บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

1. การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ และมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นของสุกรสุขภาพดีด้วยอาหารสูตรจำเพาะ MRS (Hi-Media, India) ที่ผสม bromocresal perple ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 93 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติกที่ดี คือ การทนอุณหภูมิสูง (80-95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง) การทนต่อสภาวะกรดต่ำ (pH 1-4 นาน 3-5 ชั่วโมง) การทนต่อยาปฏิชีวนะ คือ Tetracycline, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, Chloramphenicol, 10% Enrofloxacin, 0.1% Amoxicilin และ 0.1% Colistin sulphate รวมทั้งความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non starch polysaccharide; NSP) คือ เซลลูเลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส ตามลำดับ สรุปได้ว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ดีที่สุดได้ทั้งหมด 5 ไอโซเลท ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด ผลจากการจัดจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีการหาลำดับของยีนส่วน 16s rRNA ความยาวประมาณ 1.3 kb โดยบริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี พบว่าคือสายพันธุ์ดังต่อไปนี้

1.1 *Bacillus subtilis* strain K21 คัดแยกได้จากลำไส้ใหญ่ของสุกร

1.2 *B. licheniformis* คัดแยกได้จากลำไส้ใหญ่ของสุกร

1.3 *B. subtilis* strain KISR คัดแยกได้จากลำไส้เล็กของสุกร

1.4 *B. subtilis* strain KL-007 คัดแยกได้จากลำไส้เล็กของสุกร

1.5 *Pediococcus pentosaceus* คัดแยกได้จากมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นของสุกร

2. ชนิดและอัตราส่วนของโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ที่ใช้เป็นวัสดุตรึงเซลล์ ด้วยวิธีการไมโครเอ็นแคปซูเลชัน แบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันพืช (อุณหภูมิ 70°C นาน 20 นาที) มีผลต่อลักษณะเชิงกลของผนังเซลล์ตรึงคือ เหนียว บาง หนา เปราะ และส่งผลถึงการรอดชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกในระบบน้ำย่อยอาหารจำลองของสุกร (*in vitro* model) โดยชนิดและอัตราส่วนของโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการรอดชีวิตให้เซลล์โปรไบโอติกในในระบบน้ำย่อยอาหารจำลองของสุกรได้ดีที่สุดและเป็นวัสดุตรึงเซลล์ที่เลือกใช้คือ Milk protein hydrolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum (1:0.5:0.5)

(มีการรอดชีวิตภายหลังการตรึงเซลล์ 95.7±1.7%) เนื่องจากมีการรอดชีวิตในสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (0.03% (w/v) pepsin, pH 2.0 นาน 2 ชั่วโมง) 80.8% และมีการรอดชีวิตในสภาวะน้ำย่อยในลำไส้เล็ก (0.1% (w/v) pancreatin + 0.45% (w/v) bile extract นาน 4 ชั่วโมง) สูงสุด 216.3%

3. เซลล์ตรึงโปรไบโอติก 5 ชนิดคือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรขนาดเล็กพบการรอดชีวิตภายหลังกระบวนการอัดเม็ดอาหารในระดับอุตสาหกรรม (80°C นาน 30 วินาที) 77.25% และอายุผลิตภัณฑ์อาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกมีระยะเวลาครึ่งชีวิต (half-life) นานกว่าอาหารผงเสริมโปรไบโอติก 21.95%

4. ประสิทธิภาพการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกในรูปเซลล์ตรึงทั้ง 5 สายพันธุ์ ในอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรขนาดเล็ก มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับอาหารที่เสริมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) เนื่องจากให้ค่าอัตราการเจริญเติบโต 0.272 และ 0.271 (กก./ตัว/วัน) ตามลำดับ และให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก 1.518 และ 1.513 ตามลำดับ ใกล้เคียงกัน แต่กลุ่มลูกสุกรหลังหย่านมที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนและเยื่อใยดีกว่ากลุ่มสุกรหลังหย่านมที่ได้รับอาหารพื้นฐานที่ไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 1) รวมทั้งกลุ่มสุกรหลังหย่านมที่ได้รับอาหารพื้นฐานแบบผงเสริมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม 2) ดังนั้นสรุปได้ว่าโปรไบโอติกมีผลต่อค่าการย่อยได้ของโปรตีน และเยื่อใยในอาหารสุกร และการให้อาหารพื้นฐานผสมโปรไบโอติกในลักษณะอัดเม็ดอาหารสามารถใช้เลี้ยงสุกรหลังหย่านมจนส่งผลให้สุกรมีประสิทธิภาพการใช้อาหารมากกว่าการให้อาหารผงเสริมโปรไบโอติก

อภิปรายผลการวิจัย

1. จากผลการคัดแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากลำไส้สุกรทั้ง 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่และมูลในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น พบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ส่วนมากเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ หรือรา และจากผลการจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยวิธีการหาลำดับของยีนส่วน 16s rRNA พบว่ากลุ่มของแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Bacillus* sp. ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอาหารสูตรจำเพาะ MRS (Himedia, India) ที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกตั้งแต่เริ่มต้นการวิจัยไม่มีความจำเพาะมากพอสำหรับการคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเมื่อเทียบกับอาหารสูตรจำเพาะ MRS (Merck, Germany) เนื่องจากสารประกอบบางชนิดในอาหารสูตร MRS ของทั้ง 2 ยี่ห้อต่างกัน (ภาคผนวก ค ข้อ 1-2)

และค่า pH สุทธิของอาหารสูตร MRS ของทั้ง 2 ยี่ห้อไม่เท่ากันจากบนฉลากแสดงส่วนประกอบอาหารจะเห็นว่า MRS (Hi media, India) มีค่า pH สุทธิ คือ 6.5±0.2 ที่อุณหภูมิ 25°C ส่วนอาหารสูตร MRS (Merck, Germany) มีค่า pH สุทธิ คือ 5.7±0.2 ที่อุณหภูมิ 25°C ดังนั้นการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากลำไส้สุกรด้วยอาหารสูตรจำเพาะ MRS (Himedia, India) จึงสามารถพบกลุ่มของ *Bacillus* sp. รวมทั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ใช่แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกแต่สามารถใช้แหล่งอาหารเช่น 20 g/l dextrose ที่มีในสูตร MRS (Himedia, India) และ pH 6.5 อุณหภูมิ 37°C ในการเจริญเติบโตบนหน้าอาหารแข็ง MRS ได้

เพื่อให้เกิดความจำเพาะสำหรับการคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกมากขึ้นจึงต้องเติมสารอินดิเคเตอร์ลงไปในอาหาร MRS คือ โบรโมครีซอลเพอร์พอลเพื่อเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับคัดเลือกโคโลนีแบคทีเรียผลิตกรดที่สามารถรีดิวซ์สีม่วงของโบรโมครีซอลเพอร์พอลในอาหาร MRS ได้เป็นโคโลนีสีเหลือง

แต่ผลการวิจัยก็พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้อยู่ในสกุล *Bacillus* sp. ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Bacillus* sp. ที่พบ เช่น *B. coagulant, B. licheniformis* และ *B. subtilus* สามารถผลิตกรดแลคติกได้ในระดับหนึ่งโคโลนีจึงเป็นสีเหลือง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang, et al. (2011) ที่พบว่า *B. licheniformis* ที่คัดแยกได้จากพื้นดินในประเทศจีนสามารถผลิต L-lactic acid บริสุทธิ์ได้เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 50°C นาน 48 ชั่วโมง ในสูตรอาหาร luria–bertani broth (LB) (7.8 g/h l) และเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 50°C นาน 96 ชั่วโมง ในสูตรอาหาร mineral salts (MS) (0.7 g/h l) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakai and Yamanami (2006) ที่พบว่า *B. licheniformis* TY7 ที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูง 80°C นาน 20 นาที สามารถผลิต L-lactic acid ได้ 40 g/l หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร model kitchen refuse (MKR) ที่อุณหภูมิ 50°C นาน 24 ชั่วโมง แต่ *Bacillus* sp. ไม่ใช่แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เนื่องจากไม่มีคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกคือไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์ catalase เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของกลูโคสไม่จำกัด แต่มีปัจจัยการเจริญเติบโต เช่น วิตามิน และกรดอะมิโน รวมทั้งมี O_2 จำกัด หมักกลูโคสได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดแลคติก และมีค่า G+C content ต่ำกว่า 55 mol% (König and Fröhlich, 2009) ซึ่ง mol% GC content ของ DNA เป็นส่วนที่สามารถอธิบายได้ถึงชนิดสายพันธุ์ (Stackedrandt, et al., 2002) เช่น *Pediococcus pentosaceus* strain NI1386 ที่เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก มีค่า GC content เท่ากับ 51% ส่วน *Bacillus subtilis* strain KISR-1 มีค่า GC content เท่ากับ 55%, *B. licheniformis* ATCC14580(T) มีค่า GC content เท่ากับ 55.7% เป็นต้น

2. จากผลการทดสอบคัดเลือกเพื่อให้ได้สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกดีที่สุดโดยทดสอบคุณสมบัติการทนอุณหภูมิสูง (80°C, 85°C, 90°C, 95°C นาน 1-1.5 ชั่วโมง) เป็นอันดับแรกผลการวิจัยพบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกจากคุณสมบัติข้อนี้อยู่ในกลุ่ม *Bacillus* sp. ทั้งหมด (5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B.subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *B. tigulensis*) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียตระกูล *Bacillus* มีคุณสมบัติในการทนอุณหภูมิสูงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Panda, Sahu and Tayung (2013) ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำพุร้อน (Tarabalo ประเทศอินเดีย) คือ *Bacillus* sp. และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakai and Yamanami (2006) ที่พบว่า *B. licheniformis* TY7 ที่คัดแยกได้จากสิ่งแวดล้อม (Advantech, Tokyo) บนอาหารแข็งสูตร glucose-yeastextract-peptone (GYP) ระดับ pH 6.8 สามารถทนอุณหภูมิสูง 80°C นาน 20 นาที ได้

จากการทดสอบคุณสมบัติการทนต่อสภาวะกรด (pH 1, 2, 3, 4 นาน 3-5 ชั่วโมง) เพื่อให้ได้แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติทนความเป็นกรดในกระเพาะอาหารคือ pH 1-2.5 ประมาณ 80.5 นาที (Cook, et al., 2012) ดังนั้นจึงเลือกแบคทีเรียที่มีรูปร่างเซลล์ลักษณะกลมคู่ แกรมบวกที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีและสามารถรีดิวซ์สีม่วงของ bromocresal perple (Ajax, Australia) ในอาหารแข็ง MRS (Merck, Germany) ได้เป็นโคโลนีแบคทีเรียสีเหลืองแบคทีเรียไอโซเลทนี้ (LAB 20-2) อาจเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่สามารถทนกรดได้ดี และจากผลการระบุสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยวิธีการหาลำดับของยีนส่วน 16s พบว่าคือ *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกลุ่ม facultatively heterofermentative ที่สามารถสามารถผลิต DL, L-lacticacid ได้ (König and Fröhlich, 2009) และยังสามารถย่อยสลายน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม เช่น deoxyribose ได้เล็กน้อย แต่มีข้อด้อยคือไม่ทนอุณหภูมิสูงถึง 80°C สอดคล้องกับ Papagianni and Anastasiadou (2009) ที่กล่าวว่า *P. pentosaceus* ไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 50°C

แต่เนื่องจากเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก ดังนั้นจึงนำ *P. pentosaceus* เข้าร่วมทดสอบการทนกรดด้วย ฉะนั้นการทดสอบคุณสมบัติข้อนี้จึงมีแบคทีเรียทั้งหมด 6 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007, *B. tigulensis* และ *P. pentosaceus* ผลการวิจัยพบว่าทั้ง 6 สายพันธุ์นี้สามารถทนต่อสภาวะกรด pH 1-4 นาน 3-5 ชั่วโมงได้ โดยเฉพาะ *P. pentosaceus* ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด สอดคล้องกับ Panward, et al. (2012) ที่พบว่า *P. pentosaceus* KUNN19-2 จากแหนมไทย

สามารถทนกรดต่ำ pH 1.5 นาน 2 ชั่วโมง ในสภาวะกระเพาะอาหารได้ (40.51%) และสอดคล้องกับ Jonganurakkun, et al. (2008) ที่พบว่า *P. pentosaceus* NB-17 จากแตงกวาดอง (ประเทศญี่ปุ่น) สามารถทนกรด pH 2.5 และ 3.0 ภายในกระเพาะอาหาร นาน 3 ชั่วโมง ได้

เนื่องจากในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์อาจจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะร่วมด้วยบ้างในระหว่างการเลี้ยงสัตว์เพื่อป้องกันและรักษาโรคในสภาวะที่เกิดความรุนแรงหรือการระบาดของโรคในสัตว์รวมทั้งเพื่อให้สัตว์มีการเจริญเติบโตเป็นไปตามความต้องการของตลาด ดังนั้นแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบการทนกรดต่ำและหรือการทนอุณหภูมิสูงข้างต้น คือ *B. subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007, *B. tigulensis* และ *P. pentosaceus* จึงต้องนำมาทดสอบคุณสมบัติการทนทานยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงสุกรเพื่อให้ได้แบคทีเรียที่สามารถเข้าไปฝั่งตัวในผนังลำไส้เล็กและทำหน้าที่ต่อไปได้ในลำไส้ของสุกรในช่วงที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ ผลการวิจัยพบว่ามีเพียง *B. tigulensis* เท่านั้น ที่ไม่สามารถทนทานยาปฏิชีวนะได้เลย แต่เชื้อแบคทีเรียที่เหลือ 5 สายพันธุ์ (*B. subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *P. pentosaceus*) มีความสามารถในการทนทานยาปฏิชีวนะได้ในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะ *P. pentosaceus* ที่มีความสามารถทนทานยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบได้ทั้งหมด (15 µg Erythromycin, 30 µg Tetracycline, 30 µg Chloramphenicol, 30 µg Kanamycin, 30 µg Neomycin, 10% Enrofloxacin, 0.1% Amoxicilin และ 0.1% Colistin sulphate) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกที่คัดเลือกได้เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้สุกรที่มีความสามารถต้านทานยาปฏิชีวนะโดยธรรมชาติกับชนิดยาที่มีการใช้งานกับสุกรเป็นประจำ

แต่ลักษณะการต้านทานยาปฏิชีวนะของ *Bacillus subtilis* และ *B. licheniformis* และส่วนใหญ่ไม่สามารถถ่ายทอดแบบ conjugate ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของเวชสิริ วรรณประสาน (2550) ที่พบว่า Bacillus ที่คัดแยกได้จากสารเสริมชีวนะสำหรับสัตว์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ไม่พบการถ่ายทอดยีนการดื้อยา terracycline, vancomycin, streptomycin และ erythromycin นอกจากนี้งานวิจัยของ Sorokulova, et al. (2008) ยังกล่าวว่าแบคทีเรีย *B. subtilis*และ *B. licheniformis* สามารถใช้เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกสำหรับคนได้เพราะไม่มียีนสำหรับสร้างสารพิษ และงานวิจัยของ Uymaz, et al. (2009) กล่าวว่า *P. pentosaceus* BH105 ที่คัดแยกได้จากมูลของคนสุขภาพดีก็มีความปลอดภัยสำหรับคนและสัตว์เพราะไม่สามารถย่อยเม็ดเลือดแดงได้และสามารถต้านทานยาปฏิชีวนะ methicillin, cefazolin, ceftazidim, erythromycin, azitromycin และ sulfadiazine โดยธรรมชาติ

เนื่องจากวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์มักมีส่วนประกอบที่เป็นเส้นใย เช่น เซลลูโลส และมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักในเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นจึงต้องทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non starch polysaccharide; NSP) คือ เซลลูเลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส เพื่อให้ได้แบคทีเรียโปรไบโอติกที่สามารถย่อยสารอาหารที่มีส่วนผสมของเส้นใยในวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้

ผลการวิจัยพบว่าแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อย NSP ได้แตกต่างกัน คือ *B. subtilis* strain K21 สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเฮมิเซลลูโลสได้มากที่สุด *B. subtilis* strain KISR และ *B. subtilis* strain KL-007 สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยไซแลน และเฮมิเซลลูโลสได้มากที่สุด และสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสได้เล็กน้อยทั้งนี้เพราะว่าโดยส่วนใหญ่แล้ว *Bacillus* sp. ไม่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้หรือผลิตได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (สิรินันท์ ชมพูแสง, 2555) เชื้อ *B. licheniformis* สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส ไซแลน และเฮมิเซลลูโลสได้ในระดับปานกลาง และ *P. pentosaceus* สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส ไซแลน และเฮมิเซลลูโลสได้ในระดับน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะอุณหภูมิ 37°C และ pH 7.0 รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบการผลิตเอนไซม์ นาน 24 ชั่วโมง ที่ใช้ในการทดสอบนั้นไม่ใช่สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อแบคทีเรียในการผลิตเอนไซม์ย่อย NSP สอดคล้องกับ Bai, et al. (2012) ที่พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ *B. subtilis* คือ pH 7.0 อุณหภูมิ 30°C นาน 72 ชั่วโมง และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Annamalai, et al. (2012) ที่รายงานว่าสภาวะอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสำหรับ *B. licheniformis* AU01 คือ อุณหภูมิ 50°C, pH 9 นาน 24 ชั่วโมง และค่าแอคติวิตีของเซลูเลสมากกว่า 80% ที่สภาวะอุณหภูมิ 80°C, pH 12 นาน 24 ชั่วโมง

ภายหลังการคัดเลือกคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก พบว่าสามารถคัดเลือกแบคทีเรียโปรไบโอติกดีที่สุดสำหรับผลิตเป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงสุกรได้ 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis, B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* โดยแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเด่นแตกต่างกันไป ดังนั้นในการนำไปใช้จึงควรใช้ทั้ง 5 สายพันธุ์ พร้อมกันเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพครอบคลุมมากกว่าการใช้เพียงสายพันธุ์เดียว และควรทำให้อยู่ในรูปเซลล์ตรึงก่อนเพื่อเพิ่มการรอดชีวิตให้กับเซลล์แบคทีเรีย

โปรไบโอติกในสภาวะน้ำย่อยอาหารของสุกรและในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์เสริมโปรไบโอติกในรูปแบบอัดเม็ด

3. จากผลการตรึงเซลล์ด้วยองค์ประกอบของโปรตีน-พอลิแซ็กคาไรด์คอมเพล็กซ์ คือ Milk protein hydeolysate (MPH) + 0.5% (w/v) xanthan gum + 0.25% (w/v) gellan gum โดยวิธีการตรึงเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชันน้ำในน้ำมันพืชพบว่าสามารถเพิ่มการรอดชีวิตให้เซลล์โปรไบโอติกในระบบน้ำย่อยจำลองของสุกรได้ เห็นได้ชัดจากผลการทดสอบเซลล์ตรึงในน้ำย่อยกระเพาะอาหาร (pepsin ใน 0.2% (w/v) NaCl, pH 2.0) ทั้งนี้เนื่องจากที่สภาวะ pH 2.0 ในกระเพาะอาหารไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของเซลล์อิสระถึงแม้ว่าผลการทดสอบของแบคทีเรียโปรไบโอติกจะสามารถทนกรดต่ำ (pH 1-4 นาน 3-5 ชั่วโมง) ได้ก็ตามแต่น้ำย่อยในกระเพาะยังมีเอนไซม์ pepsin ด้วยจึงอาจส่งผลให้เซลล์ที่อ่อนแอตายไปบางส่วนสอดคล้องกับงานวิจัยของ Panward, et al. (2012) ที่พบว่า *P. pentosaceus* KUNNE6-1 มีการรอดชีวิตในระบบน้ำย่อยในกระเพาะอาหารที่ประกอบด้วย 0.3 M NaCl และ 0.3% pepsin, pH 1.5 ต่ำกว่าในระบบน้ำย่อยในกระเพาะอาหารที่ไม่มีเอนไซม์ pepsin คือ 40.51% และ 60.40% ตามลำดับ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ pepsin มีผลต่อการมีชีวิตของเซลล์โปรไบโอติก

จากผลการทดลองนอกจากเซลล์อิสระ *P. pentosaceus* จะลดลงในขณะที่ทดสอบเซลล์ในน้ำย่อยจำลองจากกระเพาะอาหารแล้วเซลล์ตรึงก็มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการตรึงเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชันวิธีอิมัลชันน้ำในน้ำมันที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้ขนาดเม็ดแคปซูลที่ไม่สม่ำเสมอจากการปั่นกวน นาน 20 นาที แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ดังนั้นไมโครแคปซูลที่มีขนาดใหญ่กว่า ผนังบางกว่าจึงมีโอกาสแตกก่อน สอดคล้องกับการทดสอบประสิทธิภาพไมโครแคปซูลภายใต้สภาวะน้ำย่อยจำลองสุกร (*in vitro* model) ที่พบว่าปริมาณไมโครแคปซูลที่เหลือรอดถึงชั่วโมงที่ 6 คือไมโครแคปซูลที่มีขนาดเล็ก

หลังจากเติมน้ำย่อยจากลำไส้เล็ก (pancreatin + bile sale, pH 7.4) คือ ชั่วโมงที่ 4-6 ผนังไมโครแคปซูลที่ปกป้องเซลล์มีการแตกออกมากขึ้นเซลล์โปรไบโอติก *P. pentosaceus* ที่อยู่ภายในแคปซูลจึงทยอยออกมาพบสภาวะที่เหมาะสม (pH 7.4) และอาจเนื่องมาจาก *P. pentosaceus* สามารถทนทานเกลือน้ำดีได้ดีจึงสามารถทำกิจกรรมของเซลล์และเพิ่มปริมาณเซลล์ได้อย่ารวดเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ramirez-Chavarin, et al. (2013) ที่พบว่า *P. pentosaceus* ที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อปรุงสุกทั้งหมด 4 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะเกลือน้ำดี 0.1-2.0% นาน 7 ชั่วโมง ได้ ประกอบกับ *P. pentosaceus* ที่คัดเลือกได้ใช้เวลาเพียง 0.23 ชั่วโมง หรือประมาณ 14 นาที เท่านั้นสำหรับการเพิ่มปริมาณเป็นสองเท่า ดังนั้น

เซลล์อิสระ *P. pentosaceus* ที่เหลือรอดชีวิตจากสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะอาหารจึงเริ่มฟื้นตัวและดำเนินกิจกรรมของเซลล์รวมทั้งเพิ่มปริมาณเซลล์แต่พบว่ายังมีปริมาณเซลล์น้อยกว่าเซลล์ตรึง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีปริมาณเซลล์อิสระเหลือรอดชีวิตจากระบบน้ำย่อยในกระเพาะอาหารมีน้อยกว่าและเป็นเซลล์ที่อ่อนแอ ดังนั้นจึงไม่สามารถแบ่งตัวและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเซลล์ตรึง คือ 20.7±0.6% และ 216.3±11.6% ตามลำดับ

4. ในการผลิตอาหารสัตว์ระดับอุตสาหกรรมบริษัทรายใหญ่ เช่น ซีพี และเบทาโกร มักผลิตในรูปอาหารอัดเม็ดเพราะสะดวกในการขนส่ง การนำไปใช้งานและการเก็บรักษา รวมทั้งโรงเรือนระบบปิดของฟาร์มขนาดใหญ่มักใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติที่รองรับเฉพาะอาหารอัดเม็ด ซึ่งกระบวนการอัดเม็ดอาหารสัตว์จำเป็นต้องใช้สภาวะที่ค่อนข้างรุนแรงต่อเซลล์โปรไบโอติกคือการใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 80°C ในระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 30 วินาที นอกจากนั้นเมื่อเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติกที่อยู่ในอาหารยังต้องเผชิญกับสภาวะแรงดัน แรงอัด รวมทั้งแรงเฉือนจากเครื่องอัดเม็ดเพื่อให้ได้อาหารอัดเม็ดออกมาสมบูรณ์ ไม่แตกและมีขนาดเท่าๆ กัน ดังนั้นหากใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกในรูปแบบเซลล์อิสระ แบคทีเรียที่มีประโยชน์นี้อาจถูกทำลายไปด้วย ดังนั้นควรใช้เทคโนโลยีการตรึงเซลล์เนื่องจากสามารถช่วยปกป้องเซลล์จากความร้อนที่ใช้อัดเม็ดอาหารได้สอดคล้องกับกรณีศึกษาในบทความของ Picot and Poncelet (2011) ที่รายงานว่าการห่อหุ้มเซลล์ด้วยวิธีการเคลือบเซลล์ 2 ชั้น ช่วยให้เซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae* มีชีวิตรอดหลังกระบวนการอัดเม็ดอาหารที่อุณหภูมิ 65°C ถึง 86.1% ในขณะที่เซลล์อิสระ *Saccharomyces cerevisiae* มีการรอดชีวิตต่ำกว่า 0.5%

เมื่อนำเซลล์ตรึงโปรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* strain K21, *B. licheniformis*, *B. subtilis* strain KISR, *B. subtilis* strain KL-007 และ *Pediococcus pentosaceus* ความเข้มข้น $3x10^6$ เซลล์ต่อ 1 กรัมอาหารน้ำหนักแห้ง ผลิตเป็นสินค้าทดสอบโดยการเสริมลงในอาหารผงสำเร็จรูปสุกรขนาดเล็กได้เป็นอาหารผงเสริมโปรไบโอติก แล้วนำอาหารผงเสริมโปรไบโอติกเข้าเครื่องอัดเม็ดขนาดใหญ่ที่มีกำลังการผลิต 800 กิโลกรัม/ชั่วโมง (80°C นาน 15 วินาที) พบว่าเซลล์ตรึงมีการรอดชีวิตจากกระบวนการอัดเม็ด 77.25% และเพื่อการนำอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้งรูปแบบอาหารผงและอาหารอัดเม็ดไปใช้ประโยชน์จึงต้องศึกษาอายุผลิตภัณฑ์จากค่าครึ่งชีวิตของเซลล์โปรไบโอติกในอาหารสุกรเสริมโปรไบโอติกสำหรับการนำไปใช้งานให้มีประสิทธิภาพโดยระดับการใช้งานต้องไม่ต่ำกว่า 10^6 เซลล์ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม (Burgain, et al., 2011) จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกมีอายุการเก็บรักษานานกว่าอาหารผงเสริมโปรไบโอติก 21.95% ที่เก็บรักษาไว้สภาวะเดียวกัน (25-30°C) ทั้งนี้อาจ

เนื่องจากกระบวนการอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกที่ต้องผ่านอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อโรคในอาหาร (รุ่งนภา พงศ์สวิสดิ์มานิต, 2550; ยุทนา พิมลศิริพล, 2553) ที่ส่งผลให้โครงสร้างของอาหารอัดเม็ดเกาะตัวเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารผงที่ผ่านการคลุกเคล้าเพียงอย่างเดียว ที่สามารถเกิดความชื้นหรือแลกเปลี่ยนแก๊สออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และไนโตรเจน (ยุทนา พิมลศิริพล, 2553) ได้ง่ายกว่าอาหารอัดเม็ด ดังนั้นอาหารอัดเม็ดจึงเก็บรักษาได้นานกว่าอาหารผง

5. จากผลการเสริมโปรไบโอติกในอาหารต่อการเจริญเติบโตของสุกรที่ได้ออกแบบการทดลองโดยใช้สูตรอาหาร 4 สูตร คือ อาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก อาหารผงเสริมโปรไบโอติก อาหารผงไม่ผสมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ และอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ ทดลองกับลูกสุกรระยะหลังหย่านมในฟาร์มเกษตรกรระบบเปิดแห่งหนึ่งในจังหวัดสุโขทัย ที่มีลักษณะคือไม่สามารถควบคุมสิ่งที่อาจเป็นพาหะนำโรคเข้าสู่ภายในโรงเรือนสุกรได้อย่างเด็ดขาด และไม่ได้ใช้อาหารสัตว์จากโรงงานผลิตที่มีมาตรฐานตามระบบ HACCP แต่ผลิตอาหารขึ้นมาใช้เองภายในฟาร์ม และโรงเรือนสำหรับเลี้ยงสุกรระยะหลังหย่านมเป็นแบบโรงเรือนเปิด คืออุณหภูมิภายในโรงเรือนแปรผันไปตามอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมรอบๆ โรงเรือน (กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2548) และไม่สามารถควบคุม แมลงวัน ยุง รวมทั้งฝุ่นละอองเข้า-ออกโรงเรือนได้

สำหรับขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเสริมโปรไบโอติกนั้น ได้กำหนดให้สุกรอยู่แบบรวมกลุ่มเป็นคอกเนื่องจากมีข้อจำกัดด้านรูปแบบของสถานที่ทดลองที่ไม่สามารถที่จะกั้นแยกเป็นคอกย่อยๆ ได้อีก ดังนั้นจึงแบ่งเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีสุกร 21 ตัว รวมเป็น 84 ตัว สุกรทุกตัวมีหมายเลขเบอร์หู และออกแบบให้ลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผงผสมยาปฏิชีวนะ (ควบคุม 2) เท่านั้นที่จะได้รับยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่เกษตรกรใช้สำหรับป้องกันและรักษาอาการท้องเสียและโรคบวมน้ำในสุกรหลังหย่านมโดยการกรองทางปาก ตามโปรแกรมการผลิตสุกรขนาดเล็กที่เกิดขึ้นจริงในฟาร์มเกษตรคือเริ่มให้ตั้งแต่วันที่ 2 นับจากวันหย่านม แต่เนื่องจากในวันที่ 3 ของการทดลอง ลูกสุกรในกลุ่มอาหารผงที่ไม่เสริมโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (ควบคุม 1) เกิดอาการของโรคท้องเสียคือถ่ายเหลวเป็นน้ำสีดำและสีเหลืองอ่อนค่อนข้างรุนแรงและต่อเนื่อง จึงจำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin กับลูกสุกรกลุ่มนี้ (ในวันที่ 5 ของการทดลอง) โดยการกรอกทางปากอย่างต่อเนื่อง (3 วัน/ครั้ง) ทุกสัปดาห์ติดต่อกัน 3 สัปดาห์ เพื่อลดปริมาณ Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) ที่สร้าง enterotoxin เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย (สถาบันสุขภาพสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, ม.ป.ป.) และเป็นการช่วยชีวิตหน่วยทดลองคือลูกสุกรระยะหลังหย่านม

หลังจากการทดลอง 10 วัน กลุ่มลูกสุกรที่ได้รับอาหารผงเสริมโปรไบโอติกที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรงดีที่เริ่มแสดงอาการของโรคบวมน้ำ คือ เปลือกตาบวมแดง และหนังตาเริ่มปิด สอดคล้องกับบทความของนายสัตวแพทย์มงคล ลำไย (2556) ที่กล่าวว่าสามารถพบลักษณะอาการบวมน้ำในสุกรขนาดเล็กที่มีลักษณะสมบูรณ์ได้โดยสังเกตได้จากลักษณะเปลือกตาบวมน้ำ และสามารถพบอาการท้องเสียชักร่วมด้วยได้ เมื่อลูกสุกรกลุ่มนี้ป่วยจึงส่งผลให้ลูกสุกรกินอาหารน้อยลง ดังนั้นปริมาณแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ได้รับจึงน้อยลงไปด้วยตามพฤติกรรมการกินอาหาร หลังจากนั้นอาการของโรคเริ่มรุนแรงมากขึ้น คือ เริ่มเดินเซ และมีอาการข้อบวมร่วมด้วยประกอบกับสภาพอากาศในช่วงที่ทำการทดลอง คือฤดูฝน (เดือนสิงหาคม-กันยายน 2556) ที่มีสภาพอากาศแปรปรวน บางวันอากาศค่อนข้างเย็นอุณหภูมิต่ำสุดในโรงเรือนประมาณ 25°C แต่บางวันกลับมีอากาศร้อนมากอุณหภูมิสูงสุดในโรงเรือนประมาณประมาณ 40°C ซึ่งสภาพอากาศร้อนส่งผลให้ความอยากอาหารของสุกรลดลง และจะเห็นได้ชัดเมื่ออุณหภูมิภายนอกโรงเรือนสูงถึง 35°C โดยอุณหภูมิสุขสบาย (Comforttemperature; T_c) สำหรับสุกรระยะหย่านม คืออุณหภูมิ 22-28°C (วันดี ทาตระกูล, 2546) และโดยทั่วไปฤดูฝนเป็นช่วงเวลาที่สุกรมักเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* เช่น โรคบวมน้ำที่เกิดจาก *E. coli* ที่เรียกว่า Edemedisease E.coli (EDEC) ผลิตสารพิษ Shiga-toxin 2e (STx2e) (นายสัตวแพทย์มงคล ลำไย, 2556) หรือ verotoxin (สถาบันสุขภาพสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2547) จึงส่งผลให้ลูกสุกรหย่านมที่ใช้ทดลองมีโอกาสได้รับการแพร่กระจายเชื้อโรคได้ง่ายดังนั้นอาการป่วยจึงเริ่มเห็นได้ชัดเจนขึ้นจึงจำต้องให้ยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Fluoroquinolone ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อมัยโคพลาสม่าจากการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหารเพื่อเข้าไปลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ในวันที่ 12 ของการทดลอง) กับลูกสุกรที่ได้รับอาหารผงเสริมโปรไบโอติกเพื่อเป็นการช่วยชีวิตสัตว์ทดลอง และในช่วงท้ายของสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง กลุ่มลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารอัดเม็ดเสริมโปรไบโอติกเริ่มแสดงอาการโรคบวมน้ำเช่นเดียวกับกลุ่มอาหารผงเสริมโปรไบโอติก จึงจำต้องให้ยาปฏิชีวนะกับลูกสุกรกลุ่มนี้เช่นกัน (ในวันที่ 14 ของการทดลอง)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าลูกสุกรกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกมีอาการโรคท้องเสียรุนแรง (80%) ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง จึงจำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin ในขณะที่กลุ่มลูกสุกรที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้งรูปแบบอาหารผงและอัดเม็ดนั้นมีสุกรที่มีอาการท้องเสียเพียง 10-20% แต่ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองนั้นสุกรกลุ่มนี้เริ่มเกิดอาการโรคบวมน้ำ จึงจำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin เช่นกัน ดังนั้น

สามารถกล่าวได้ว่าโปรไบโอติกที่มีในอาหารอาจมีผลช่วยลดการเกิดท้องเสียที่เกิดจาก Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) ที่สร้าง enterotoxin ในลูกสุกรได้ แต่ไม่มีผลต่อ *E. coli* (EDEC) ที่ผลิตสารพิษ Shiga-toxin 2e (STx2e) หรือ verotoxin ที่เป็นสาเหตุของโรคบวมน้ำในลูกสุกรได้

สถานการณ์โรคบวมน้ำที่เกิดขึ้นกับลูกสุกรระยะหลังหย่านม มีสาเหตุมาจากการสะสมของเชื้อโรคภายในฟาร์ม (2-3 ปี) และเชื้อ *E. coli* ที่ปนอยู่ในน้ำกินของสุกรซึ่งเป็นน้ำกรองที่เป็นระบบเดียวกับน้ำสำหรับล้างคอกและใช้ทั่วไป รวมทั้งอาจมีการสะสมโรคจากสุกรแม่พันธุ์ที่อุ้มท้องหลายครั้ง (7-9 ครั้ง) และทางฟาร์มไม่สามารถแก้ปัญหาได้อย่างเด็ดขาดประกอบกับสภาวะอากาศแปรปรวนในฤดูฝนการแพร่กระจายโรคจึงเกิดได้ง่าย เพราะสุกรมีลักษณะนิสัยเป็นสัตว์สังคม คือมีพฤติกรรมการต่อสู้ในช่วงสัปดาห์แรกของการทดลองเพื่อเลือกหัวหน้ากลุ่ม เป็นการจัดลำดับความสำคัญทางสังคม (วันดีทาตระกูล, 2546) ชอบอยู่เป็นกลุ่ม รวมฝูง และมักจะกินอาหารเป็นกลุ่ม และลูกสุกรมักจะเอาจมูกไปสัมผัสกับสุกรตัวอื่นๆ รวมทั้งอุปกรณ์อื่นรอบตัวโดยง่าย เช่น พื้นคอก ถาดใส่อาหาร และซี่เหล็กที่กั้นระหว่างคอกทดลอง ดังนั้นเชื้อก่อโรคจึงมีโอกาสแพร่ได้ง่ายโดยเฉพาะภายในคอกที่มีสุกรบางส่วนแสดงอาการป่วย สิ่งเหล่านี้ส่งผลให้การเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักลดลง ดังนั้นโอกาสที่ลูกสุกรจะกลับมากินอาหารได้ ร่างกายแข็งแรงและเจริญเติบโตเป็นปกติอีกครั้งก็ต้องใช้ระยะเวลาฟื้นฟูนานพอสมควร

แต่จากการทดลองหลังจากใช้ยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin กับทุกกลุ่มการทดลองในระยะเวลาต่างกันพบว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกสามารถฟื้นตัวได้ค่อนข้างเร็วเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่ม สอดคล้องกับประโยชน์ของโปรไบโอติกที่กล่าวว่าโปรไบโอติกจะเข้าไปปรับสมดุลเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ ยับยั้งความสามารถในการเกาะติดที่เยื่อเมือกในลำไส้ของเชื้อก่อโรค (Gill, 2003) ส่งผลให้สุกรมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดสอบคุณสมบัติการทนต่อยาปฏิชีวนะ 10% Enrofloxacin ของแบคทีเรียโปรไบโอติกที่พบว่า *B. subtilis* strain KISR และ *P. pentosaceus* สามารถทนยาปฏิชีวนะชนิดนี้ได้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถมีชีวิตรอดและเพิ่มปริมาณจนมีปริมาณมากพอเพื่อทำหน้าที่อยู่ในลำไส้เล็กได้ในขณะที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะกับสัตว์ทดลอง รวมทั้งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์มูลสุกรที่ใช้ 0.5% TiO_2 (ที่มีคุณสมบัติปลอดภัยต่อสัตว์ (Glindemann, et al., 2009) ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมเข้าร่างกายสุกร) เป็นเป็นตัวติดตาม (indicator) เพื่อหาค่าการย่อยได้ของโภชนะ คือ โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย จากผลการวิเคราะห์พบว่าลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมโปรไบโอติกมีค่าการย่อยได้ของโปรตีนและเยื่อใยดีกว่ากลุ่มควบ

จากการทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียโปรไบโอติกที่คัดเลือกได้โดยนำไปผสมในอาหารเลี้ยงสุกรหลังหย่านม จะเห็นว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกมีผลต่อการเจริญเติบโตของสุกรจริง หากสุกรได้รับในปริมาณที่เพียงพอ แต่ทั้งนี้ควรมีการเรียนรู้ การจัดการในการเลี้ยงสุกรที่ดีร่วมด้วย ตั้งแต่รุ่นพ่อ-แม่พันธุ์ ไปจนถึงปัจจัยแวดล้อม เช่น ความสะอาดของโรงเรือน น้ำกิน สุขลักษณะของอาหารที่ใช้และอากาศภายในโรงเรือนรวมทั้งความรู้ความเข้าใจถึงพฤติกรรมของสุกรในแต่ละช่วงอายุและการเอาใจใส่ หากมีการจัดการแบบบูรณาการไปพร้อมกัน คาดว่าประสิทธิภาพการผลิตสุกรจะดีขึ้นเป็นลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อให้เกิดความแม่นยำในขั้นตอนการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียเช่น แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกควรเลือกใช้สูตรอาหารจำเพาะ MRS จากยี่ห้อที่มีมาตรฐานสากลรวมทั้งการผสมอินดิเคเตอร์ เช่น bromocresol purplen และหรือ $CaCO_3$ เพื่อให้ได้ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่แน่นอน แต่การใช้ $CaCO_3$ ผสมลงในอาหาร MRS ภายหลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อ $CaCO_3$ ในอาหาร MRS จะตกตะกอนเป็นผลึกสีขาวขุ่น ดังนั้นก่อนนำไปเทเพลทควรเขย่าให้อาหารเป็นเนื้อเดียวกันก่อน

2. ผลิตภัณฑ์จากเอนไซม์ย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช เช่น เซลลูเลส ไซแลนเนส และเฮมิเซลลูเลส จากแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ทดสอบคัดเลือกได้โดยการผลิตในรูปแบบเอนไซม์บริสุทธิ์เพื่อเป็นสารเสริมในอาหารให้แก่สุกร

3. ในขั้นตอนการตรึงเซลล์ด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั่นแบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันพืชด้วยการปั่นกวนบน hotplate stirrer อุณหภูมิที่แสดงบนหน้าปัดตัวเครื่องมักจะไม่ตรงกับอุณหภูมิในสารละลายอิมัลชั่นน้ำในน้ำมันพืช ดังนั้นควรมีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ (70°C) ด้วยเทอร์มอมิเตอร์หรืออุปกรณ์อื่นๆ ตลอดระยะเวลา 20 นาที ที่ทำการตรึงเซลล์

4. การได้รับโปรไบโอติกของลูกสุกรหลังหย่านมแปรผันตามปริมาณอาหารที่สุกรได้รับในสภาวะที่สภาพอากาศแปรปรวนส่งผลให้ลูกสุกรหย่านมเครียดและกินอาหารได้น้อยลงดังนั้นการได้รับโปรไบโอติกจึงน้อยลงตามไปด้วยทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มการได้รับโปรไบโอติกให้แก่ลูกสุกรมากขึ้นคือการกรอกโปรไบโอติกเข้าทางปากให้แก่ลูกสุกรในระยะที่สุกรได้รับอาหารอย่างเต็มที่และมีสภาวะการเครียดน้อยที่สุด เช่น ระยะแรกเกิดและในช่วงก่อนหย่านม เป็นต้น