtilis strain K21	ลำไส้ใหญ่	90	1 (++)	Tetracycline	Hemicellulase (+++)
B. licheniformis	ลำไส้ใหญ่	90	1 (++)	Chloramphenicol, Neomycin, Erythromycin, 0.1% Amoxicilin, 0.1% Colistin sulphate	Hemicellulase (+++)
B. subtilis strain KISR	ลำไส้เล็ก	95	1 (++)	Chloramphenicol, Neomycin	Xylanase, Hemicellulase (+++)
B. subtilis strain KL-007	ลำไส้เล็ก	95	1 (+)	Chloramphenicol, Kanamycin, Neomycin, Erythromycin, 0.1% Amoxicilin, 0.1% Colistin sulphate	Xylanase, Hemicellulase (+++)
Pediococcus pentosaceus	มูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น	37	1 (+++)	Tetracycline, Chloramphenicol, Kanamycin, Neomycin, Erythromycin, 10% Enrofloxacin, 0.1% Amoxicilin, 0.1% Colistin sulphate	Cellulase, Xylanase, Hemicellulase (+)

หมายเหตุ: + คือ น้อยที่สุด

+++ คือ มากที่สุด

ประสิทธิภาพการตรึงเซลล์

1. ลักษณะแคปซูลของเซลล์ตรึง

ผลจากการตรึงเซลล์โปรไบโอติกแบคทีเรีย *Pediococcus pentosaceus* ด้วยโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (ตาราง 6) คือ

1.1 Milk protein hydrolysate (MPH) เป็นวัสดุอย่างเดียวในการการตรึงเซลล์ ได้ลักษณะผนังของไมโครแคปซูลที่บางและเปราะเนื่องจากโปรตีนนมมีคุณสมบัติในการเกิดเจลได้ดี (Heidebach, Försb and Kulozik, 2009) รวมทั้งสังเกตได้จากการนำเซลล์ตรึงไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดกับกล้องถ่ายรูปอัตโนมัติ เห็นการเคลื่อนที่ของเซลล์แบคทีเรียค่อนข้างเร็วและเห็นตัวเซลล์เคลื่อนที่ได้ชัดเจน ใช้เวลาบดด้วยโกร่ง นาน 2 นาที ผนังแคปซูลจึงแตกหมด

1.2 MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum (1:1) เป็นวัสดุในการตรึงเซลล์ ได้ลักษณะผนังของไมโครแคปซูลที่หนาแต่ค่อนข้างเปราะ เนื่องจากแซนแทนกัมมีความหนืดสูง (Long, et al., 2013) และสังเกตได้จากการเคลื่อนที่โดยรวมของเซลล์แบคทีเรียค่อนข้างช้าและมองเห็นตัวเซลล์ไม่ชัดเจน ใช้เวลาบดด้วยโกร่ง นาน 2 นาที ผนังแคปซูลจึงแตกหมด

แต่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ *P. pentosaceus* ภายหลังการตรึงเซลล์มากที่สุด (99%) แตกต่างจากกลุ่มการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากแซนแทนกัมมีคุณสมบัติการทนความร้อน (Long, et al., 2013) จากกระบวนการตรึงเซลล์ได้ดี ($70^{\circ}C$ นาน 20 นาที)

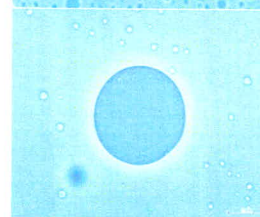
1.3 MPH + 0.25% (w/v) gellan gum (1:1) ในการตรึงเซลล์ได้ลักษณะผนังของไมโครแคปซูลที่บางใสมากแต่ค่อนข้างเหนียว เนื่องจากเจลแลนกัมมีคุณสมบัติในการเกิดเจลได้ดีแม้ใช้เพียงเล็กน้อย รวมทั้งเป็นไฮโดรคอนลอยด์ประจุลบที่สามารถละลายน้ำแล้วเกิดเป็นไฮโดรเจล (Kirchmajer, et al., 2014) และสังเกตได้จากการเคลื่อนที่โดยรวมของเซลล์แบคทีเรียที่เร็วมากและมองเห็นตัวเซลล์ได้ชัดเจน ใช้เวลาบดด้วยโกร่ง นาน 4 นาที ผนังแคปซูลจึงแตกหมด

1.4 MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) ในการตรึงเซลล์ได้ลักษณะผนังของไมโครแคปซูลที่ไม่บางหรือหนาเกินไป สังเกตได้จากการเคลื่อนที่โดยรวมของเซลล์แบคทีเรียรวมทั้งการมองเห็นตัวเซลล์แบคทีเรียไม่ค่อยชัดเจนมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ MPH + 0.25% (w/v) gellan gum (1:1) และต้องใช้เวลาบดด้วยโกร่ง นาน 2 นาที ผนังแคปซูลจึงแตกหมด

และจากการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดกับกล้องถ่ายรูปอัตโนมัติ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากทุกกลุ่มการทดลองใช้กระบวนการเดียวกันในการผลิต

เซลล์ตรึง คือการทำอิมัลชันน้ำในน้ำมันพืช ที่อุณหภูมิ 70°C ความเร็วในการปั่นกวน 1400 รอบต่อนาที นาน 20 นาที และตั้งสารแขวนลอยของเซลล์ตรึงทิ้งไว้ 10 นาที แล้วจึงนำสารแขวนลอยของเซลล์ตรึงที่อยู่ด้านบนไปวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไมโครแคปซูล แต่ลักษณะทางกายภาพของผนังไมโครแคปซูลที่ได้นั้นแตกต่างกันตามชนิดและอัตราส่วนของโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ที่ใช้ในการตรึงเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ภายหลังการตรึงเซลล์ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองอยู่ในระดับสูงคือ ประมาณ 95-99% ดังตาราง 20

ตาราง 20 ลักษณะของไมโครแคปซูลและประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์

กลุ่มการทดลอง	ผนังไมโครแคปซูล	เส้นผ่าศูนย์กลาง (μm)	รูปร่างไมโครแคปซูล	การรอดชีวิต (%)
Milk protein hydrolysate (MPH)	ค่อนข้างหนา ขรุขระ และเปราะ	66.6±11.5[a]		96.0±1.5[a]
MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum (1:1)	หนาขรุขระและค่อนข้างเปราะ	54.3±8.6[a]		99.0±1.3[b]
MPH + 0.25% (w/v) gellan gum (1:1)	บาง เรียบและค่อนข้างเหนียว	51.7±12.3[a]		96.3±0.7[a]
MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5)	หนา ค่อนข้างเรียบ และค่อนข้างเหนียว	54.8±18.0[a]		95.7±1.7[a]

หมายเหตุ: a, b ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

2. การรอดชีวิตภายหลังการทำผนังไมโครแคปซูลแตก

จากการทดสอบประสิทธิภาพผนังเซลล์ตรึง *P. pentosaceus* ที่ถูกตรึงด้วยโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ในอัตราส่วนที่ต่างกันโดยการหาวิธีการทำให้ผนังไมโครแคปซูลแตกหมด 100% ที่ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด แต่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด เพื่อนำวิธีการที่ได้ไปใช้ในการหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่อไป พบว่าวิธีการบดด้วยโกร่งให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง (88.1-94.1%) และใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด (2-4 นาที) ดังตาราง 21 ดังนั้นจึงเลือกวิธีนี้ในการทำผนังไมโครแคปซูลให้แตกก่อนการนับเซลล์เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ตาราง 21 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตภายหลังวิธีการทำให้ผนังไมโครแคปซูลแตก

โปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์	บดด้วยโกร่ง		เขย่าด้วย vortex		Sonicate	
	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)
Milk Protein Hydrolysate (MPH)	2	90.2±0.7	6	87.2±1.7	6	71.4±2.0
MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum (1:1)	2	88.1±1.6	6	94.4±1.1	6	74.8±0.6
MPH + 0.25% (w/v) gellan gum (1:1)	4	90.5±1.8	6	96.1±0.7	6	75.8±0.4
MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5)	2	94.1±0.4	6	95.3±0.7	8	67.9±3.0

3. การรอดชีวิตภายหลังการตรึงเซลล์ด้วยพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ

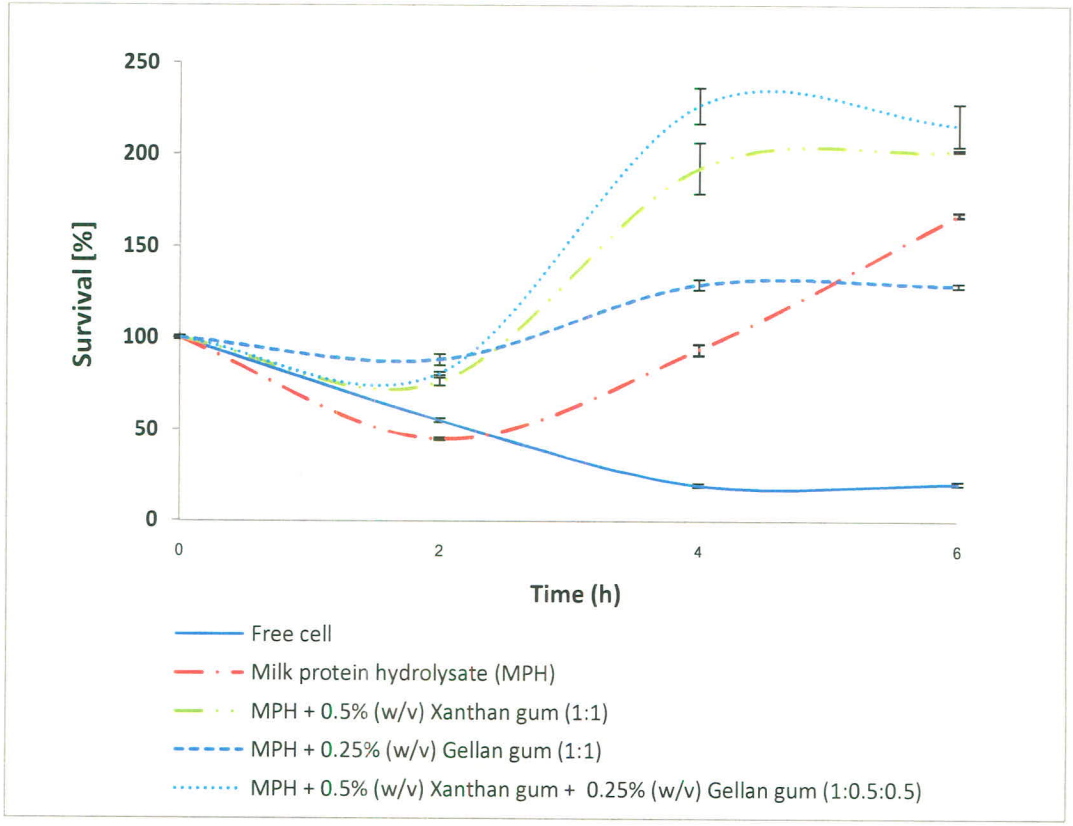
จากการทดสอบเซลล์ตรึงแบคทีเรียโปรไบโอติก *P. pentosaceus* ที่ถูกตรึงด้วยโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ในอัตราส่วนที่ต่างกัน (ตาราง 20) ในระบบน้ำย่อยจำลองของสุกร (*in vitro* model) พบว่าในช่วง 2 ชั่วโมงแรกของการทดลองซึ่งอยู่ในสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated gastric juice; SGJ, pH 2.0) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงค่อยๆ ลดลง (ตาราง 22) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Heidebach, Försb and Kulozik (2009) ที่พบว่าการมีชีวิตรอดของเซลล์ตรึง *Lactobacillus paracaseis* sp. Paracasei F19 และ *Bifidobacterium lactis* Bb12 สูงกว่าเซลล์อิสระในน้ำย่อยกระเพาะอาหาร ที่ pH 2.5 นาน 90 นาที โดยกลุ่มของเซลล์ตรึงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตตามลักษณะของผนังไมโครแคปซูลคือ กลุ่มของเซลล์ตรึง Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.25% (w/v) gellan gum (1:1) มีการรอดชีวิตของเซลล์มากที่สุดเพราะลักษณะของผนังไมโครแคปซูลบางใสแต่มีความยืดหยุ่น (Bajaj, et al., 2007) และเนื่องจากคุณสมบัติของเจลแลนกัมที่ทนทานต่อกรดได้ดีในช่วงกว้าง (Moslemy, Neufeld and Guiot, 2002; Muthukumarasamy and Holley, 2006) ดังนั้นจึงสามารถรอดชีวิตจากระบบน้ำย่อยจำลองสุกรที่ pH 2.0 นาน 2 ชั่วโมง ได้มากที่สุด (88.3±3.0%) และในช่วงหลังจากชั่วโมงที่ 2 เป็นต้นไป ในสภาวะน้ำย่อยของลำไส้เล็ก (Simulated intestinal juice; SIJ ที่ใช้เกลือน้ำดีสดจากสุกร, pH 7.4) เซลล์อิสระ (free cell) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งในชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์จึงเริ่มค่อนข้างคงที่ แต่ก็ยังมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตที่ลดลงจากชั่วโมงที่ 2 อีกประมาณ 30% (ตาราง 22; Free cell) ในขณะที่เซลล์ตรึงทุกกลุ่มการทดลองกลับมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในลักษณะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นหลังจากชั่วโมงที่ 2 เป็นต้นไป จนกระทั่งชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 6 ในสภาวะน้ำย่อยในลำไส้เล็ก พบว่ากลุ่มของเซลล์ตรึงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่า 100% โดยเฉพาะกลุ่มเซลล์ที่ถูกตรึงด้วย MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) ที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดคือ 216.3±11.6% (ภาพ 18 และตาราง 22)

ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการตรึงเซลล์นี้ ในการตรึงเซลล์โปรไบโอติกแบคทีเรียที่ทดสอบคัดเลือกได้ เพื่อใช้เสริมลงในอาหารผงสุกรสูตรอนุบาลสำเร็จรูป

ตาราง 22 การรอดชีวิตของเซลล์ตรึงโปรไบโอติก *Pediococcus pentosaceus* ในระบบทางเดินอาหารจำลองของสุกร (*in vitro* model)

Treatment	Survival (%)			
	0 h	2 h	4 h	6 h
Free cell	100	55.3±1.9^{b}	19.6±0.3^{a}	20.7±0.6^{a}
Milk protein hydrolysate (MPH)	100	45.1±0.4^{a}	94.0±3.0^{b}	167.5±1.3^{c}
MPH + 0.5 % (w/v)xanthan gum (1:1)	100	76.2±2.1^{c}	192.6±13.9^{d}	202.1±0.5^{d}
MPH + 0.25 % (w/v) gellan gum (1:1)	100	88.3±3.0^{d}	129.3±3.0^{c}	128.9±1.2^{d}
MPH + 0.5 % (w/v) xanthan gum + 0.25 % (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5)	100	80.8±0.9^{c}	226.9±9.8^{e}	216.3±11.6^{d}

หมายเหตุ: a, b, c, d และ e ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความต่างกันทางสถิติ (p<0.01)



ภาพ 18 การรอดชีวิตของเซลล์โปรไบโอติก *Pediococcus pentosaceus* เปรียบเทียบเซลล์ตรึงและเซลล์อิสระในระบบทางเดินอาหารจำลองของสุกร (*In vitro* model)

4. การรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดต่าง ๆ ภายหลังการตรึงเซลล์

การตรึงเซลล์โปรไบโอติกแต่ละชนิดคือ *Bacillus licheniformis*, *B. subtllis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ด้วย Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% gellan gum (1:0.5:0.5) มาทดสอบการทนต่อน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารจำลองของสุกรเพื่อศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์ จากการทดลองพบว่าการตรึงเซลล์โปรไบโอติกช่วยเพิ่มการรอดชีวิตให้เซลล์โปรไบโอติกได้มากว่าเซลล์อิสระในสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (SGJ, pH 2.0) ในระยะเวลา 2 ชั่วโมงแรก โดยกลุ่มของเซลล์ตรึงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตค่อนข้างคงที่ (107-135%) และสูงกว่าเซลล์อิสระ (57-75%) เพราะผนังของไมโครแคปซูลสามารถทนทานต่อน้ำย่อยและสภาวะกรดในกระเพาะอาหารได้ (เหลือประมาณ 70% ดังตาราง 23) และเนื่องจากเซลล์โปรไบโอติกแบคทีเรียสามารถใช้ galacto-oligosaccharide ที่เป็นส่วนประกอบใน MPH ในการเจริญเติบโต (Martínez-Villaluenga, et al., 2008) ภายใต้สภาวะแวดล้อมภายในไมโครแคปซูล และเมื่อเซลล์อิสระเข้าสู่ภาวะน้ำย่อยในลำไส้เล็ก (SIJ, pH 7.4) คือในชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจึงค่อนข้างคงที่แต่ก็ยังมีจำนวนเซลล์ต่ำกว่ากลุ่มเซลล์ตรึงประมาณ 40-70% (ภาพ 19 และตาราง 24) เนื่องจากผนังไมโครแคปซูลของกลุ่มเซลล์ตรึงแตกมากขึ้นในสภาวะที่เหมาะสมของลำไส้เล็ก (pH 7.4) ดังนั้นปริมาณเซลล์โปรไบโอติกที่ถูกปล่อยออกมาแล้วสามารถมีชีวิตรอดและสามารถเข้าไปฝั่งตัวและเพิ่มปริมาณได้ในสภาวะลำไส้เล็ก จึงส่งผลให้กลุ่มเซลล์ตรึงมีปริมาณเซลล์โปรไบโอติกมากกว่ากลุ่มเซลล์อิสระ

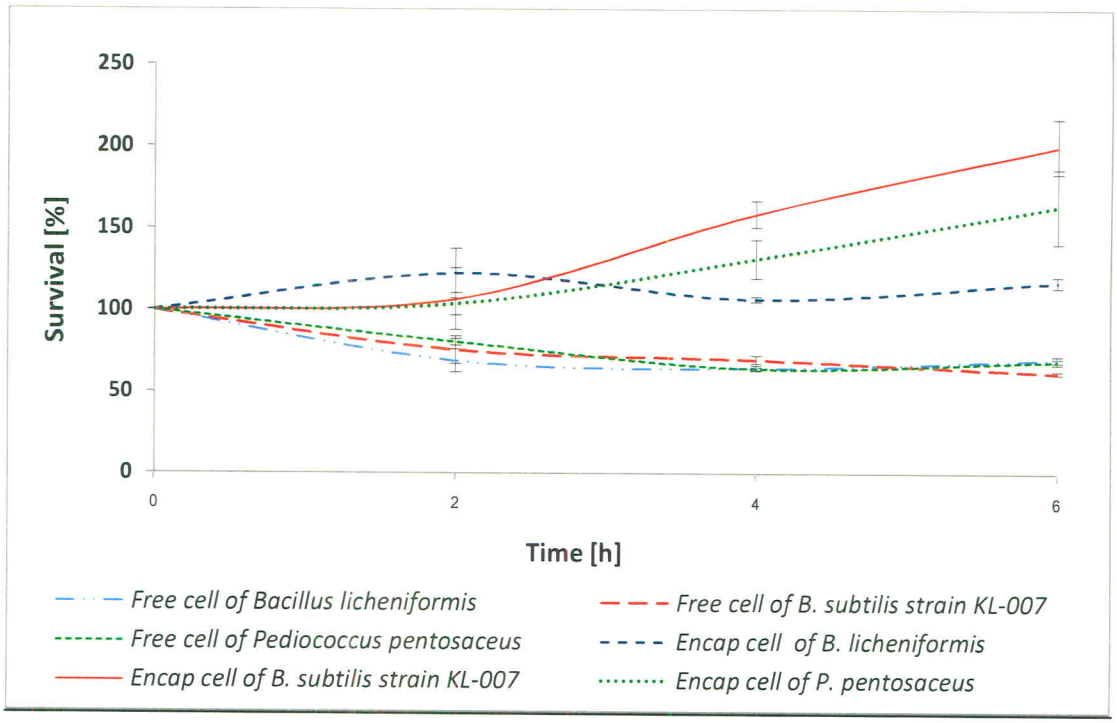
ตาราง 23 การรอดชีวิตของเซลล์ที่ถูกตรึงด้วย Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) **ในระบบย่อยอาหารจำลองของสุกร** (*in vitro* model)

เวลา (ชั่วโมง)	การรอดชีวิต (%)
0	100
2	70
4	20
6	0-10

ตาราง 24 การรอดชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกหลายชนิดที่ถูกตรึงด้วย MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) **ในระบบย่อยอาหารจำลองของสุกร** (*In vitro* model)

Treatment	Survival (%)			
	0 h	2 h	4 h	6 h
Free cell of *Bacillus licheniformis*	100	57.5±6.9^{a}	61.6±1.6^{a}	73.2±2.0^{a}
Free cell of *B. subtilis* strain KL-007	100	67.9±8.3^{a}	65.6±2.4^{a}	61.2±1.0^{a}
Free cell of *Pediococcus pentosaceus*	100	75.8±2.0^{ab}	62.9±0.7^{a}	64.7±1.8^{a}
Encap cell of *B. licheniformis*	100	135.3±15.2^{b}	112.1±1.7^{b}	123.7±3.3^{ab}
Encap cell of *B. subtilis* strain KL-007	100	114.7±18.6^{ab}	168.1±8.1^{c}	217.0±16.8^{c}
Encap cell of *P. pentosaceus*	100	107.4±6.7^{ab}	137.6±11.6^{bc}	171.3±23.0^{bc}

หมายเหตุ: a, b และ c ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความต่างกันทางสถิติ (p<0.01)



ภาพ 19 การรอดชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกหลายชนิดที่ถูกตรึงด้วย MPH + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) **ในระบบย่อยอาหารจำลองของสุกร** (*In vitro* model)

5. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรียโปรไบโอติก

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ โดยวิธีการวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ทุกๆ 4 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. pentosaceus* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดคือ 3.07 h^{-1} และใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เพียง 0.23 ชั่วโมง หรือประมาณ 14 นาที ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ในช่วง 0.33-0.61 h^{-1} และใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า อยู่ในช่วง 1.14-2.12 ชั่วโมง ดังตาราง 25

ตาราง 25 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและเวลาทวีคูณของแบคทีเรียโปรไบโอติก

แบคทีเรียโปรไบโอติก	อัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (h^{-1})	เวลาทวีคูณ (h)
Bacillus subtilis strain K21	0.33	2.12
B. licheniformis	0.60	1.16
B. subtilis strain KISR	0.35	1.96
B. subtilis strain KL-007	0.61	1.14
Pediococcus pentosaceus	3.07	0.23

การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรขนาดเล็ก

1. การรอดชีวิตของเซลล์ตรึงภายหลังการอัดเม็ดอาหาร

ผลการทดสอบผสมเซลล์โปรไบโอติกทั้ง 5 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ถูกตรึงด้วย Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5) ลงไปในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรขนาดเล็ก เพื่อนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารขนาดใหญ่ (กำลังการผลิต 800 กิโลกรัมต่อชั่วโมง) ที่สภาวะ 80°C นาน 30 วินาที แบบไม่คลุกไอน้ำ ได้เป็นอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกที่มีปริมาณเซลล์โปรไบโอติกเท่ากันกับในอาหารผงเสริมโปรไบโอติกคือ $3x10^6$ เซลล์/อาหารสัตว์ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง พบว่าภายหลังกระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์เซลล์ตรึงโปรไบโอติกมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตทั้งหมด 77.25% (ตาราง 26)

ตาราง 26 การรอดชีวิตของเซลล์ตรึงโปรไบโอติกทั้ง 5 ชนิด ภายหลังการอัดเม็ดอาหารด้วยเครื่องอัดอาหารขนาดใหญ่

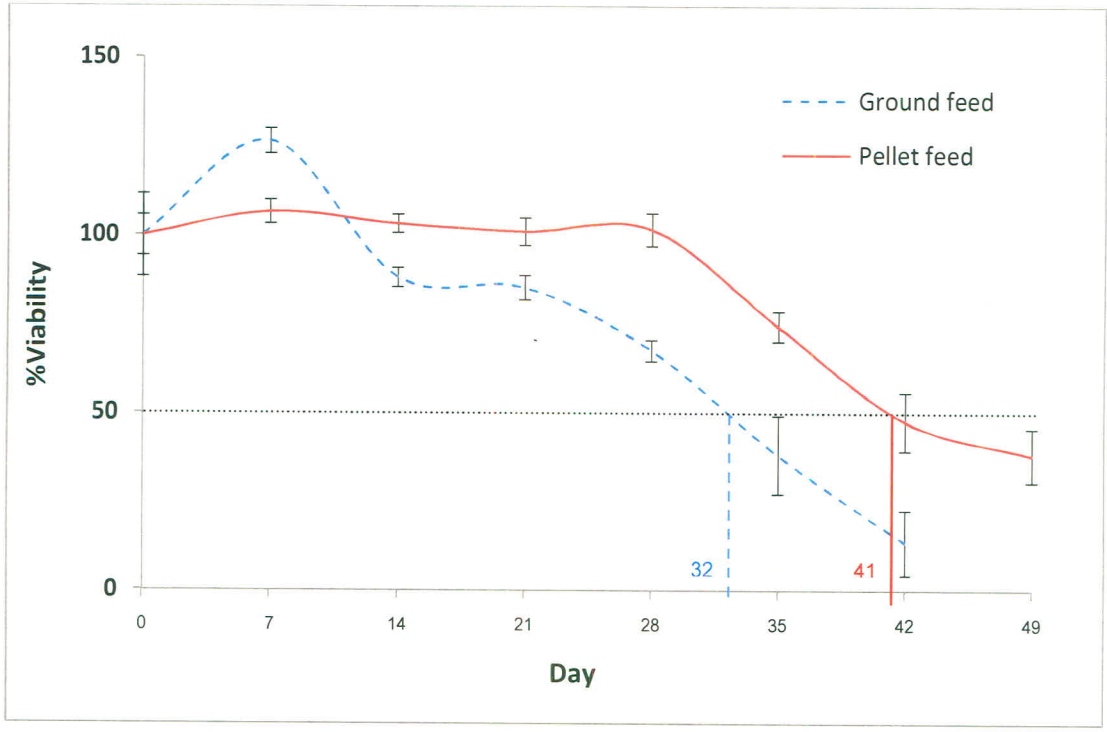
รูปแบบอาหารสัตว์	การรอดชีวิต (%)	ค่าครึ่งชีวิต (วัน)
อาหารผง	100±5.72	32
อาหารอัดเม็ด	77.25±4.22	41

2. การรอดชีวิตของเซลล์ตรึงภายหลังการเก็บรักษา

ผลจากการนับเซลล์ทุกสัปดาห์เพื่อหาครึ่งชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกที่มีอยู่ในอาหารทั้งรูปแบบผงและแบบอัดเม็ดที่ถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) (ตาราง 27) พบว่าค่าครึ่งชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกในอาหารอัดเม็ด (41 วัน) สูงกว่าในอาหารผงเสริมโปรไบโอติก (32 วัน) นาน 9 วัน เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่าอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกมีอายุการเก็บรักษานานกว่าอาหารผงเสริมโปรไบโอติก 21.95% (ตาราง 26 และภาพ 20)

ตาราง 27 อายุผลิตภัณฑ์เซลล์ตรึงแบคทีเรียโปรไบโอติกที่เติมลงในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรทั้งในรูปอาหารผงและอาหารอัดเม็ดภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-30°C

เวลา (วัน)	การมีชีวิต (%)	
	อาหารผง	อาหารอัดเม็ด
0	100±5.72	100±11.58
7	126.47±3.57	106.67±3.32
14	88.24±2.6	103.33±2.67
21	85.29±3.46	101.11±3.89
28	67.65±2.99	101.67±4.64
35	38.24±11.01	74.44±4.22
40	13.53±9.21	47.78±8.22
49	ไม่มีข้อมูล	38.22±7.54



ภาพ 20 อายุผลิตภัณฑ์เซลล์ตรึงแบคทีเรียโปรไบโอติกที่เติมลงในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรทั้งในรูปอาหารผงและอาหารอัดเม็ดภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-30°C

ประสิทธิภาพอาหารเสริมโปรไบโอติกในการเลี้ยงสุกรระยะหลังหย่านม

ประสิทธิภาพของอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ที่อยู่ในรูปเซลล์ที่ถูกตรึงด้วย Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum ในการเลี้ยงสุกรหลังหย่านมพันธุ์ลูกผสม (พันธุ์แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์ x ดูรอค) อายุ 25 วัน ในฟาร์มเกษตรกรแบบเปิดและโรงเรือนแบบเปิด จังหวัดสุโขทัย เฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 สัปดาห์ แสดงในตาราง 28 ดังนี้

1. **อัตราการเจริญเติบโต** (Average Daily Gain; ADG)

พบว่าทุกกลุ่มการทดลองให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของจำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ และกิตติพงษ์ ทิพยะ (2551) ที่พบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของสุกรหลังหย่านม (น้ำหนัก 8-30 กิโลกรัม) ที่ได้รับการเสริมด้วยโปรไบโอติก (0.1% *Bacillus* sp. และ 0.1%

Lactobacillus sp.) ไม่แตกต่างกับสุกรที่ได้รับการเสริมด้วยยาปฏิชีวนะ (0.4% chlortetracycline) คือ 0.495, 0.419 และ 0.502 กก./ตัว/วัน ตามลำดับ แต่กลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผงสุกรอนุบาลสูตรพื้นฐานที่ไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) มีแนวโน้มให้ค่าอัตราการเจริญเติบโต (0.291 กก./ตัว/วัน) ดีกว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (0.272 กก./ตัว/วัน) กลุ่มอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) (0.271 กก./ตัว/วัน) และกลุ่มอาหารผงเสริมโปรไบโอติก (0.266 กก./ตัว/วัน) ตามลำดับ

2. **อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก** (Feed conversion ratio; FCR)

พบว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) และกลุ่มอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (1.513 และ 1.518 ตามลำดับ) ดีกว่ากลุ่มอาหารผงไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) และกลุ่มอาหารผงเสริมโปรไบโอติกคือ 1.533 และ 1.805 ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของสุชน ตั้งทวีวิพัฒน์ และคณะ (2546) ที่พบว่าการเสริมเชื้อแลคโตบาซิลลัส $2x10^5$ และ $4x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ลงในน้ำดื่มสุกรหลังหย่านม (น้ำหนัก 7-18 กิโลกรัม) ให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม คือ 1.68, 1.64 และ 1.71 ตามลำดับ

3. **ประสิทธิภาพการใช้อาหาร** (Feed efficiency; FE)

จากผลการคำนวณ (ตาราง 28) บ่งชี้ว่ากลุ่มลูกสุกรที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (66.529%) มีแนวโน้มให้ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) อาหารผงสูตรพื้นฐานที่ไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) และอาหารผงเสริมโปรไบโอติกคือ 66.048%, 64.681% และ 55.530% ตามลำดับ ดังนั้นลักษณะทางกายภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงสุกรมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารโดยการใช้ลักษณะของอาหารอัดเม็ดมีแนวโน้มให้ลูกสุกรมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าการใช้ลักษณะอาหารผง สอดคล้องกับงานวิจัยของโกสินทร์ สุขมณี และคณะ (2549) ที่กล่าวว่าการเลี้ยงสุกรด้วยอาหารเม็ดทั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 และ 4 มิลลิเมตร ส่งผลให้สุกรมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าการเลี้ยงสุกรด้วยอาหารผง ($p<0.01$) และงานวิจัยของทิพย์พาพร สุวรรณวิหค (2549) ที่กล่าวว่าสุกรที่ได้รับอาหารอัดเม็ดมีปริมาณการกินอาหารต่อวันและประสิทธิภาพการใช้อาหาร รวมทั้งต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ดีกว่าสุกรที่ได้รับอาหารผง ($p<0.01$)

4. ค่าการย่อยได้ของโภชนะ (Digestibility)

4.1 การย่อยได้ของโปรตีน (digestibility of crude protein)

พบว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปแบบอาหารอัดเม็ด (87.29%) และอาหารผง (78.2%) มีแนวโน้มให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่ากลุ่มควบคุม คือ อาหารผงไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) และกลุ่มอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) คือ 67.83% และ 74.07% ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Giang, et al. (2010) ที่พบว่าการเสริมกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (*Enterococcus faecium* 6H2, *Lactobacillus acidophilus* C3 and *Pediococcus pentosaceus* D7) ลงในอาหารส่งผลให้สุกรมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนดีกว่ากลุ่มควบคุม (0.71 และ 0.67 ตามลำดับ) และกลุ่มลูกสุกรที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารผงไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) มีค่าการย่อยได้ของโปรตีนน้อยกว่าอาหารเสริมโปรไบโอติกและอาหารผสมยาปฏิชีวนะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ahmed, et al. (2013) ที่พบว่าการเสริมโปรไบโอติกแบบเชื้อเดี่ยว (0.5% *Lactobacillus* และ 0.04% *Bacillus*) รวมทั้งการเสริมยาปฏิชีวนะ (0.002% apramycin) ลงในอาหารสุกรให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่ากลุ่มควบคุม (71.7%, 69.9%, 77.1% และ 65.2% ตามลำดับ)

4.2 การย่อยได้ของไขมัน (digestibility of crude fat)

พบว่ากลุ่มลูกสุกรที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) มีแนวโน้มให้ค่าการย่อยได้ของไขมัน (85.30%) ดีกว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (75.324%) กลุ่มอาหารผงเสริมโปรไบโอติก (69.757%) และกลุ่มอาหารผงไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มกลุ่มควบคุม 1) (64.453%) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ahmed, et al. (2013) ที่พบว่าการเสริมยาปฏิชีวนะ (0.002% apramycin) ลงในอาหารสุกรให้ค่าการย่อยได้ของไขมัน (78.4%) ต่างกับกลุ่มควบคุม (66.3%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ให้ผลไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เสริมด้วย 0.5% *Lactobacillus* (76.9%) และ 0.04% *Bacillus* (78.6%)

4.3 การย่อยได้ของเยื่อใย (digestibility of crude fiber)

สูตรอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก อาหารผงเสริมโปรไบโอติก อาหารผงไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) และอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) มีค่าเท่ากับ 80.564%, 75.189%, 78.957% และ 64.978% ตามลำดับ ซึ่งพบว่ากลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มให้ค่าการย่อยได้ของเยื่อใยสูงกว่ากลุ่มควบคุม 1 และกลุ่มควบคุม 2 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Giang, et al. (2010) ที่กล่าวว่าการเสริมด้วยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกชนิดรวม (*Enterococcus faecium* 6H2, *Lactobacillus*

acidophilus C3 and *Pediococcus pentosaceus* D7) ช่วยเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของเยื่อใยได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมโปรไบโอติก (0.43 และ 0.36 ตามลำดับ)

ตาราง 28 ประสิทธิภาพการเลี้ยงสุกรด้วยสารเสริมโปรไบโอติกในอาหารพื้นฐาน

สมรรถภาพการผลิต	อาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก (คอกที่1)	อาหารผงเสริมโปรไบโอติก (คอกที่ 2)	อาหารผงกลุ่มควบคุม (คอกที่ 3)	อาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (คอกที่ 4)
จำนวนลูกสุกรทดลอง (ตัว)	21	21	21	21
จำนวนวันที่ทดลอง (วัน)	42	42	42	42
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากการทดลอง (กก.)	11.160	10.880	11.850	11.670
อัตราการเจริญเติบโต (กก./ตัว/วัน)	0.272±0.02	0.266±0.02	0.291±0.01	0.271±0.01
*ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน (กก.)	0.413	0.480	0.446	0.410
*อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก	1.518±0.18	1.805±0.17	1.533±0.07	1.513±0.09
*ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (%)	66.529±5.06	55.530±4.27	64.681±2.84	66.048±3.60
*ค่าการย่อยได้ของโภชนะ				
โปรตีน (%)	87.298±1.35	78.286±0.96	67.829±0.56	74.070±10.27
ไขมัน (%)	75.324±0.21	69.757±9.48	64.453±0.18	85.298±1.39
เยื่อใย (%)	80.564±0.53	75.189±4.37	78.957±0.85	64.978±11.53

หมายเหตุ: น้ำหนักสุกรเริ่มต้นการทดลองทั้งหมด เฉลี่ย 6.55±1.411 กิโลกรัม
น้ำหนักสุกรสิ้นสุดการทดลองทั้งหมด เฉลี่ย 17.943±1.16 กิโลกรัม
* ไม่สามารถวิเคราะห์ค่าทางสถิติได้ เนื่องจากเป็นค่าเฉลี่ยของสุกรที่เลี้ยงรวมเป็นคอก