

ผลของอาหารสัตว์ฟังก์ชันจากพรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่เสริมด้วย  
เศษหน่อไม้ฝรั่งตัดแต่งเหลือทิ้งต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะ  
กรดไขมันที่ระเหยง่าย จุลินทรีย์ในไส้ตัน และมิถุนวิทยาของลำไส้เล็กของไก่ไข่  
Effects of functional feed of prebiotics and synbiotics from  
supplementation of trimmed asparagus by-products on nutrient  
digestibility, volatile fatty acid, cecal microbiota, and small intestinal  
histology of laying hens

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี<sup>1\*</sup>, วีรชัย ชุมแสงโชติสกุล<sup>1</sup>, มาริษา นาวา<sup>1</sup>, อณัญญา ปานทอง<sup>2</sup> และ  
วารางคณา กิจพิพิธ<sup>3</sup>

Manatsanun Nopparatmaitree<sup>1\*</sup>, Verachai Chumsangchotisakun<sup>1</sup>,

Marisa Nava<sup>1</sup>, Anunya Panthong<sup>2</sup> and Warangkana Kitpipit<sup>3</sup>

<sup>1</sup> คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ตำบลสามพระยา อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี 76120

<sup>2</sup> คณะสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรี ตำบลสามพระยา อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี 76120

<sup>3</sup> วิทยาลัยสัตวแพทยศาสตร์อัครราชกุมารี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ตำบลไทยบุรี อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

<sup>1</sup> Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Sam Phraya, Cha-am, Phetchaburi 76120

<sup>2</sup> Faculty of Animal Science, Phetchaburi Collage of Agricultural and Technology, Sam Phraya, Cha-am, Phetchaburi 76120

<sup>3</sup> Akkhraratchakumari Veterinary College, Thaiburi, Thasala, Nakhon Si Thammarat, 80160

\* Corresponding author E-mail: [Nopparatmaitree\\_m@silpakorn.edu](mailto:Nopparatmaitree_m@silpakorn.edu)

Received: date; August 6, 2020 Accepted: date; January 8, 2020 Published: date

**บทคัดย่อ:** การทดลองครั้งนี้ดำเนินการเพื่อศึกษาผลของอาหารสัตว์ฟังก์ชันจากพรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่เสริมด้วย  
เศษหน่อไม้ฝรั่งตัดแต่งเหลือทิ้งในอาหารไก่ไข่ (Trimmed asparagus by-products: TABP) ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของ  
โภชนะ กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม จุลินทรีย์ในไส้ตัน และ มิถุนวิทยาของลำไส้เล็ก โดยไก่ไข่สายพันธุ์ Hisex brown<sup>®</sup>  
อายุ 35 สัปดาห์ จำนวน 560 ตัว ถูกสุ่มเข้าสู่การจัดกลุ่มการทดลองแบบ 2X3 แฟคตอเรียลร่วมกับทรีทเมนต์ควบคุม {(2X3)+1}  
ภายใต้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) ที่ประกอบด้วย 2 ปัจจัย และ 1 ทรีทเมนต์ควบคุม  
ได้แก่ ปัจจัย A คือ การเสริมโปรไบโอติกส์ (0 and 2 กรัมต่อกิโลกรัม) ปัจจัย B คือ ระดับการเสริมของ TABP (1, 3 และ 5%)  
โดยแต่ละทรีทเมนต์มี 4 ซ้ำ (n = 20) ผลการทดลอง พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่าง ปัจจัย A และ B ต่อจำนวนจุลินทรีย์ในไส้ตัน  
(P<0.01) อีกทั้ง พบว่า การย่อยได้ของไขมันสูงชันและมีการเพิ่มความกว้างของวิลลัสและพื้นที่ผิวของวิลลัสของลำไส้เล็ก  
ส่วนคูโอดินัม (P<0.01) ในไก่ไข่ที่ได้รับโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมสูงกว่ากลุ่มไก่ไข่ที่ได้รับโปรไบโอติกส์ 0 กรัมต่อ  
กิโลกรัม นอกจากนี้ระดับการเสริม TABP ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (Linear, P<0.01) กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม

(Linear,  $P < 0.01$ ) ความกว้างของวิลลัสและพื้นที่ผิวของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม (Quadratic,  $P < 0.01$ ) โดยรวมแล้วการเสริมพรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ในอาหารส่งผลให้ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ จุลินทรีย์ในไส้ตัน กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม และมิถุขวิทยาของลำไส้เล็กที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) ข้อสรุปของการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริมซินไบโอติกส์จาก TABP ที่ระดับ 1% ร่วมกับโปรไบโอติกส์ในอาหารไก่ไข่มีความสามารถในการพัฒนาการย่อยได้และมิถุขวิทยาของลำไส้เล็กของไก่ไข่

**คำสำคัญ:** อาหารสัตว์ฟังก์ชัน; พรีไบโอติกส์; ซินไบโอติกส์; หน่อไม้ฝรั่ง; การย่อยได้; และอาหารไก่ไข่

**ABSTRACTS:** The experiment was conducted to determine the effect of functional feed of prebiotic and synbiotic by supplementation of asparagus trimmed by-products in laying hen diets on nutrient digestibility, volatile fatty acid, cecal microbiota, and small intestinal histomorphology. A total of five hundred and sixty 35-week-old layers (Hisex brown<sup>®</sup>) randomly divided into  $\{(2 \times 3) + 1\}$  factorial in completely randomized design with two factors and one control. Factor A was probiotics levels (0 and 2 g/kg of probiotics). Factor B was TABP levels (1, 3 and 5%). Each treatment consisted of 4 replications ( $n = 20$ ). Results showed the interaction between factor A and B on cecal microbiota content ( $P < 0.01$ ). In addition, higher ether digestibility and increasing villus width and surface area of duodenal villus were observed ( $P < 0.01$ ) for birds fed 2 g/kg of probiotics group than for those fed the 0 g/kg of probiotics group. Furthermore, level of TABP was significantly increased organic matter digestibility (Linear,  $P < 0.01$ ), total volatile fatty acid (Linear,  $P < 0.01$ ), villus wide (Quadratic,  $P < 0.01$ ), and surface area of duodenal villus (Quadratic,  $P < 0.01$ ). Overall, supplementation of prebiotics and synbiotics in diets caused a significant improvement in nutrient digestibility, cecal microbiota, volatile fatty acid, and, small intestinal histology compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The conclusion of this study suggests that supplementation of synbiotics from 1% of TABP with probiotics in laying hen diets can improve digestion and small intestinal histology of hens.

**Keywords:** functional feed; prebiotics; synbiotics; asparagus; digestibility; and laying hen diets

## บทนำ

อาหารสัตว์ปีกในยุคปลอดยาปฏิชีวนะเริ่มต้นภายหลังจากปี 2006 ที่สหภาพยุโรปประกาศยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เพื่อลดปัญหาการดื้อยาและการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ที่อาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค (Abdel-Wareth et al., 2019) ทั้งนี้การออกแบบสูตรอาหารสัตว์ในปัจจุบันที่นอกจากต้องกำหนดให้มีโภชนะให้ตรงตามความต้องการของสัตว์ (Nutritive function) ความสมดุลระหว่างโภชนะ (Nutritive balance) และเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของสัตว์แล้ว (Hoffman-Pennesi and Wu, 2010) นักวิชาการอาหารสัตว์ยังต้องคำนึงถึงการผลิตอาหารสัตว์ที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่หรืออาหารสัตว์ฟังก์ชัน (Functional feed) ในการส่งเสริมสุขภาพของสัตว์ (Gaggia et al., 2010) รวมถึงมีหน้าที่ทางสรีรวิทยาอื่นๆ (Non-nutritive physiological functions) เช่น ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันโรค การปรับปรุงระบบการทำงานของร่างกาย และการส่งเสริมการทำงานของร่างกายเชิงหน้าที่ เป็นต้น (Vermeulen et al., 2017) ทั้งนี้สารเสริมอาหารสัตว์ (Feed additive) ที่นิยมใช้เพื่อผลิตอาหารสัตว์ฟังก์ชันมีหลายชนิด เช่น พรีไบโอติกส์ชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) โยอาหาร (Dietary fiber) โปรไบโอติกส์จำพวกแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนกลุ่มโอเมก้า 3 สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน และเกลือแร่ เป็นต้น (Ahmed et al., 2014) นอกจากนี้ยังมี

อีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ คือ ซินไบโอติกส์ (Synbiotics) หรือ สารเสริมที่เกิดจากการผสมและผสมผสานหน้าที่ระหว่าง โปรไบโอติกส์กับพรีไบโอติกส์ (Pandey et al., 2015) เพื่อการส่งเสริมกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในต่อทางเดินอาหาร การลดการปลดปล่อยแอมโมเนีย การเพิ่มอัตราการรอด และการพัฒนาสมรรถภาพการผลิตของสัตว์ (Dibaji et al., 2014; Markowiak and Slizewska, 2018) ทั้งนี้มีหลายงานวิจัยที่มุ่งศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากโปรไบโอติกส์ หรือ เชื้อจุลินทรีย์มีชีวิต (Live microorganism) เพื่อนำใช้ในการผลิตสัตว์ เช่น แบคทีเรีย *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, และ *Pididococcus* ชนิดต่างๆ ที่ระดับ 10-20 กรัมต่อกิโลกรัมในสูตรอาหาร (Khalifa et al., 2019; Pourakbari et al., 2016) รวมถึงยีสต์และเชื้อราชนิดต่างๆ เป็นต้น (Tao and Tan, 2007) จากรายงานของ Ahmed et al. (2014) และ Jeong and Kim (2014) พบว่า โปรไบโอติกส์สามารถเจริญเติบโตและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และทำหน้าที่ผลิต metabolites เพื่อยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียก่อโรค (Park et al., 2016) อันนำไปสู่การส่งเสริมสุขภาพของสัตว์ การเพิ่มปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสมรรถภาพการผลิตของสัตว์สูงขึ้น (Cengiz et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีหลายงานวิจัยที่มุ่งศึกษาการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรชนิดต่างๆ เป็นพรีไบโอติกส์ สำหรับใช้ในอาหารสัตว์ เช่น เปลือกส้มโอ เปลือกส้ม กากชา กากวานหางจระเข้ กากกะทิ กากปาล์ม น้ำมัน และกากมะเขือเทศ เป็นต้น (พรพรรณและสุภาวดี, 2557) ทั้งนี้ยังมีพืชเศรษฐกิจอีกชนิดที่มีความน่าสนใจทั้งด้านความเป็นพรีไบโอติกส์และจำนวนผลิตสูงเนื่องจากได้รับความนิยมบริโภคทั้งในประเทศและการส่งออกไปยังต่างประเทศ กล่าวคือ หน่อไม้ฝรั่ง ทั้งนี้กระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งให้ได้คุณภาพเพื่อส่งขายหรือแปรรูปต้องทำการตัดแต่งหน่อไม้ฝรั่งส่งผลให้มีเศษหน่อไม้ฝรั่งเหลือทิ้งจากกระบวนการตัดแต่ง (Trimmed asparagus by-products: TABP) จำนวนมาก หากแต่การใช้ประโยชน์เศษหน่อไม้ฝรั่งเหลือทิ้งเหล่านี้ยังไม่ค่อยได้รับความสนใจและมีการศึกษาวิจัยค่อนข้างน้อย โดยจากงานวิจัยของ Slavin (2560) รายงานว่า หน่อไม้ฝรั่งมีสารกลุ่มฟรุคแทน (Fructans) คือ อินนูลิน (Innulin) และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharide: FOS) ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวจัดเป็นพรีไบโอติกส์ (Huang et al., 2015) ทั้งนี้หน่อไม้ฝรั่งมีฟรุคแทนประมาณ 0.5 ถึง 2 % (น้ำหนักแห้ง) อีกทั้งมีฟรุคแทนสำรองที่สะสมในรากของหน่อไม้ฝรั่งซึ่งเป็นส่วนเหลือทิ้งจากกระบวนการตัดแต่ง คิดเป็นประมาณ 25 % (น้ำหนักสด) (Viera-Alcaide et al., 2020) จากงานวิจัยก่อนหน้าชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติของ FOS และ อินนูลินต่อการเพิ่มการหมักย่อยโภชนะในต่อทางอาหาร การเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* และการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* (Boguslawska-Tryk et al., 2012) รวมทั้ง FOS และ อินนูลินยังมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้โภชนะและอัตราการไหลผ่านของอาหาร (Shang et al., 2018) การพัฒนาระบบนิเวศจุลินทรีย์ในต่อทางเดินอาหาร การสร้างกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม (Yang et al. 2016) การพัฒนาระบบดูดซึมของลำไส้เล็ก (Xu et al. 2003; Sugiharto, 2016) ระบบภูมิคุ้มกัน (Shang et al., 2015) และสมรรถภาพการผลิต (Nopparatmaitree et al., 2014; Zhao et al., 2017) เป็นต้น ดังนั้นจากคุณสมบัติที่โดดเด่นของโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์จากหน่อไม้ฝรั่งข้างต้น การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อมุ่งศึกษาผลของอาหารสัตว์ฟังกซ์ขึ้นจากการเสริมพรีไบโอติกส์ (การเสริม TABP) และซินไบโอติกส์ (การเสริม TABP ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์) รวมถึงผลของระดับของการเสริม TABP ในอาหารไก่ไข่ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะ จุลินทรีย์ในซีกัม กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมและมีอายุขัยของลำไส้เล็ก

## วิธีการศึกษา

### 1. การออกแบบการทดลองและสัตว์ทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้ไก่ไข่เพศเมียสายพันธุ์ Hisex brown® อายุ 35 สัปดาห์ จำนวน 560 ตัว ที่เลี้ยงบนกรงตับภายในโรงเรือนแบบเปิดภายใต้สภาพแวดล้อมธรรมชาติและสู่มเข้าสู่แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยมีการจัดกลุ่มการทดลองแบบ 2x3 แฟคตอเรียลร่วมกับทรีทเมนต์ควบคุม {(2X3)+1} ประกอบด้วย 7 ทรีทเมนต์ (6 ทรีทเมนต์คอมบินชัน+1ทรีทเมนต์ควบคุม) แบ่งเป็นทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ รวมทั้งหมด 28 หน่วยทดลอง เพื่อศึกษาผลของปัจจัย A คือ การไม่เสริมโปรไบโอติกส์และการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

โดยโปรไบโอติกส์รวมที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย *Lactobacillus acidophilus*  $1.0 \times 10^{10}$  cfu, *Lactobacillus plantarum*  $1.0 \times 10^{10}$  cfu, *Pediococcus pentosaceus*  $1.0 \times 10^9$  cfu, *Streptococcus faecium*  $1.0 \times 10^{10}$  cfu, *Saccharomyces cerevisiae*  $10 \times 10^9$  cfu, *Bacillus subtilis*  $1.0 \times 10^{10}$  cfu, *Bacillus licheniformis*  $1.0 \times 10^{10}$  cfu, และเติมสื่อ (Carrier) จนครบ 1 กิโลกรัม) และปัจจัย B คือ ระดับของการเสริม TABP 1, 3, และ 5 % ในสูตรอาหาร โดย TABP ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้จากการรวบรวมจากเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งสายพันธุ์เมรุวชิงตันในโครงการตามพระราชประสงค์หุบกะพง อำเภอบางคนที จังหวัดเพชรบุรี

พรีทเมนต์ที่ 1 อาหารไก่ควบคุม (Control) (ไม่เสริม TABP และโปรไบโอติกส์)

พรีทเมนต์ที่ 2 อาหารไก่ที่เสริมพรีไบโอติกส์ (การเสริม TABP 1 % และไม่เสริมโปรไบโอติกส์)

พรีทเมนต์ที่ 3 อาหารไก่ที่เสริมพรีไบโอติกส์ (การเสริม TABP 3 % และไม่เสริมโปรไบโอติกส์)

พรีทเมนต์ที่ 4 อาหารไก่ที่เสริมพรีไบโอติกส์ (การเสริม TABP 5 % และไม่เสริมโปรไบโอติกส์)

พรีทเมนต์ที่ 5 อาหารไก่ที่เสริมซินไบโอติกส์ (การเสริม TABP 1 % และเสริมโปรไบโอติกส์ 2 g/kg)

พรีทเมนต์ที่ 6 อาหารไก่ที่เสริมซินไบโอติกส์ (การเสริม TABP 3 % และเสริมโปรไบโอติกส์ 2 g/kg)

พรีทเมนต์ที่ 7 อาหารไก่ที่เสริมซินไบโอติกส์ (การเสริม TABP 5 % และเสริมโปรไบโอติกส์ 2 g/kg)

ทั้งนี้ทำการเลี้ยงไก่ทดลองทั้งหมด 12 สัปดาห์ (อายุ 35 ถึง 47 สัปดาห์) โดยไก่ทดลองได้รับน้ำสะอาดแบบเต็มที่ (*Ad libitum*) และอาหารไก่ที่ชงระยะให้ไข่ที่ประกอบด้วยข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐานในสูตรอาหาร โดยโปรตีนหยาบ 18 % ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,850 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมตามคำแนะนำของ National Research Council (1994)

## 2. การวัดค่าการย่อยได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่

ทำการวัดค่าการย่อยได้โภชนะของไก่ไข่ด้วยวิธีใช้ตัวบ่งชี้ (Indicator method) ตามวิธีของ Fenton and Fenton (1979) โดยไก่ได้รับอาหารทดลองผสมโครมิกซ็อกไซด์ ( $Cr_2O_3$ ) 0.3 % ในช่วงอายุ 43 สัปดาห์ ถึง 47 สัปดาห์ เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 47 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองใส่ในถุงกันความชื้นและสุ่มเก็บมูลในช่วงระยะเวลา 7 วัน โดยมูลของไก่ไข่ถูกบรรจุในถุงที่มี  $H_2SO_4$  ความเข้มข้น 3 % เพื่อดักจับไนโตรเจนในมูล ตามวิธีของ Mountzouris et al. (2010) แล้วเก็บตัวอย่างอาหารทดลองที่ 4 องศาเซลเซียสและตัวอย่างมูลที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อรอวิเคราะห์ ส่วนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะทางห้องปฏิบัติการทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและบดละเอียดแล้วนำตัวอย่างอาหารและมูลไปวิเคราะห์วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เยื่อใยรวม ไขมันรวม อินทรีย์วัตถุ และ พลังงานรวม รวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณโครมิกซ็อกไซด์ ตามวิธีของ AOAC (1995) เพื่อใช้คำนวณหาการย่อยได้ปรากฏของวัตถุแห้ง (Apparent dry matter digestibility) จากสูตร  $\frac{[(\% Cr_2O_3 \text{ ใน มูล} - \% Cr_2O_3 \text{ ใน อาหาร}) \times 100]}{(\% Cr_2O_3 \text{ ใน มูล})}$  ตามวิธีของ Ndelekwute et al. (2018) และ คำนวณการย่อยได้ปรากฏของโภชนะ (Apparent nutrient digestibility) จากสูตร  $100 - [100 \times \frac{(\% Cr_2O_3 \text{ ใน อาหาร} / \% Cr_2O_3 \text{ ใน มูล}) \times (\% โภชนะ \text{ ใน มูล} / \% โภชนะ \text{ ใน อาหาร})}]$  ตามวิธีของ Liu et al. (2020)

## 3. การวัดจุลินทรีย์และกรดไขมันที่ระเหยง่ายในไส้ตัน

ทำการวัดจุลินทรีย์ในไส้ตันของไก่ไข่ โดยทำการอดอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมงเมื่อไก่ไข่อายุ 47 สัปดาห์ แล้วสุ่มฆ่าชำแหละไก่ไข่ 4 ตัวต่อหน่วยทดลอง เพื่อทำการเก็บตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน (Cecum) และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ คือ Lactic acid bacteria, *Enterococci*, *E.coli*, และ *Salmonella* ด้วยวิธี Culture technique โดยใช้ Selective media คือ MRS agar + 0.02%  $NaH_3$  + 0.05% L-Cystine Hydrochloride Monohydrate, m *Enterococci* agar, EMB agar, และ m *Enterococci* agar ตามลำดับ ตามวิธีของ Makivic, et al. (2019) และ Giannenas et al. (2010) และทำการแปลงข้อมูลจำนวนจุลินทรีย์ด้วย Log algorithm ฐาน 10 (Choi et al.,

2009) นอกจากนี้ นำตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน 1.5 กรัม สลายในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (1:1 กรัม/ปริมาตร) ใน Screw-capped tube และเก็บตัวอย่างที่  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อวิเคราะห์ตามวิธีของ Khattak et al. (2018) ทำการวัดปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่าย โดยนำตัวอย่างหลังการทำให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวและปั่นเหวี่ยงเพื่อแยก Supernatant 1 mL บรรจุลงใน Ampulla ร่วมกับ 0.2 % Meta-phosphoric acid แล้วผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้ววางบนถังน้ำแข็งนาน 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่  $10844 \times g$  นาน 10 นาที แล้วแยก Supernatant ไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายจากตัวอย่าง ตามวิธีของ Wang et al. (2005) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายจากสารละลายตัวอย่างด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography (HP 5890 Series II GC; Agilent J & W 30 m  $\times$  0.535 mm  $\times$  1.00 micron HP-FFAP column) และใช้ Flame-ionization detector (FID) เป็นตัวตรวจวัดโดยทำการฉีดตัวอย่างร่วมกับ 4-Methylvaleric acid (Alfa aesar, United Kingdom) เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) สำหรับการวิเคราะห์กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก (Mookiah et al., 2014) จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันที่ระเหยง่ายโดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ตามวิธีของ Khattak et al. (2018)

#### 4. การวัดจุลกายวิภาคลำไส้เล็กของไก่ไข่

ทำการวัดจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กไก่ไข่ โดยทำการอดอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมงเมื่อไก่ไข่อายุ 47 สัปดาห์ แล้วสุ่มฆ่าชำและไก่ไข่ 4 ตัวต่อหน่วยทดลอง เพื่อเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กทั้งสามส่วน คือ ดูโอเดนิม เจจูนัม และไอเลียม และเก็บรักษาสภาพตัวอย่างลำไส้เล็กในสารละลายฟอร์มอลีน 10 % ตามวิธีของ Awad et al. (2009) เพื่อวิเคราะห์ต่อไป จากนั้นทำการเตรียมตัวอย่างสไลด์ตามวิธีของ Gava et al. (2016) และวัดลักษณะทางจุลกายวิภาคลำไส้เล็กโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงรุ่น Olympus BX 50, 20 x optical magnification เพื่อถ่ายภาพ จากนั้นทำการวิเคราะห์ภาพถ่ายจุลกายวิภาคลำไส้เล็กโดยโปรแกรม Motic images 2.0 multi-language (Tsirtsikos et al., 2012) ทั้งนี้ สุ่มวัดความสูงของวิลลัส (Villous height) ความกว้างของวิลลัส (Villous width) และความลึกของครีพท์ออฟไลเบอร์คูน (Cryptal depth) จำนวน 10 วิลลัสต่อสไลด์ ตามวิธีของ Gava et al. (2016) จากนั้นทำการคำนวณพื้นที่ผิวของวิลลัส (Villus surface area) =  $\{(\pi) \times ((\text{ความกว้างของวิลลัส}/2) \times \text{ความสูงของวิลลัส})\}$  และคำนวณสัดส่วนของความสูงของวิลลัสต่อความลึกของครีพท์ออฟไลเบอร์คูน ตามวิธีของ Sakamoto et al. (2000)

#### 5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลด้วย General linear model (GLM) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มข้อมูลด้วย Turkey's honestly significant test อีกทั้งวิเคราะห์ Orthogonal ระหว่างกลุ่มควบคุม vs กลุ่มการทดลองอื่น และ กลุ่มฟรีไบโอติกส์ vs กลุ่มซินไบโอติกส์ ด้วย Orthogonal contrast นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์แนวโน้มของข้อมูล (Trend analysis) ด้วย Orthogonal polynomial ตามวิธีของ Steel and Torrie (1992) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป R version 3.5.1 ตามวิธีของ R Core Team (2018)

#### ผลการศึกษา

##### 1. ผลของอาหารสัตว์ฟังก์ชันจากฟรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่เสริมด้วยเศษหน่อไม้ฝรั่งตัดแต่งเหลือทิ้งในอาหารต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนาการของไก่ไข่

การทดลองครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์ร่วมกับระดับการเสริม TABP ในอาหารไก่ไข่ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนาการของไก่ไข่ ( $P > 0.05$ ) ทั้งนี้ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร) มีประสิทธิภาพ

การย่อยได้ของไขมันสูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % และ ไม่เสริมโปรไบโอติกส์) ( $P < 0.01$ ) อีกทั้งยัง พบว่า การเพิ่มระดับการเสริม TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ในอาหารไก่ไข่แปรรูปตรงต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุในอาหารที่เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (Linear,  $P < 0.05$ ) นอกจากนี้ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ และพลังงานรวม ( $P < 0.01$ ) รวมถึงประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันรวม ( $P < 0.05$ ) ในอาหารสูงกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม ดังแสดงใน Table 1

## 2. ผลของอาหารสัตว์ฟังก์ชันจากโปรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่เสริมด้วยเศษหน่อไม้ฝรั่งตัดแต่งเหลือทิ้งในอาหารต่อกรดไขมันที่ระเหยง่ายและนิเวศวิทยาจุลินทรีย์ในไส้ตันของไก่ไข่

การทดลองครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์ร่วมกับระดับการเสริม TABP ในอาหารไก่ไข่ต่อนิเวศวิทยาจุลินทรีย์ในไส้ตันของไก่ไข่ ( $P < 0.01$ ) โดยอิทธิพลร่วมของการเพิ่มระดับการเสริม TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการไม่เสริมโปรไบโอติกส์ (โปรไบโอติกส์) หรือ อิทธิพลร่วมการเพิ่มระดับการเสริม TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัม (ซินไบโอติกส์) ในอาหารไก่ไข่แปรรูปตรงต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Lactic acid bacteria และ *Enterococcus* spp. แบบเส้นตรง (linear,  $P < 0.01$ ) และแบบเส้นโค้งกำลังสอง (Quadratic,  $P < 0.01$ ) ตามลำดับ อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อการลดลงของปริมาณ *E. coli* แบบเส้นโค้งกำลังสอง (Quadratic,  $P < 0.01$ ) และ *Salmonella* spp. แบบเส้นตรง (Linear,  $P < 0.01$ ) นอกจากนี้ยังพบว่า การเสริมโปรไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % และ ไม่เสริมโปรไบโอติกส์) และ การเสริมซินไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร) ในอาหารไก่ไข่ส่งผลให้ไก่ไข่มีปริมาณ Lactic acid bacteria คือ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. รวมถึง *Enterococcus* spp. ในไส้ตันสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุม ( $P < 0.01$ ) รวมถึงช่วยลดปริมาณ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ต่ำกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุม ( $P < 0.01$ ) ทั้งนี้การเสริมการเสริม TABP ที่ระดับ 1 % ร่วมกับโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณ Lactic acid bacteria คือ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. รวมถึง *Enterococcus* spp. ในไส้ตัน และการลดปริมาณ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในไส้ตันของไก่ไข่ดีที่สุด ( $P < 0.01$ ) ดังแสดงใน Table 1 นอกจากนี้ยังการทดลองครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์ร่วมกับระดับการเสริม TABP ในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกในไส้ตัน ( $P > 0.05$ ) ทั้งนี้ระดับการเสริม TABP ในอาหารส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมในไส้ตันของไก่ไข่ ( $P < 0.01$ ) โดยการเพิ่มระดับการเสริม TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ในอาหารไก่ไข่ต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมในไส้ตันของไก่ไข่ที่เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (Linear,  $P < 0.01$ ) อีกทั้งไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % และ ไม่เสริมโปรไบโอติกส์) และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร) มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมกรดอะซิติกและกรดบิวทีริกในไส้ตันของไก่ไข่สูงกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม ( $P < 0.01$ ) ดังแสดงใน Table 1

## 3. ผลของอาหารสัตว์ฟังก์ชันจากโปรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่เสริมด้วยเศษหน่อไม้ฝรั่งตัดแต่งเหลือทิ้งในอาหารต่อลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กของไก่ไข่

การทดลองครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์ร่วมกับระดับการเสริม TABP ในอาหารไก่ไข่ต่อลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กทั้งสามส่วนของไก่ไข่ ( $P > 0.05$ ) ทั้งนี้ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับการเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร) มีความกว้าง ( $P < 0.01$ ) และพื้นที่ผิวของวิลลัส ( $P < 0.05$ ) ของลำไส้ส่วนดูโอดินัมสูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % และ ไม่เสริมโปรไบโอติกส์) อีกทั้งยังพบว่า การเพิ่มระดับการเสริม TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ในอาหารไก่ไข่แปรรูปตรงต่อความกว้างและพื้นที่ผิวของวิลลัสของลำไส้ส่วนดูโอดินัม (Quadratic,  $P < 0.05$ ) รวมถึงความสูงของวิลลัสของลำไส้ส่วนไอเลียม (linear,  $P < 0.05$ ) ทั้งนี้ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % ร่วมกับ

**Table 1** Effects of prebiotic (TABP) and synbiotic (TABP+ Probiotics 2 g/kg) in functional feed and level of TABP supplementation in diets on digestibility, cecal microbiota, and volatile fatty acid

Digestibility, volatile fatty acid and cecal microbiota of laying hens	Type of feed additives in in diets (A)							SEM	Orthogonal contrast				Trend analysis	
	Control	Prebiotic (TABP+ Probiotics 0 g/kg)			Synbiotic (TABP+ Probiotics 2 g/kg)				C vs O	A <sup>#</sup>	B <sup>##</sup>	AxB <sup>###</sup>	B <sup>##</sup>	AxB <sup>###</sup>
		Level of TABP supplementation in diets (B)			Level of TABP supplementation in diets (B)									
		1%	3%	5%	1%	3%	5%							
-----Apparent nutrient digestibility (%)-----														
Dry matter	76.217 <sup>b</sup>	79.920 <sup>a</sup>	80.767 <sup>a</sup>	80.970 <sup>a</sup>	80.560 <sup>a</sup>	80.407 <sup>a</sup>	80.902 <sup>a</sup>	0.399	**	NS	NS	NS	NS	NS
Crude protein	80.322	80.367	83.340	81.590	82.330	81.970	84.542	0.425	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ether extract	76.667 <sup>B</sup>	79.117 <sup>AB</sup>	76.802 <sup>B</sup>	78.287 <sup>AB</sup>	81.942 <sup>A</sup>	80.710 <sup>AB</sup>	79.810 <sup>AB</sup>	0.481	*	**	NS	NS	NS	NS
Organic matter	79.240 <sup>D</sup>	81.877 <sup>BC</sup>	84.762 <sup>A</sup>	84.720 <sup>A</sup>	81.610 <sup>C</sup>	83.757 <sup>AB</sup>	84.257 <sup>A</sup>	0.393	**	NS	*	NS	L	NS
Gross energy	78.470 <sup>b</sup>	79.635 <sup>ab</sup>	80.017 <sup>ab</sup>	80.252 <sup>ab</sup>	79.572 <sup>ab</sup>	81.322 <sup>ab</sup>	81.792 <sup>a</sup>	0.292	**	NS	NS	NS	NS	NS
Crude fiber	56.002	56.727	57.382	58.300	59.617	59.617	60.247	0.805	NS	NS	NS	NS	NS	NS
-----Cecal microbiology (Log <sub>10</sub> CFU/ml)-----														
Lactic acid bacteria	12.982 <sup>BC</sup>	12.942 <sup>C</sup>	14.497 <sup>A</sup>	14.387 <sup>AB</sup>	14.892 <sup>A</sup>	15.312 <sup>A</sup>	14.827 <sup>A</sup>	0.196	**	**	**	**	Q	L
<i>Enterococcus</i> spp.	6.000 <sup>B</sup>	7.212 <sup>A</sup>	7.657 <sup>A</sup>	7.387 <sup>A</sup>	7.770 <sup>A</sup>	7.507 <sup>A</sup>	7.747 <sup>A</sup>	0.121	**	**	NS	**	NS	Q
<i>Escherichia coli</i>	7.847 <sup>A</sup>	7.090 <sup>B</sup>	7.132 <sup>B</sup>	7.097 <sup>B</sup>	7.010 <sup>BC</sup>	6.637 <sup>C</sup>	6.810 <sup>BC</sup>	0.073	**	**	NS	**	NS	Q
<i>Salmonella</i> spp.	6.262 <sup>A</sup>	4.820 <sup>B</sup>	4.310 <sup>BC</sup>	3.612 <sup>C</sup>	4.002 <sup>C</sup>	4.122 <sup>BC</sup>	3.862 <sup>BC</sup>	0.171	**	NS	**	**	L	L
-----Volatile fatty acids (µmol/ml)-----														
Total volatile fatty acids	215.042 <sup>B</sup>	250.001 <sup>A</sup>	251.259 <sup>A</sup>	259.622 <sup>A</sup>	247.881 <sup>B</sup>	262.566 <sup>A</sup>	261.389 <sup>A</sup>	3.462	**	NS	**	NS	L	NS
Acetic acid	107.497 <sup>B</sup>	127.943 <sup>A</sup>	128.770 <sup>A</sup>	133.460 <sup>A</sup>	129.277 <sup>A</sup>	134.103 <sup>A</sup>	135.127 <sup>A</sup>	1.990	**	NS	NS	NS	NS	NS
Propionic acid	43.020	48.953	46.800	49.067	42.287	50.133	49.067	0.951	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Butyric acid	52.353 <sup>B</sup>	58.953 <sup>A</sup>	61.467 <sup>A</sup>	62.400 <sup>A</sup>	62.287 <sup>A</sup>	63.467 <sup>A</sup>	63.400 <sup>A</sup>	0.819	**	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>a, b, c</sup> Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05), <sup>A, B, C</sup> Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.01), L = Linear, and Q = Quadratic, NS= Not significantly (P>0.05) \*Statistically significant different between groups (P<0.05), \*\*Statistically significant different between groups (P<0.01), SEM = Standard error of mean, <sup>#</sup>Factor A = Probiotics 0 and 2 g/kg, <sup>##</sup>Factor B = Level of TABP 0, 1, 3, and 5%, <sup>###</sup>Factor AxB= Probiotics 0 and 0.2 g/kg x Level of TABP, TABP=Trimmed asparagus by-product

**Table 2** Effects of prebiotic (TABP) and synbiotic (TABP+ Probiotics 2 g/kg) in functional feed and level of TABP supplementation in diets on small intestine histomorphology

Small intestine histomorphology of laying hens	Type of feed additives in in diets (A)							SEM	Orthogonal contrast				Trend analysis	
	Control	Prebiotic (TABP+ Probiotics 0 g/kg)			Synbiotic (TABP+ Probiotics 2 g/kg)				C vs O	A <sup>#</sup>	B <sup>##</sup>	AxB <sup>###</sup>	B <sup>##</sup>	AxB <sup>###</sup>
		Level of TABP supplementation in diets (B)			Level of TABP supplementation in diets (B)									
		1%	3%	5%	1%	3%	5%							
----- Duodenum -----														
Villus height: VH (mm)	1.338 <sup>b</sup>	1.485 <sup>a</sup>	1.502 <sup>a</sup>	1.495 <sup>a</sup>	1.463 <sup>a</sup>	1.479 <sup>a</sup>	1.459 <sup>ab</sup>	0.014	**	NS	NS	NS	NS	NS
Villus wide: VW (mm)	0.136 <sup>B</sup>	0.142 <sup>AB</sup>	0.133 <sup>B</sup>	0.143 <sup>AB</sup>	0.163 <sup>A</sup>	0.140 <sup>B</sup>	0.153 <sup>AB</sup>	0.002	*	**	*	NS	Q	NS
VSA (mm <sup>2</sup> )	0.572 <sup>C</sup>	0.660 <sup>ABC</sup>	0.629 <sup>BC</sup>	0.672 <sup>ABC</sup>	0.744 <sup>A</sup>	0.649 <sup>ABC</sup>	0.703 <sup>AB</sup>	0.013	**	*	*	NS	Q	NS
Cryptal depth: CD (mm)	0.212	0.224	0.213	0.220	0.210	0.220	0.213	0.002	NS	NS	NS	NS	NS	NS
VH:CD	6.299	6.607	7.081	6.800	6.929	6.705	6.848	0.073	NS	NS	NS	NS	NS	NS
----- Jejunum -----														
Villus height: VH (mm)	0.888	0.906	0.930	0.920	0.933	0.940	0.930	0.006	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Villus wide: VW (mm)	0.120	0.124	0.124	0.125	0.127	0.123	0.123	0.001	NS	NS	NS	NS	NS	NS
VSA (mm <sup>2</sup> )	0.336	0.355	0.363	0.361	0.373	0.364	0.360	0.003	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Cryptal depth: CD (mm)	0.1069	0.109	0.110	0.113	0.112	0.110	0.110	0.001	NS	NS	NS	NS	NS	NS
VH:CD	8.122	8.317	8.464	8.118	8.340	8.501	8.411	0.062	NS	NS	NS	NS	NS	NS
----- Ileum -----														
Villus height: VH (mm)	0.611 <sup>C</sup>	0.614 <sup>BC</sup>	0.632 <sup>ABC</sup>	0.642 <sup>A</sup>	0.622 <sup>ABC</sup>	0.639 <sup>AB</sup>	0.640 <sup>A</sup>	0.003	**	NS	*	NS	L	NS
Villus wide: VW (mm)	0.198	0.181	0.191	0.176	0.180	0.170	0.186	0.004	NS	NS	NS	NS	NS	NS
VSA (mm <sup>2</sup> )	0.380	0.350	0.379	0.356	0.352	0.342	0.374	0.007	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Cryptal depth: CD (mm)	0.085	0.089	0.090	0.090	0.089	0.091	0.091	0.001	NS	NS	NS	NS	NS	NS
VH:CD	7.193	6.903	6.997	7.109	6.978	6.983	7.018	0.045	NS	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>a, b</sup> Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05), <sup>A, B, C</sup> Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.01), L = Linear, and Q = Quadratic, NS= Not significantly different (P>0.05), \*Statistically significant different between groups (P<0.05), \*\*Statistically significant different between groups (P<0.01), SEM = Standard error of mean, <sup>#</sup>Factor A = Probiotics 0 and 2 g/kg, <sup>##</sup>Factor B = Level of TABP 0, 1, 3, and 5%, <sup>###</sup>Factor AxB= Probiotics 0 and 0.2 g/kg x Level of TABP, TABP=Trimmed asparagus by-product

การเสริมโปรไบโอติกส์ 2 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร) มีความกว้างวิลลัส ( $P<0.05$ ) และพื้นที่ผิวของวิลลัส ( $P<0.01$ ) ของลำไส้เล็ก ส่วนดูโอดีนัมมากกว่าไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์ (TABP ที่ระดับ 1, 3 และ 5 % และไม่เสริมโปรไบโอติกส์) นอกจากนี้ยังพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซินไบโอติกส์และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์มีความสูงวิลลัส ( $P<0.01$ ) ความกว้างวิลลัส ( $P<0.05$ ) และพื้นที่ผิวของวิลลัส ( $P<0.01$ ) ของลำไส้ส่วนดูโอดีนัม รวมถึงความสูงของวิลลัสของของลำไส้ส่วนไอเลียม ( $P<0.01$ ) สูงกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม ดังแสดงใน Table 2

## วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าถึงอิทธิพลร่วมของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์ร่วมกับระดับของการเสริม TABP ต่อปริมาณจุลินทรีย์ในไส้ตันของไก่ไข่ อีกทั้งไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์จาก TABP และซินไบโอติกส์ที่มีส่วนผสมของ TABP ร่วมกับโปรไบโอติกส์มีประสิทธิภาพการย่อยได้ กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในไส้ตันสูงกว่าไก่ไข่ในกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การเสริมซินไบโอติกส์ให้ผลที่ดีกว่าการเสริมโปรไบโอติกส์ในหลายค่าสังเกต ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้ถึงความสามารถของซินไบโอติกส์ที่มีการผสมผสานการทำงานของโปรไบโอติกส์ (ส่วนผสมของ TABP) จากหน่วยไม้ฝรั่งที่มีองค์ประกอบของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide: FOS) และอินนูลิน (Inulin) สูง (Huang et al., 2015) ร่วมกับโปรไบโอติกส์ ทั้งนี้โดยการทดลองก่อนหน้านี้ชี้ให้เห็นถึงผลเสริมซินไบโอติกส์ที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ รวมถึงการส่งเสริมการอยู่รอดและการเจริญเติบโตโปรไบโอติกส์ที่ได้จากการเสริมในอาหาร (Schrezenmeir and de Vrese, 2001) ทั้งนี้กลไกที่ชัดเจนที่อธิบายผลของโปรไบโอติกส์และโปรไบโอติกส์ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่นั้นยังไม่มีอธิบายอย่างสมบูรณ์ หากแต่มีหลายงานวิจัยชี้ให้เห็นถึงความสามารถของซินไบโอติกส์ (Abdelqader et al., 2013) โปรไบโอติกส์ (Mookiah et al., 2014) และโปรไบโอติกส์ (Thitaram et al., 2005) ในการจัดการนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Tang et al., 2017) กล่าวคือ ลำไส้ส่วนซีกัมเป็นส่วนที่เกิดการหมักย่อยหลักในไก่รวมทั้งยังมีจำนวนของจุลินทรีย์สูงเมื่อเปรียบเทียบกับต่อทางเดินอาหารส่วนอื่น ทั้งนี้จุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถช่วยเพิ่มการหมักย่อยในต่อทางอาหารส่วนท้ายของสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Topping and Clifton, 2001; Mac Farlane and Mac Farlane, 2003) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหมักย่อยของคาร์โบไฮเดรตโครงสร้าง โปรไบโอติกส์ และเยื่อใยอาหารที่สูงขึ้น (Józefiak et al., 2008) ทั้งนี้เอนไซม์ย่อยอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถย่อยโปรไบโอติกส์ได้ เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์หรืออินนูลิน เป็นต้น ดังนั้นโปรไบโอติกส์จึงไหลผ่านไปยังต่อทางเดินอาหารส่วนล่างจากนั้นโปรไบโอติกส์หรือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น Lactic acid bacteria (*Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp.) และ *Enterococcus* spp. เป็นต้น จึงทำการย่อยโปรไบโอติกส์อย่างสมบูรณ์และเกิดผลิตภัณฑ์ คือ แก๊ส กรดแลคติก และกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม (Short chain fatty acid) (กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก) (Nabizadeh, 2012) ส่งผลให้ลำไส้ส่วนไส้ตันมีนิเวศวิทยาเป็นสภาวะกรดที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรียให้โทษ ทั้งนี้การเพิ่มกิจกรรมการหมักและปริมาณของกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมมีความสัมพันธ์กับความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นและส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค รวมถึงการเพิ่มความสามารถในการย่อยได้ของโภชนาการในอาหาร (Józefiak et al., 2004) อีกทั้งการผลิตกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมเป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่สำคัญของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่หลังจากเสริมโปรไบโอติกส์ประเภทโอลิโกแซคคาไรด์และอาจมีประโยชน์ในการปรับปรุงสุขภาพระบบทางเดินอาหารโดยลดการเกิดโรคท้องร่วงด้วยการปรับนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ (Macfarlane et al., 2008) ทั้งนี้ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* สามารถผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติกและกรดอะซิติก เป็นต้น ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในต่อทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella*, *Campylobacter* และ *E. coli* เป็นต้น (Nabizadeh, 2012) นอกจากนี้จากรายงานของ Van der Wielen et al. (2000) แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมที่ส่งผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ก่อโรคนซีกัม โดยกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากอินนูลินเนื่องจากมีโพลีแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ (Ahmed et al., 2018) ทั้งนี้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถใช้ประโยชน์เพื่อช่วยและรักษาสุขภาพแวดล้อมระบบทางเดินอาหารให้แข็งแรง โดยการเพิ่มจำนวน

ของ *Bifidobacteria* ในระบบต่อทางเดินอาหาร ซึ่งปรากฏการณ์นี้อาจยับยั้งการถิ่นฐานและการลดจำนวนแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดในต่อทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella* sp., *E. coli*, และ *Campylobacter* sp. เป็นต้น (Charalampopolus and Rastall, 2009) อีกทั้งยังมีรายงานถึงความสามารถของ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* spp. ในการผลิตปฏิชีวนสารธรรมชาติ เช่น Lactocin, Helveticin, Curvacin, Nisin และ Ifidocin เป็นต้น ที่สามารถออกฤทธิ์อย่างกว้าง (Buclaw, 2016) อีกทั้งความสามารถในการผลิต Bacteriocin, Bacteriostatics, และ Bacteriocides ของ *Lactobacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพก่อโรค (De Maesschalck et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีการอธิบายเพิ่มเติมเกี่ยวกับการทดลองเสริมพรีไบโอติกส์จากพรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับความสัมพันธ์ของแบคทีเรียที่จำเพาะที่ตรวจพบได้จากต่อทางเดินอาหารของไก่เนื้อ เช่น *Akkermansia* (แบคทีเรียสลาย mucin) *Janthinobacterium* (แบคทีเรียที่ผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา) *Shewanella* (แบคทีเรียที่รับอิเล็กตรอนที่สามารถจับคู่การสลายตัวของสารอินทรีย์สำหรับวัฏจักรของคาร์บอน) *Butyrivibrio* และ *Coprococcus* (แบคทีเรียที่ผลิตบิวทีเรต) และ *Paludibacter* (แบคทีเรียที่ผลิตโพธิโธเนต) อีกทั้งยังชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียเหล่านี้มีอยู่ในปริมาณเล็กน้อยบนผนังเยื่อผิวของ ileum และเป็นประโยชน์ต่อไก่และแบคทีเรียอื่น ๆ ในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของลำไส้และเพิ่มพื้นที่ดูดซึมเยื่อเมือก (Everard et al., 2013; Hornung et al., 2013; Shang et al., 2018) อีกทั้งยังมีหลายงานทดลองที่ชี้ให้เห็นว่าการเสริมพรีไบโอติกส์และการเสริมซินไบโอติกส์ยังมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ที่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในต่อทางเดินอาหาร จากการทดลองของ Huang et al. (2005) ชี้ให้เห็นว่าการเสริมพรีไบโอติกส์และโปรไบโอติกส์ช่วยเพิ่มอัตราการย่อยได้และการดูดซึมโภชนะซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ส่งเสริมการพัฒนามรรณภาพของไก่ จากการทดลองของ Meng et al. (2010) แสดงให้เห็นว่าการเสริมพรีไบโอติกส์จากโอลิโกแซคคาไรด์สามารถเพิ่มอัตราการย่อยได้ของวัตถุดิบและโปรตีนของไก่

อีกทั้งการศึกษาครั้งนี้ยังชี้ให้เห็นว่าไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมพรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ที่มีส่วนผสมของ TABP ความสูงของวิลลัส ความกว้างของวิลลัส และพื้นที่ผิวของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัมสูงกว่าไก่ในกลุ่มควบคุม เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ยังช่วยลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่ก่อโทษ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ก่อโทษนั้นส่งผลเสียโดยตรงกับวิลลัสเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ก่อโทษบางชนิดจะปล่อยสารพิษออกมาทำลายเซลล์วิลลัส เช่น สารพิษ Botulinum จาก *Clostridium botulinum* นอกจากนี้จากรายงานของ Adhikari and Kim. (2017) อธิบายถึงความสามารถของพรีไบโอติกส์ในการจับและกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคโดยอาศัยตัวรับ (Receptor) ซึ่งกลไกนี้สามารถช่วยลดการเกาะจับของจุลินทรีย์ก่อโรคกับเซลล์เยื่อของลำไส้ส่งผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถยึดเกาะและตั้งถิ่นฐานบนเซลล์เยื่อลำไส้ได้ อีกทั้งจุลินทรีย์ที่เกาะจับกับพรีไบโอติกส์จะถูกขับออกจากร่างกายต่อไป (Yang et al., 2009) นอกจากนี้ Ahmed et al. (2018) อธิบายถึงกลไกหลักของพรีไบโอติกส์ คือ ภูมิคุ้มกัน ทั้งนี้ยังมีสมมติฐานที่น่าเชื่อถือเกี่ยวกับความสามารถนำใช้กรดไขมันที่ระเหยง่ายจากกระบวนการหมักย่อยด้วยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เป็นแหล่งพลังงานเพื่อกระตุ้นการพัฒนาและเพิ่มความสมบูรณ์ของเยื่อลำไส้ โดยการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจากการเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก กรดโพธิโธนิค และกรดบิวทีริก (Alloui et al., 2013) ทั้งนี้กรดบิวทีริกจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลชีพในต่อทางเดินอาหารรวมถึงมีความสำคัญในการเป็นแหล่งพลังงานประมาณ 60-70 % ของพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในของเซลล์เยื่อและกระตุ้นความสมบูรณ์ของเซลล์เยื่อลำไส้ ทั้งการพัฒนาความสูงของวิลลัสและเซลล์คริปต์เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการย่อยและการดูดซึมอาหาร ส่วนกรดอะซิติกจะถูกใช้เป็นการตั้งต้นในการสร้างไขมันและคอเลสเตอรอลและกรดโพธิโธนิคจะถูกใช้เป็นการตั้งต้นในกระบวนการกลูโคซิโนเจนิซิส (Gluconeogenesis) และลดการสังเคราะห์กรดไขมันและไขมัน (Fatty acid and lipid synthesis) จากงานวิจัยก่อนหน้าของ Eeckhaut et al. (2011) รายงานว่า กรดบิวทีริกไม่ได้มีความสำคัญเพียงแต่ให้พลังงานกับเซลล์เยื่อหากแต่สามารถต่อต้านการอักเสบและตอบสนองโดยทำหน้าที่ proinflammatory cytokines นอกจากนี้ Kridtayopas et al. (2019) อธิบายถึงผลของพรีไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์กอบเลต (Goblet cell) ซึ่งสามารถอธิบายได้ถึงความสามารถในการหลั่งน้ำเมือก (Mucus secretion) ในต่อทางเดินอาหาร ทั้งนี้ Mucus glycoprotein สามารถทำงานเป็นตัวกั้นในลำไส้ที่ทำหน้าที่ปกป้องจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและสารพิษที่ทำให้

เกิดโรคส่งผลกระทบต่อความแข็งแรงของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ โดยผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Ferket (2002) พบว่า อาหารเสริม MOS ช่วยเพิ่มความต้านทานของสัตว์ต่อโรคลำไส้และส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ และการหมักจุลินทรีย์บนเยื่อบุลำไส้ การป้องกันการตั้งถิ่นฐานของเชื้อโรคในลำไส้ การยับยั้งการยึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรค ในเยื่อบุลำไส้ การพัฒนาเยื่อบุผิวและการลดอัตราการหมุนเวียนของเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็ก อีกทั้งยังให้ผลการทดลองในแนวทางเดียวกันกับ Raksasiri et al. (2018) รายงานว่า การเสริมซินไบโอติกส์จากจุลินทรีย์ผสมอาร์ติไซค์ร่วมกับโปรไบโอติกส์การค้า Bactosac-P® ที่ระดับ 0.05% สามารถเพิ่มความสูงและความแข็งแรงของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม

## สรุป

การเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติกส์มีอิทธิพลร่วมกันกับระดับการเสริม TABP ต่อการเปลี่ยนแปลงนิเวศวิทยา ในลำไส้ต้นของไก่ไข่ ทั้งนี้การเพิ่มระดับของการเสริม TABP ในอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ กรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม และช่วยในการเพิ่มพื้นที่ผิวและความกว้างของวิลลัสของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม และช่วยเพิ่มความสูงของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนไอเลียม ทั้งนี้การเสริมซินไบโอติกส์จาก TABP ร่วมกับโปรไบโอติกส์ในอาหารส่งผลให้ไก่ไข่มีการย่อยได้ของไขมัน รวมถึงความกว้างและพื้นที่ผิวของวิลลัสของลำไส้ส่วนดูโอดินัมสูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับเสริมพรีไบโอติกส์จาก TABP นอกจากนี้การเสริมซินไบโอติกส์จาก TABP ร่วมกับโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ TABP ในอาหารยังช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบแห้ง ไขมันรวม อินทรีย์วัตถุ และพลังงานรวม อีกทั้งยังช่วยเพิ่ม ปริมาณของ Lactic acid bacteria คือ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. รวมถึง *Enterococcus* spp. และช่วยลดปริมาณของ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. นอกจากนี้สามารถพัฒนาสัญญาณวิทยาของลำไส้เล็ก คือ การเพิ่มความสูงและความกว้างของวิลลัส รวมถึงช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของวิลลัสส่วนดูโอดินัมของลำไส้เล็กดีกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม โดยการทดลองครั้งนี้ให้เห็นว่าการเสริม TABP ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับโปรไบโอติกส์ในอาหารเป็นระดับที่เหมาะสมในการช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารไก่ไข่ ทั้งนี้การทดลองครั้งนี้จะเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เศษเหลือทิ้ง ทางการเกษตรจากท้องถิ่นเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์และสนองตอบกับนโยบาย BCG Economy Model หรือรูปแบบ เศรษฐกิจจากการใช้ทรัพยากรชีวภาพอย่างคุ้มค่า การแก้ปัญหาเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรมาหมุนเวียนและเพิ่มมูลค่า รวมถึงการแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมและการลดผลกระทบต่อโลกอย่างยั่งยืน

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานบริหารการวิจัย นวัตกรรมและการ สร้างสรรค์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยและสร้างสรรค์จากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2558 และ ขอขอบคุณเกษตรกรท่านในโครงการตามพระราชประสงค์หุบกะพง อำเภอบางคนที จังหวัดเพชรบุรี ที่อนุเคราะห์ตัวอย่าง ในการวิจัย รวมถึงขอขอบพระคุณศูนย์ฝึกอบรมและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- พรพรรณ แสนภูมิ และ สุภาวดี นิมทอง. 2557. การปรับปรุงกากชาด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกส์. แก่นเกษตร. 42: 368-374.
- Abdelqader, A., A.R. Al-Fataftah and G. Daş. 2013. Effects of dietary *Bacillus subtilis* and inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology and microflora composition of laying hens in the late phase of production. *Animal Feed Science and Technology*. 179: 103–111.

- Abdel-Wareth, A.A.A., S. Hammad, R. Khalaphallah, W.M. Salem and J. Lohakare. 2019. Synbiotic as eco-friendly feed additive in diets of chickens under hot climatic conditions. *Poultry Science*. 98: 1–9.
- Adhikari, P. and W.K. Kim. 2017. Overview of Prebiotics and Probiotics: Focus on Performance, Gut Health and Immunity – A Review. *Annals of Animal Science*. 17: 949-966.
- Ahmed, M.M.N., Z.S.H. Ismail, and A.A.A. Abdel-Waret. 2018. Application of prebiotics as feed additives in poultry nutrition-a review. *Egyptian Poultry Science Journal*. 38: 207-222.
- Ahmed, S.T., Md.M. Islam, H.S. Mun, H.J. Sim, Y.J. Kim, and C.J. Yang. 2014. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens. *Poultry Science*. 93: 1963-1971.
- Alloui, M.N., W. Szczurek and S. Sienkiewicz. 2013. The usefulness of prebiotics and probiotics in modern poultry nutrition: a review. *Annals of Animal Science*. 13: 17–32
- Amad, A.A., K. Männer, K.R. Wendler, K. Neumann, and J. Zentek. 2011. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*. 90: 2811–2816.
- AOAC. 1995. Official method of analysis. 19<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.
- Awad W.A., K. Ghareeb, S. Abdel-Raheem, and J. Böhm. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chicken. *Poultry Science*. 88: 49-56.
- Ball A.S. and A.M. Jackson. 1995. The recovery of lignocellulose-degrading enzymes from spent mushroom compost. *Bioresource Technology*. 54: 311-314.
- Boguslawska-Tryk, M., A. Piotrowska, and K. Burlikowska. 2012. Dietary fructans and their potential beneficial influence on health and performance parameters in broiler chickens. *Journal of Central European Agriculture*. 13: 272–291.
- Buclaw, M. 2016. The use of inulin in poultry feeding: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 100: 1015–1022.
- Cengiz, Ö., B.H. Köksal, O. Tatlı, Ö. Sevim, and U. Ahsan. 2015. Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*. 94: 2395–2403.
- Charalampopolus, D. and R.A. Rastall. 2005. *Prebiotics and probiotics science and technology*. Springer Verlag, New York.
- Choi, J.Y., P.L. Shinde, I.K., Kwon, Y.H. Song, and B.J. Chae. 2009. Effect of wood vinegar on the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 22: 267-274.
- De Maesschalck, C., V. Eeckhaut, L. Maertens, L. De Lange, L. Marchal, C. Nezer, S. De Baere, S. Croubels, G. Daube, J. Dewulf, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, B. Taminau, and F. Van Immerseel. 2015.

- Effects of xylo-oligosaccharides on broiler chicken performance and microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*. 81: 5880–5888.
- Dibaji, S.M., A. Seidavi, L. Asadpour, and F.M. Silva. 2014. Effect of a synbiotic on the intestinal microflora of chickens. *Journal of Applied Poultry Research*. 23:1-6.
- Eeckhaut, V., F. Van Immerseel, S. Croubels, S. De Baere, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, P. Louis, and P. Vandamme. 2011. Butyrate production in phylogenetically diverse Firmicutes isolated from the chicken caecum. *Microbial Biotechnology*. 4: 503-512.
- Emami K.N, A. Samie, H.R. Rahmani, and C.A. Ruiz-Feria. 2012. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. *Animal Feed Science and Technology*. 175: 57-64.
- Everard, A., C. Belzer, L. Geurts, J.P. Ouwerkerk, C. Druart, L.B. Bindels, Y. Guiot, M. Derrien, G.G. Muccioli, N.M. Delzenne, W. M. de Vos, and P.D. Cani. 2013. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 110: 9066–9071.
- Fenton, T.W. and M. Fenton. 1979. An improved method for chromic oxide determination in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science*. 59: 631-634.
- Ferket, P.R., C.W. Parks, and J.L. Grimes. 2002. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Available: [https://www.academia.edu/10554240/BENEFITS\\_OF\\_DIETARY\\_ANTIBIOTIC\\_AND\\_MANNANOLIGOSACCHARIDE\\_SUPPLEMENTATION\\_FOR\\_POULTRY](https://www.academia.edu/10554240/BENEFITS_OF_DIETARY_ANTIBIOTIC_AND_MANNANOLIGOSACCHARIDE_SUPPLEMENTATION_FOR_POULTRY). Accessed Jan. 15, 2015.
- Gaggia, F., P. Mattarelli and B. Biavati. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*. 141: 15-28.
- Gava, M.S., L.B. Moraes, D. Carvalho, G.Z. Chitolina, L.C.B. Fallavena, H.L.S. Moraes, J. Herpich and C.T.P. Salle. 2015. Determining the best sectioning method and intestinal segment for morphometric analysis in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 17: 145-149.
- Giannenas I., D. Tontis, E. Tsalie, E.F. Chronis, D. Doukas and I. Kyriazakis. 2010. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology, microbiota in broiler chicken. *Animal Feed Science and Technology*. 89: 78-84.
- Giannenas, I., E. Tsalie, E.F. Chronis, S. Mavridis, D. Tontis and I. Kyriazakis. 2011. Consumption of *Agaricus bisporus* mushroom affects the performance, intestinal microbiota composition and morphology, and antioxidant status of turkey poults. *Animal Feed Science and Technology*. 165: 218-229.
- Hoffman-Pennesi, D. and C. Wu. 2010. The effect of thymol and thyme oil feed supplementation on growth performance, serum antioxidant levels, and cecal *Salmonella* population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*. 19: 432–443.
- Hornung, C., A. Poehlein, F.S. Haack, M. Schmidt, K. Dierking, A. Pohlen, H. Schulenburg, M. Blokesch, L. Plener, K. Jung, A. Bonge, I. Krohn-Molt, C. Utpatel, G. Timmermann, E. Spieck, A. Pommerening-Roser, E. Bode, H.B. Bode, R. Daniel, C. Schmeisser and W.R. Streit. 2013. The *Janthinobacterium*

- sp. HH01 genome encodes a homologue of the *V. cholerae* CqsA and *L. pneumophila* LqsA autoinducer synthases. PLOS One. 8: e55045.
- Huang R.L., Y.L. Yin, G.Y. Wu, Y.G. Zhang, T.J. Li, L.L. Li, M.X. Li, Z.R. Tang, J. Zhang, B. Wang, J.H. He, and X.Z. Nie. 2005. Effect of dietary oligochitosan supplementation on ileal digestibility of nutrients and performance in broilers. Poultry Science. 84: 1383–1388.
- Huang, Q., Y. Wei, Y. Lv, Y. Wang and T. Hu. 2015. Effect of dietary inulin supplements on growth performance and intestinal immunological parameters of broiler chickens. Livestock Science. 180: 172-176.
- Jeong, J.S. and I.H. Kim. 2014. Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in broilers. Poultry Science. 93: 3097-3103.
- Jin L.Z., Y.W. Ho, N. Abdullah, and S. Jalaludin. 1996. Influence of dried *Bacillus subtilis* and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 9: 397–403.
- Józefiak D., S. Kaczmarek, and A. Rutkowski. 2008. A note on the effects of selected prebiotics on the performance and ileal microbiota of broiler chickens. Journal of Animal and Feed Sciences. 17: 392–397.
- Józefiak, D., A. Rutkowski, and S.A. Martin 2004. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. Animal Feed Science and Technology. 113: 1–15.
- Khalifa, E., M. Abdel-Rahman, and K. Ghareeb. 2019. Effect of probiotic on growth performance, carcass traits, and clinical health parameters of broilers reared under heat stress in upper. Egypt. International Journal of Veterinary Science. 2: 27-44.
- Khattak, F., V. Paschalis, M. Green, J.G.M. Houdijk, P. Soutanas, and J. Mahdavi. 2018. TYPLEX® Chelate, a novel feed additive, inhibits *Campylobacter jejuni* biofilm formation and cecal colonization in broiler chickens. Poultry Science. 97: 1391-1399.
- Ko, H.G., S.H. Park, S.H. Kim, H.G. Park and W.M. Park. 2005. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species. Folia Microbiologica. 50: 103–106.
- Kridtayopas, C., C. Rakangtong, C. Bunchasak, and W. Loongyai. 2019. Effect of prebiotic and synbiotic supplementation in diet on growth performance, small intestinal morphology, stress, and bacterial population under high stocking density condition of broiler chickens. Poultry Science. 98: 4595-4605.
- Liu, X., S.B. Yoon, and I.H. Kim. 2020. Growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microbial counts, meat quality and organ weight on broilers fed with de-oiled lecithin emulsifier. Animals. 10: 478.
- Mac Farlane, S. and G.T. Mac Farlane. 2003. Regulation of short chain fatty acid production. Proceedings of the Nutrition Society. 62: 67-72.
- Mac Farlane, G.T., H. Steed, and S. Mac Farlane. 2008. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. Journal of Applied Microbiology. 104: 305–344.

- Makivic, L., M. Glisic, M. Boskovic, J. Djordjevic, R. Markovic, M. Baltic, and D. Sefer. 2019. Performances, ileal and cecal microbial populations and histological characteristics in broilers fed diets supplemented with lignocellulose. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 25: 83-91.
- Markowiak, P. and K. Slizewska. 2018. Theroleofprobiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens*. 10: 21.
- Meng, Q.W., L. Yan, X. Ao, J.D. Jang, J.H. Cho, and I.H. Kim. 2010. Effects of chitooligosaccharide supplementation on egg production, nutrient digestibility, egg quality and blood profiles in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23: 1476–1481.
- Mookiah, S., C.C. Sieo, R. Kalavathy, N. Abdullah, and Y.W. Ho. 2014. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94: 341–348.
- Mountzouris, K.C., P. Tsirsikos, I. Palamidi, A. Arvanniti, M. Mohnl, G. Schatmayr, and K. Fegeros. 2010. Effect of probiotic inclusion level in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulin, and cecal microflora composition. *Poultry Science*. 89: 588-593.
- Nabizadeh, A. 2012. The effect of inulin on broiler chicken intestinal microflora, gut morphology, and performance. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 21: 725–34.
- National Research Council. 1994. Nutrient requirement of poultry. 9<sup>th</sup> Edition. National Academy Press, Washington, D.C.
- Ndelekwute, E.K., E.D. Assam, and E.M. Assam. 2018. Apparent nutrient digestibility, gut pH and digesta viscosity of broiler chickens fed acidified water. *MOJ Anatomy & Physiology*. 5: 250-253.
- Nopparatmaitree, M., A. Panthong, S. Paengkoum, and P. Saenphoom. 2014. Evaluation of asparagus trimmed waste in laying hens diet on nutrient digestibility and productive performance. *Silpakorn University Science and Technology Journal*. 8: 72-84.
- Okechukwu, R.I., J.N. Okereke, N.E. Onyedineke, and R.K. Obi. 2011. Microbial and nutritional qualities of mushroom. *Asian journal of experimental biological sciences*. 2: 746-749.
- Pandey, K.R., S.R. Naik, and B.V. Vakil. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology*. 52: 7577–7587.
- Park, J.W., J.S. Jeong, S.I. Lee, and I.H. Kim. 2016. Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens. *Poultry Science*. 95: 2829–2835.
- Pourakbari, M., A. Seidavi, I. Asadpour, and A. Martinez. 2016. Probiotic level effects on growth performance, carcass traits, blood parameters, cecal microbiota, and immune response of broilers. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 88: 1011-1021.
- R Core Team. R. A Language and Environment for Statistical Computing. 2018. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raksasiri, B.V., P. Paengkoum, S. Paengkoum, and K. Poonsuk. 2018. The effect of supplementation of synbiotic in broiler diets on production performance, intestinal histomorphology and carcass quality. *International Journal of Agricultural Technology*. 14: 1743-1754.

- Sakamoto, K., H. Hirose, A. Onizuka, M. Hayashi, N.F., Kawamura, and Y. T. Ezaki 2000. Quantitative study of change in intestinal morphology and mucous jel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research*. 94: 99-106.
- Schrezenmeir, J. and M. de Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics – Approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 361–364.
- Shang, H.M., H. Song, S.J. Shen, X. Yao, B. Wu, L.N. Wang, Y.Y. Jiang, and G.D. Ding. 2015. Effects of dietary polysaccharides from the submerged fermentation concentrate of *Herichium caput-medusae* (Bull.Fr.) Pers. on fat deposition in broilers. *Livestock Science*. 95: 267-274.
- Shang, Y., S. Kumar, H. Thippareddi, and W.K. Kim. 2018. Effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) supplementation on ileal microbiota in broiler chickens. *Poultry Science*. 97: 3622–3634.
- Slavin, J. 2013. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrition*. 5: 417-1435.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1992. Principles and procedure statistic. 2<sup>nd</sup> Edition. McGrew-Hill Book Co Inc., Singapore.
- Sugiharto, S. 2016. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 15: 99-111.
- Synytsya, A., K. Mičková, A. Synytsy, I. Jablonský, J. Spěváček, E.V. Erban, V. Kovářřikov, J. Čopřiková, and J. Glucans. 2009. Glucans from cultivate mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*. 76: 548–556.
- Tang, S.G.H., C.C. Sieo, K. Ramasamy, W.Z. Saad, H.K. Wong, and Y.W. Ho. 2017. Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and symbiotic. *Veterinary Research*. 13: 248
- Tao, A.Y. and H.M. Tan. 2007. Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broilers fed on corn-soy diets supplemented with *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT). *Journal of Applied Poultry Research*. 16: 296-303.
- Thitaram, S.N., C.H. Chung, D.F. Day, A. Hinton, J.S. Bailey, and G.R. Siragusa. 2005. Isomalto-oligosaccharide increases cecal *Bifidobacterium* population in young broiler chickens. *Poultry Science*. 84 :998–1003.
- Topping, D.L. and P.M. Clifton. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*. 81: 1031-1064.
- Tsirtsikos, P., K. Fegeros, C. Balaskas, A. Kominakis, and K.C. Mountzouris. 2012. Dietary probiotic inclusion level modulates intestinal mucin composition and mucosal morphology on broilers. *Poultry Science*. 91: 1860-1868.
- Van der Wielen, P.W., S. Biesterveld, S. Notermans, H. Hofstra, B.A. Urlings, and F. van Knapen. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microbiota in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology*. 66: 2536–2540.

- Vermeulen, K., J. Verspreet, C.M. Courtin, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, and F. Van Immerseel. 2017. Reduced particle size wheat bran is butyrogenic and lowers *Salmonella* colonization, when added to poultry feed. *Veterinary Microbiology*. 198: 64-71.
- Viera-Alcaide, I., A. Hamdi, R. Rodríguez-Arcos, R. Guillén-Bejarano, and A. Jiménez-Araujo. 2020. Asparagus cultivation co-products: from waste to chance. *Journal of Food Science and Nutrition*. 6: 057
- Wang, Z.R., S.Y. Qiao, W.Q. Lu, and D.F. Li. 2005. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. *Poultry Science*. 84: 875–881.
- Xu, Z.R., X.T. Zou, C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan, and M.Q. Wang. 2003. Effects of dietary fructo-oligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Journal of Poultry Science*. 82: 1030-1036.
- Yang, G., Q. Yin, H.Y. Liu, and G.H. Liu. 2016. Effects of dietary oligosaccharide supplementation on growth performance, concentrations of the major odor-causing compounds in excreta, and the cecal microflora of broilers. *Poultry Science*. 95: 2342-2351.
- Yang, Y., P.A. Iji, and M. Choct. 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: A review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *Worlds. Poultry Science Journal*. 65: 97-114.
- Zhao, Y., J. Li , W. Hao, H. Zhu, N. Liang, Z. He, K.Y. Ma, and Z.Y. Chen. 2017. Structure-specific effects of short-chain fatty acids on plasma cholesterol concentration in male Syrian hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65: 10984-10992.