



วิทยานิพนธ์

การศึกษาชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และ
ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับ
ลูกสุกรหย่านม

**Studies on Lactic Acid Bacteria in Ensilaged Cassava Pulp and
Effect of Ensilaged Cassava Pulp as Probiotics of
Weaned Pig Diet**

นางสาวกฤติกา กาบพลอย

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์

สัตวบาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม

Studies on Lactic Acid Bacteria in Ensilaged Cassava Pulp and Effect of Ensilaged Cassava Pulp as Probiotics of Weaned Pig Diet

นามผู้วิจัย นางสาวกฤติกา กาบพลอย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อุทัย กันโร, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์สุกัญญา จิตตพรพงษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ณัฏฐ์ กันตรึงกิจ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมากร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 16 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษานิคแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และผลการใช้
กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม

Studies on Lactic Acid Bacteria in Ensilaged Cassava Pulp and Effect of Ensilaged
Cassava Pulp as Probiotics of Weaned Pig Diet

โดย

นางสาวกฤติกา กาบพลอย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

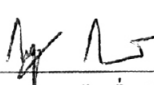
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

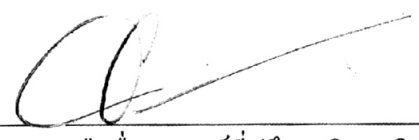
พ.ศ. 2551

กฤติกา กาบพลอย 2551: การศึกษาชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และผล
การใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม ปรินญาวิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์
ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อุทัย คั่นโ, วท.ม. 80 หน้า

การหมักกากมันสำปะหลังสดในสภาพไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 3 วันทำให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรด
แลคติกและยีสต์เพิ่มสูงขึ้นจาก 2.2×10^6 CFU/g และ 2.6×10^7 CFU/g เป็น 8.7×10^7 CFU/g และ 3.5×10^7 CFU/g
ตามลำดับ แต่ไม่พบ *E. coli* ทั้งในกากมันสำปะหลังสด และกากมันสำปะหลังหมัก และเมื่อนำแบคทีเรียที่แยก
ได้จากกากมันสำปะหลังหมักมาตรวจสอบชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกโดยวิธีการทางชีวเคมีสามารถจำแนก
แบคทีเรียได้ดังนี้ คือ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus manihottivorans*,
Bacillus stearothermophilus, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pumilus*, *Leuconostoc*
pseudomesenteroides, *Leuconostoc mesenteroides* (*Streptococcus* spp. G.L) และ *Streptococcus uberis*

ในการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม วางแผนการ
ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ใช้สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ
×ดুরอกเจอร์ซี่) หย่านมอายุ 28 วัน คละเพศ จำนวน 128 ตัว แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 16 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว สุ่มให้
ทุกกลุ่มได้รับอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วันแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0, 3, 6
และ 9 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร พบว่าการเพิ่มกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรีย
ผลิตกรดแลคติกในลำไส้เล็ก และสัดส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก/*E. coli* ในลำไส้ใหญ่เพิ่มสูงขึ้น
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ปริมาณ *E. coli* ในทุกกลุ่มการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทาง
สถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับ สัดส่วนของปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก/ *E. coli* ในลำไส้เล็ก และปริมาณ
แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในลำไส้ใหญ่ สำหรับค่าความเป็นกรด-เบส ในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ในทุกกลุ่ม
การทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ปริมาณกรดแลคติกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น
($P = 0.087$) เมื่อเสริมกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร อีกทั้งยังส่งผลให้ความสูงของวิลโล และอัตราส่วน
ระหว่างความสูงวิลโลต่อความลึกครีปท์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ความลึกครีปท์มีเพียง
แนวโน้มลดลง ($P = 0.0659$) ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่แตกต่างกันอย่างไม่มี
นัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้นปริมาณกรดอะซิติกในลำไส้ใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P = 0.12$) สำหรับอัตรา
การเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร และ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทาง
สถิติ ($P > 0.05$)


ลายมือชื่อนิสิต


ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

1, ๒๕๕1

Krittika Kabploy 2008: Studies on Lactic Acid Bacteria in Ensilaged Cassava Pulp and Effect of Ensilaged Cassava Pulp as Probiotics of Weaned Pig Diet. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technology), Major Field: Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Uthai Kanto, M.S. 80 pages.

Ensilaging of cassava pulp for 3 days increased population of lactic acid bacteria and yeasts from 2.2×10^6 CFU/g and 2.6×10^7 CFU/g to 8.7×10^7 CFU/g and 3.5×10^7 CFU/g respectively. *E. coli* was not found in both fresh and ensilaged cassava pulp. The bacteria isolated from ensilaged cassava pulp were identified as *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus manihottivorans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pumilus*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* (*Streptococcus* spp. G.L) and *Streptococcus uberis*.

Effect of ensilaged cassava pulp as probiotics of weaned pig diet was studied by using completely randomized design (CRD). One hundred and twenty eight weaned pigs aged 28 days were divided into 16 group of 8 animals each. Each group of the animals was kept in metal pen where feed and water were provided *ad libitum*. The animal in each group was randomly fed an experiment diet containing 0%, 3%, 6% or 9% ensilaged cassava pulp in diet. Pigs fed an increasing dietary levels of ensilaged cassava pulp have shown a significant increased ($P < 0.05$) in population of lactic acid bacteria in jejunum+ileum and lactic acid bacteria/ *E. coli* ratio in the colon. There were no significant differences ($P > 0.05$) in pH value in the digestive tract of animals fed experimental diets but increase of ensilaged cassava pulp trend to increased lactic acid content in digestive of the animals ($P = 0.087$). Increasing of ensilaged cassava pulp from 3%, 6% and 9% in the diet have significantly increase ($P < 0.05$) villus height and villus height/crypt depth but trended to decrease crypt depth ($P = 0.0659$). There were no significant different in volatile fatty acid concentration in digesta at small intestine among the animals fed experimental diets. Pigs on every experimental diets had no significant difference ($P > 0.05$) in average weight gain, average feed intake, average dairy gain and feed conversion ration.

Krittika Kabploy

Student's signature

Uthai Kanto May 1, 2008

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์อุทัย คั่นโ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ ดร. มณี ดันติรุ่งกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์รอง เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและคำแนะนำในการทดลองอย่างใกล้ชิด ตลอดจนการเขียนรายงานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ ขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นวลจันทร์ พารักษา และรองศาสตราจารย์ ดร. ไพโชค ปัญจะ อาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณอาจารย์สุริยะ สะวานนท์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้

ขอขอบพระคุณ มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณบริษัทเป่งมันสำปะหลังบ้านโป่ง จ.ราชบุรี ที่เอื้อเฟื้อน้ำมันสำปะหลังสำหรับงานวิจัย ขอขอบคุณฟาร์มคุณบุญส่ง แซ่ลี้ม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และสัตว์ทดลองในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ และภาควิชา สัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิเคราะห์อาหารทดลอง รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานจุลชีววิทยาประยุกต์ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับทำการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อจารึก กาบพลอย และคุณแม่กันทิมา กาบพลอย ที่ให้โอกาสในการศึกษามาโดยตลอด พร้อมทั้งเป็นกำลังใจ และเป็นแบบอย่างที่ดีสอนให้รู้ถึงความพยายามและความอดทน ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้อง และเพื่อนๆ ทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือ และสนับสนุนข้าพเจ้าเสมอมา คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

กฤติกา กาบพลอย

มีนาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	39
สรุปและข้อเสนอแนะ	53
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	56
ภาคผนวก	69

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลัง	6
2	องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง	12
3	ปฏิกิริยาการหมักคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก	15
4	สูตรอาหารและองค์ประกอบทางโภชนาการทดลอง 4 สูตรในระยะสุกรหย่านม	29
5	ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก ยีสต์ และ <i>E. coli</i> ในกากมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังหมัก	39
6	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของกากมันสำปะหลัง กากมันสำปะหลังหมัก และอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร	43
7	ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และ <i>E. coli</i> ในอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร	44
8	ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก <i>E. coli</i> และอัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกต่อ <i>E. coli</i> ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียม และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง 4 สูตร	45
9	ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลกติกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียม และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง 4 สูตร	47
10	ลักษณะโครงสร้างวิลไล และคริปต์ของเยื่อพิวมิวโคซาของลำไส้เล็กส่วนอิลีียมของลูกสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง 4 สูตร	48
11	ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียม และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง 4 สูตร	50
12	ผลการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรหย่านมที่กินอาหารทดลอง 4 สูตร	51

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ลักษณะสำหรับจำแนก <i>Lactobacillus</i> spp.	73
2	ลักษณะสำหรับจำแนก <i>Streptococcus</i> spp.	76
3	ลักษณะสำหรับจำแนก <i>Bacillus</i> spp.	78
4	ลักษณะสำหรับจำแนก <i>Leuconostoc</i> spp.	79

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การสลายตัวของกลูตามาริน และโลทรอสตราลิน เกิดสารพิษกรดไฮโดรไซยานิก	7
2	การรวมตัวของไซยาไนด์กับไทโอซัลเฟตได้สารประกอบของไทโอไซยาเนต	9
3	กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลัง	10
4	กระบวนการเมแทบอลิซึมโดยอาศัยกลูโคส และฟรุกโตสของ homofermentative lactic acid bacteria โดย glycolysis หรือ Embden Meyerhof pathway	16
5	กระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสและฟรุกโตสของ heterofermentative lactic acid bacteria โดย phosphoketolase pathway	17
ภาพผนวกที่		
1	การวัดความยาววิลไล และความลึกคริปต์ โดยใช้กล้องโทรทรรศน์กำลังขยาย objective 40X	80

การศึกษาชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และผลการใช้กาก มันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม

Studies on Lactic Acid Bacteria in Ensilaged Cassava Pulp and Effect of Ensilaged Cassava Pulp as Probiotics of Weaned Pig Diet

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจของไทยอีกชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกในเกือบทุกภาคในประเทศ โดยเฉพาะในพื้นที่ที่ไม่สามารถปลูกพืชอื่นได้ดี ทั้งนี้เพราะมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนทาน ต่อสภาพดินฟ้าอากาศแห้งแล้ง ใช้ต้นทุนในการปลูกต่ำ ประกอบกับมีศัตรูพืชน้อย มันสำปะหลังที่ผลิตได้จะนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิด ประมาณครึ่งหนึ่งของผลผลิตทั้งหมดจะนำไปแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลังเพื่อเป็นอาหารมนุษย์ และส่วนที่เหลือจะถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ มันเส้นและมันอัดเม็ด เป็นต้น ปัจจุบันยังมีการนำกากมันสำปะหลังซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์อีกด้วย

ผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง (มันเส้น มันอัดเม็ด และกากมันสำปะหลัง) เหมาะที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ระยะเล็ก เนื่องจากแป้งของมันสำปะหลังนั้นเป็นแป้งอ่อน ย่อยได้ง่าย สัตว์จึงสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ อีกทั้งในตัวมันสำปะหลังเองก็มีจุลินทรีย์ธรรมชาติที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้อีกด้วย (กานดา, 2546)

การใช้กากมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศนั้นยังไม่เป็นที่นิยม ถึงแม้ว่าจะมีราคาถูก ทั้งนี้เนื่องจากมีโปรตีนต่ำ และปริมาณเยื่อใยสูง การใช้กากมันสำปะหลังผสมเป็นอาหารสัตว์จึงจำเป็นต้องเพิ่มโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารของกากมันสำปะหลังให้มากขึ้น โดยการหมักด้วยจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ซึ่งแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลัง (50-60 เปอร์เซ็นต์) สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ดีจึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก (อจลริยา, 2529; เสริมศักดิ์, 2546) อีกทั้งการหมักยังสามารถเพิ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่เป็นประโยชน์ต่อทางเดินอาหารสัตว์ (วราพันธุ์ และคณะ, 2549)

ในอดีตการเลี้ยงสัตว์ส่วนใหญ่มีการใช้ยาปฏิชีวนะกันมาก และมักพบปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะ Oxytetracyclin, Sulfadiazine, Tetracyclin ในตับไก่ และพบ Oxytetracyclin, Sulfametrazine ในเนื้อ, ตับ และไตของสุกร (ศรีสุข, 2540) การตกค้างเหล่านี้จะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค สหภาพยุโรปจึงประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะกับสัตว์ที่จะส่งออกเนื้อสัตว์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 ทำให้ต้องมีการหาสารทดแทนยาปฏิชีวนะที่ไม่มีผลตกค้าง และสามารถเพิ่มการเจริญเติบโต และลดแบคทีเรียที่ให้โทษในสัตว์ได้

ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เกิดจากการหมักกากมันสำปะหลัง พร้อมทั้งทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียผลิตภัณฑ์แลคติกเพื่อนำไปใช้เสริมให้กับสัตว์ในรูปของโปรไบโอติก ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มสมรรถภาพการผลิต และทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น โดยไม่มีสารพิษตกค้างในสัตว์อีกต่อไปจะส่งผลถึงผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าและคุณค่าในการใช้กากมันสำปะหลังในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่ได้จากกากมันสำปะหลังหมัก
2. เพื่อศึกษาสัดส่วนประชากรจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และที่ก่อโรคในทางเดินอาหารสุกรหย่านมที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร
3. เพื่อศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของทางเดินอาหารสุกรหย่านมที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร
4. เพื่อศึกษาค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในทางเดินอาหารสุกรหย่านมที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร
5. เพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังหรือที่เรียกกันทั่วไปเป็นภาษาอังกฤษว่า Cassava และ Tapioca เป็นพืชที่จัดว่าเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญที่สุดซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา ในประเทศไทยไม่มีหลักฐานว่ามีการปลูกมันสำปะหลังตั้งแต่เมื่อใด แต่คาดว่ามันสำปะหลังได้ถูกนำเข้าประเทศไทยจากประเทศมาเลเซีย ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ได้จัดมันสำปะหลังไว้เป็นหมวดหมู่ดังนี้ (กรมวิชาการเกษตร, 2537)

ORDER : GERANIALES *or* EUPHORBIALES
 CLASS : DICOTYLEDONEAE
 SUB-CLASS : ARCHICHLAMYDEAE
 SUB-DIVISION: ANGIOSPERMAE
 FAMILY : EUPHORBIACEAE
 TRIBE : MANIHOTEAE
 GENUS : MANIHOT

ชนิดของมันสำปะหลัง

โดยทั่วไปจำแนกมันสำปะหลังออกตามปริมาณของสารพิษในมันสำปะหลังคือกรดปรัสติก (prussic acid) หรือ กรดไฮโดรไซยานิก (hydrocyanic acid) ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ และแบ่ง มันสำปะหลังออกเป็น 2 ชนิด (อัจฉรา และ จรุงสิทธิ์, 2547) คือ

1. ชนิดขม (bitter variety) เป็นมันสำปะหลังที่มีลักษณะใบใหญ่ ก้านสีเขียว หัวมีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง เนื้อหยาบ ค่อนข้างขม ไม่เหนียว มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกในหัวมันสดสูง ไม่เหมาะสำหรับการบริโภคของมนุษย์ หรือให้หัวสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง แต่จะใช้สำหรับแปรรูปเป็น แป้งมัน มันเส้น มันอัดเม็ด เป็นต้น ปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกในหัวมันสดนั้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เช่น พันธุ์ระยอง 1 มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกเท่ากับ 43 พีพีเอ็ม, พันธุ์ระยอง 3 มี

ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกเท่ากับ 34 พีพีเอ็ม และ พันธุ์ระยอง 60 มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกเท่ากับ 60-83 พีพีเอ็ม เป็นต้น

2. ชนิดหวาน (sweet variety) มันสำปะหลังชนิดนี้ใบเล็กกว่าชนิดขม มีก้านสีแดงสด มีเปอร์เซ็นต์แป้งน้อยกว่าชนิดขม เนื้อละเอียด รสหวาน ใช้ในการบริโภคของมนุษย์ มีเปอร์เซ็นต์ของกรดไฮโดรไซยานิกต่ำกว่าชนิดขม คือ พันธุ์มันห่านาที่ ซึ่งมีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิก 12 พีพีเอ็ม

องค์ประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลัง

หัวมันสำปะหลังเป็นส่วนรากที่สะสมแป้ง ซึ่งหัวมันสำปะหลังสดมีน้ำอยู่ประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบส่วนใหญ่คือแป้ง หรือคาร์โบไฮเดรตประมาณ 20-35 เปอร์เซ็นต์ (พวงเพชร, 2547) ซึ่งกล้าณรงค์ (2542) ได้รวบรวมส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังไว้ดังตารางที่ 1

มันสำปะหลังถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังและแป้งดัดแปลงมากที่สุด ปริมาณคาร์โบไฮเดรต หรือปริมาณแป้งจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดขององค์ประกอบทั้งหมด โดย Ketiku and Oyenuga (1972) ได้รายงาน bahwa หัวมันสำปะหลังสดมีคาร์โบไฮเดรต 30-35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบไปด้วยแป้ง น้ำตาล เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และเซลลูโลส (cellulose) โดยมีแป้งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ประมาณ 64-72 เปอร์เซ็นต์ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งแป้งดังกล่าวนี้เป็นแป้งอ่อนจึงทำให้มีการย่อยได้สูงเหมาะสำหรับเป็นอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว (สาโรช และคณะ, 2527)

หัวมันสำปะหลังมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและกรดอะมิโนต่ำ อีกทั้งโปรตีนมีคุณภาพต่ำด้วย โดยกรดอะมิโนที่มีมากที่สุดคืออาร์จินีน ส่วนเมทไธโอนีน ไลซีน ทรีโตนเฟน ฟีนิลอะลานีน และไทโรซีนนั้นมีในปริมาณต่ำ (Onwueme, 1978) ดังนั้นการใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานทดแทนแหล่งธัญพืชในอาหารสุกรจะให้ผลดีต้องขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณภาพของวัตถุดิบอาหารโปรตีนที่นำมาเสริมเพื่อชดเชยปริมาณโปรตีนที่ไม่เพียงพอและทำให้กรดอะมิโนเมทไธโอนีนและกรดอะมิโนจำเป็นอื่นๆ เพิ่มขึ้นจนเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์

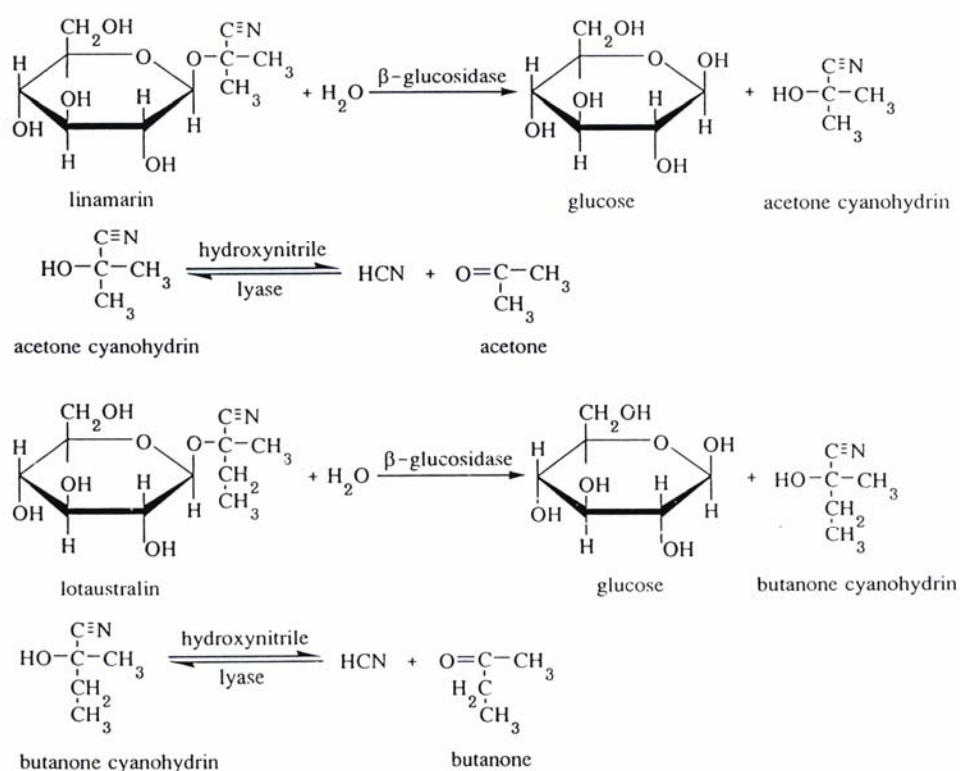
ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลัง

ส่วนประกอบ	เจริญศักดิ์ (2532)	Shipman (1967)	Grace (1977)	Beynum and Roles (1985)	Gomez <i>et al.</i> (1985)	Balagopaln <i>et al.</i> (1988)
ความชื้น (%)	63.28	70	70.25	66	-	59
คาร์โบไฮเดรต (%)	29.73	24	26.58	26	-	38.1
โปรตีน (%)	1.18	1	1.12	1	1-2	0.7
ไขมัน (%)	0.08	3	0.41	0.3	0.2-0.5	0.2
เถ้า (%)	0.85	-	0.54	-	1-2	1
เยื่อใย (%)	0.99	2	1.11	1	1.5-2	0.6
ฟอสฟอรัส (มก./กก.)	0.04	-	-	-	-	40
โพแทสเซียม (มก./กก.)	0.26	-	-	-	0.07	-

หมายเหตุ - ไม่มีรายงาน

ที่มา: กัลยานรงค์ (2542)

นอกจากนี้ในมันสำปะหลังยังมีสารพิษกรดไฮโดรไซยานิกที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบไซยาโนเจนิกกลูโคไซด์(cyanogenic glucosides) โดยที่ในสารไซยาโนจีนิกกลูโคไซด์นี้จะประกอบไปด้วยสาร 2 ชนิดหลัก ๆ คือ ลินามาริน (linamarin) ที่สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนวาลีน (valine) ประมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ และโลทอสตราลิน (lotaustralin) ที่สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไอโซลิวซีน (isoleucine) ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ (Onwueme, 1978; Onwueme and Charles, 1994) สารพิษไซยาโนจีนิก กลูโคไซด์นี้อยู่ในเนื้อเยื่อของพืช เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายด้วยการหั่น หรือการสับ เอนไซม์ลินามาเรส (linamarase) ที่อยู่ในเซลล์ของหัวมันสำปะหลังจะทำการย่อยสลายสารลินามารินได้กรดไฮโดรไซยานิก กลูโคส และอะซิโตน ส่วนสารโลทอสตราลินจะสลายตัวเกิดเป็นกรดไฮโดรไซยานิก กลูโคส และบิวทาโนน (Nartey, 1973) ดังแสดงในภาพที่ 1 ส่วนของกรดไฮโดรไซยานิกจะระเหยออกสู่บรรยากาศ ทำให้กรดไฮโดรไซยานิกในชิ้นเนื้อมันสำปะหลังมีปริมาณลดลง



ภาพที่ 1 การสลายตัวของลินามาริน และโลทอสตราลินเกิดสารพิษกรดไฮโดรไซยานิก

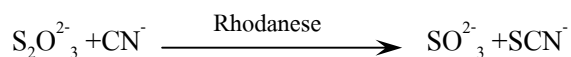
ที่มา: Nartey (1973)

การลดความเป็นพิษของกรดไฮโดรไลซายานิกในมันสำปะหลัง

ปริมาณสารพิษกรดไฮโดรไลซายานิกในมันสำปะหลังจะลดลงในขบวนการแปรรูปก่อนการใช้เป็นอาหารสัตว์ ดังนี้

1. การลดปริมาณสารพิษโดยขบวนการแปรรูปมันสำปะหลังก่อนนำไปเลี้ยงสัตว์ เช่น ผ่านหรือหั่นห้วมันสำปะหลังเป็นชิ้นเล็กๆ และผึ่งแดดให้แห้ง การแช่น้ำ การตำ การคั่ว การหมัก โดยพบว่าการสับห้วมันสำปะหลังสดเป็นชิ้นเล็กแล้วตากให้แห้งใช้เวลา 3-4 แดดนั้นจะสามารถลดระดับกรดไฮโดรไลซายานิกให้ต่ำลงจนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์ การตากชิ้นมัน 6 แดดจะสามารถลดระดับสารพิษกรดไฮโดรไลซายานิกจาก 111.63 พีพีเอ็ม ลงเหลือ 22.97 พีพีเอ็ม นอกจากนี้การเก็บชิ้นมันสำปะหลังที่แห้งแล้วไว้ในโกดังชั่วระยะเวลาหนึ่งก่อนนำไปใช้ อาทิเมื่อเก็บชิ้นมันเส้นไว้ 5 วัน จะสามารถลดระดับสารพิษจาก 87.14 พีพีเอ็ม เหลือ 36.25 พีพีเอ็ม การใช้ไอน้ำในการอัดเม็ดมันสำปะหลังจะลดสารพิษลงเหลือ 11.82 พีพีเอ็ม (Khajareern *et al.*, 1979) อุทัยและสุกัญญา (2547) กล่าวว่ามันเส้นคุณภาพดีที่ระดับความชื้นไม่เกิน 13 เปอร์เซ็นต์จะทำให้มีกรดไฮโดรไลซายานิกต่ำกว่า 30 พีพีเอ็ม นอกจากนี้การหมักมันสำปะหลังสามารถลดความเป็นพิษลงได้ซึ่งเจริญศักดิ์ (2519) กล่าวว่ากรดสารพิษในมันสำปะหลังด้วยการหมักนั้นเกิดจากแบคทีเรีย *Corynebacterium* ใช้แบ่งทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบไซยาโนจินิกกลูโคไซด์ได้กรดไฮโดรไลซายานิกละลายออกไปกับน้ำ

2. การขจัดความเป็นพิษโดยร่างกายสัตว์ สัตว์สามารถขจัดสารพิษกรดไฮโดรไลซายานิกออกจากร่างกายได้ถ้าอาหารมีไวตามีนบี12 และกรดอะมิโนที่มีกำมะถัน เช่น เมทไธโอนีน ซีสเทอีน ซีสเทอีน พอเพียงในสูตรอาหาร เมื่อร่างกายสัตว์ได้รับสารพิษนี้ ร่างกายสัตว์สามารถกำจัดกรดไฮโดรไลซายานิกได้ โดยการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่เป็นพิษคือในรูปของไทโอซัลเฟต และขับออกนอกร่างกายทางปัสสาวะ ปฏิกิริยานี้ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ตับโดยเอนไซม์โรดานีส (rhodanese) และยังสามารถพบเอนไซม์นี้ในเนื้อเยื่อไต และไตรอยด์ โดยไปเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างไซยาไนด์กับสารไทโอซัลเฟต ได้เป็นสารไทโอไซยาเนต (thiocyanate) ดังแสดงในภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าการกำจัดพิษจะมีประสิทธิภาพเพียงใดขึ้นอยู่กับสารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบในร่างกายสัตว์และจากอาหารที่ได้รับ (สาโรช และเขาวมาลย์, 2528)



ภาพที่ 2 การรวมตัวของไซยาไนด์กับไทโอซัลเฟตได้สารประกอบของไทโอไซยาเนต

ที่มา: Cheeke and Shull (1985)

การแปรรูปมันสำปะหลัง

1. อุตสาหกรรมมันเส้น

มันเส้น (cassava chips) ได้จากการนำหัวมันสำปะหลังสดเข้าเครื่องหั่นที่เรียกว่า เครื่องโม่ มันเส้น ซึ่งจะหั่นหัวมันสดเป็นชิ้น ๆ แล้วนำไปตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 3-4 วัน หรืออาจนำไปอบแห้งแต่ต้องเพิ่มต้นทุนด้านเชื้อเพลิง การผลิตมันเส้น 1 กิโลกรัมต้องใช้หัวมันสำปะหลังสด 2-2.50 กิโลกรัม ปัญหาทางด้านการผลิตคือ ถ้าผู้ผลิตมันเส้นไม่ตากมันเส้นให้ความชื้นลดลงจนได้ระดับมาตรฐาน (14 เปอร์เซ็นต์) ความชื้นที่สูงจะทำให้เกิดเชื้อรา และแบคทีเรีย และถ้านำมันเส้นที่มีความชื้นสูงไปแปรรูปเป็นมันอัดเม็ดก็จะทำให้มันอัดเม็ดนี้ไม่จับก้อนแข็งเท่าที่ควร (พวงเพชร, 2547)

2. อุตสาหกรรมมันอัดเม็ด

มันอัดเม็ด (cassava pellets) เป็นการแปรรูปมันเส้นเพื่อให้มีปริมาตรลดลง มีความแน่นมากขึ้น ลดการเป็นฝุ่น สะดวกในการขนย้ายและขนถ่ายแบบเทกอง โดยกระบวนการอัดเม็ดมันสำปะหลังแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ การอัดเม็ดแข็ง และการอัดเม็ดนุ่ม แต่ปัจจุบันนิยมใช้การอัดเม็ดแข็งมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากการอัดเม็ดแข็งมีการใช้น้ำในกระบวนการอัดเม็ด ทำให้เม็ดมันสำปะหลังมีความคงทน ไม่แตกง่าย และลดปัญหาการแตกเป็นฝุ่นเหมือนชนิดเม็ดนุ่ม (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2537)

3. อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง

หัวมันสำปะหลังมีแป้งเป็นส่วนประกอบประมาณ 20-35 เปอร์เซ็นต์แป้งมันสำปะหลังที่สกัดจากหัวมันสำปะหลังเรียกว่า แป้งดิบ (native starch) ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิตดังภาพที่ 3 อัตราการแปรรูปจากหัวมันสดเป็นแป้งมันขึ้นอยู่กับปริมาณของแป้งในหัวมันสด ถ้าหัวมันสดมีแป้ง

ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ จะใช้หัวมันสด 5 กิโลกรัมในการผลิตแป้ง 1 กิโลกรัม และจะได้กากมันประมาณ 0.4-0.5 กิโลกรัม ปัจจุบันอุตสาหกรรมแป้งมันมีกำลังการผลิตรวมกัน 2.5 ล้านตันต่อปี (พวงเพชร, 2547)

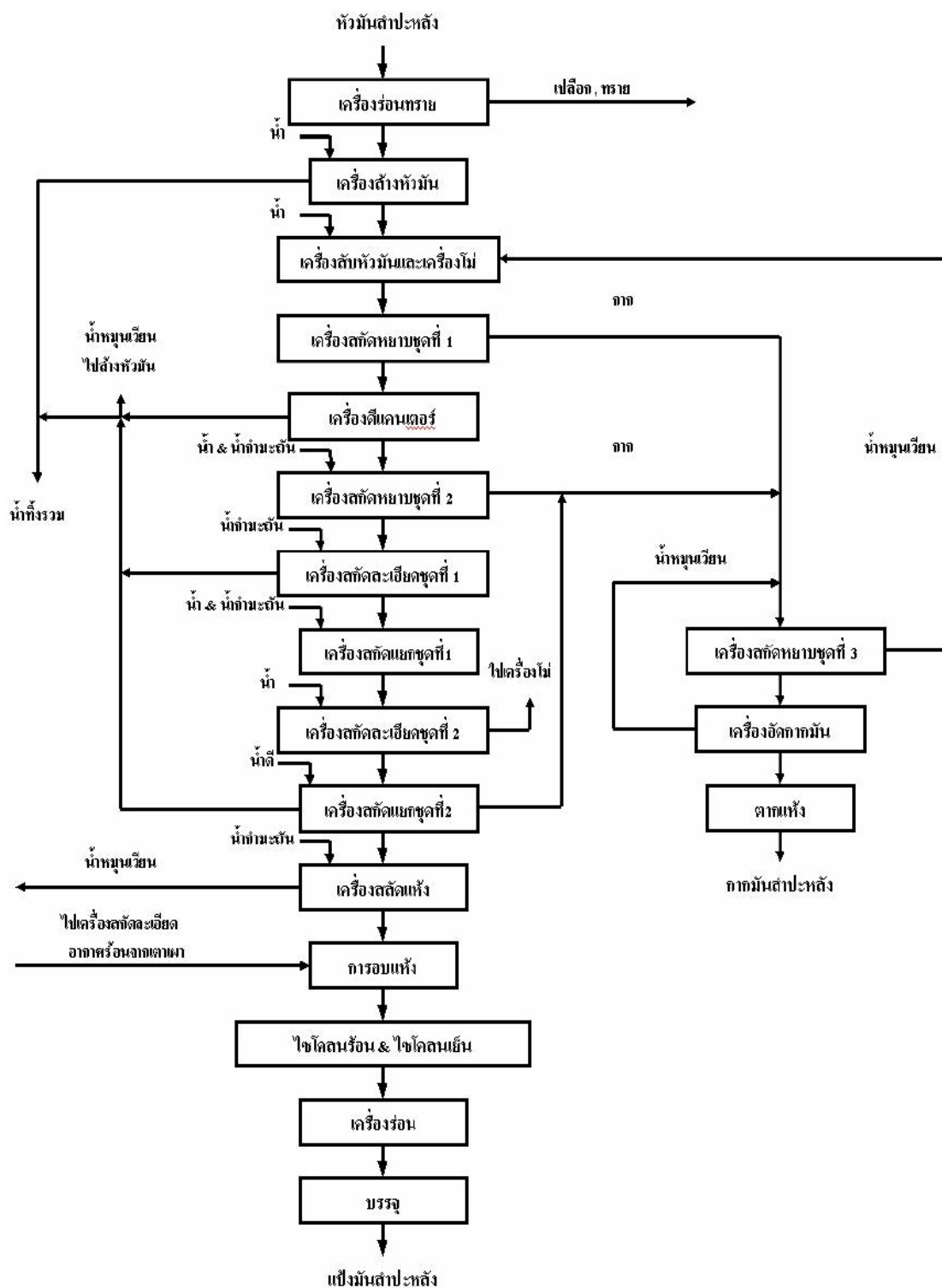
กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังดังแสดงภาพที่ 3 ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการใช้มากที่สุดในประเทศไทย แป้งที่ได้นั้นมีคุณภาพสูง มีสิ่งแปลกปลอมน้อย จากการสำรวจในช่วง พ.ศ. 2530-2540 ประเทศไทยสามารถผลิตแป้งได้ในปริมาณปีละ 2.5 ล้านตัน และมีการส่งออกไปต่างประเทศประมาณ 7 แสนตัน ส่วนที่เหลือใช้ภายในประเทศ โดยในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังได้กากมันสำปะหลังประมาณ 2.5-3.0 ล้านตันต่อปี ซึ่งหากนำกากแป้งมันสำปะหลังไปแปรรูปเพิ่มมูลค่าได้ ก็จะส่งผลทำให้มูลค่าของมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้น (กล้าณรงค์, 2542)

องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังสดมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นพวกคาร์โบไฮเดรต และมีโปรตีน ไขมัน และแร่ธาตุอยู่ในปริมาณต่ำ จิราภรณ์ (2525) รายงานว่า กากมันสำปะหลังมีแร่ธาตุ Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} และ Zn^{2+} อยู่ประมาณ 155, 40, 1,100, 4 และ 21 มก./กก. ตามลำดับ กากมันสำปะหลังที่ใช้อยู่ในประเทศในนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายลักษณะ โดยแต่ละลักษณะมีองค์ประกอบแตกต่างกันออกไป สรุปได้ดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังเป็นพวกคาร์โบไฮเดรต มีโปรตีนอยู่ในปริมาณต่ำมาก จึงมักขายไปในราคาถูกเพื่อนำไปผสมอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์ โดยใช้เป็นแหล่งของพลังงาน แต่เนื่องจากกากมันสำปะหลังยังมีแป้งหลงเหลืออยู่ในปริมาณสูง จึงน่าที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักได้ โดยจุลินทรีย์สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ดี (อจนิยา, 2529; เสริมศักดิ์, 2546)



ภาพที่ 3 กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ที่มา: มูลนิธิสถาบันมันสำปะหลังแห่งประเทศไทย (2546)

การใช้กากมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

ชนิดกากมัน	องค์ประกอบทางเคมี (%)							ที่มา
	ความชื้น	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	เยื่อใย	เถา	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส
กากมันสด	80	1	18.8	0.5	1.5	1.5	-	-
กากมันทั่วไป	12.74	1.75	65.03	0.48	9.24	10.76	0.39	0.05
กากมันแห้ง	11.27	1.83	-	0.48	10.08	3.64	0.6	0.36
กากมันแห้ง	13.2	1.04	78.8	0.8	5.3	2.8	-	0.04
กากมันอบแห้ง	13.86	2.3	71.7	1	9.6	1.5	0.04	-
กากมันตากแห้ง	13.47	2.3	67.5	0.7	9.8	6.2	0.03	-
กากมันหมักที่ 72 ชม.	80.98	1.64	-	-	14.31	-	-	-

ที่มา: 1. ทวี (2527)

2. ชวนิตินดากร (2500)

3. เสาวนิตย์ (2527)

4. อุทัย และคณะ (2548)

5. วราพันธุ์ และคณะ (2549)

ในการศึกษาถึงการนำกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นอาหารสัตว์พบว่า กากมันสำปะหลังที่ได้จากอุตสาหกรรมแป้ง และสารให้ความหวานนั้นจะมีความชื้นประมาณ 65-75 เปอร์เซ็นต์ (สุกัญญา และผกาพรรณ, 2545) ทำให้ไม่สามารถเก็บได้นานเพราะกากมันสำปะหลังจะบูดได้ง่าย วิธีที่ดีที่สุดคือทำให้แห้งและเก็บไว้ใช้ ก่อนตากแห้งควรใช้เครื่องอัดบีบน้ำออกให้มากที่สุดจนเหลือกากที่เหมาะสมพอตากแดดได้ง่ายเพื่อลดเวลาตากแห้งและไม่ทำให้กากมันสำปะหลังนั้นเสียหายเนื่องจากการบูด (ขวนิศนดากร, 2500) แต่ช่วงฤดูฝนจะมีปัญหาเรื่องการตากแห้งทำได้ยาก หรือทำให้กากมันแห้งคุณภาพไม่ดี มีเชื้อราขึ้น สีขาวคล้ำ มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวได้ง่าย การนำกากมันสำปะหลังที่อยู่ในสภาพเปียกและมีความชื้นสูงมาทำเป็นอาหารหมักก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาได้ และยังมีข้อดีคือ มีจุลินทรีย์ที่ติดมากับกากมันสำปะหลังสดตามธรรมชาติ คือ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ซึ่งผลิตกรดแลคติกปนเปื้อนติดมาด้วย และการใช้กากมันสำปะหลังหมักร่วมกับวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์อื่นๆ จะช่วยกระตุ้นหรือเกิดการเร่งให้เกิดการหมักอย่างรวดเร็ว ทำให้ผลิตกรดแลคติกมากมีค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ลดต่ำลงอย่างรวดเร็วจนจุลินทรีย์อื่นไม่เจริญได้จึงสามารถถนอมอาหารไว้ได้ (สุกัญญา และผกาพรรณ, 2545) ทรงศักดิ์ (2543) ทำการศึกษาพบว่ากากมันสำปะหลังที่ไม่ได้ผ่านการหมักด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงถึง 68.41 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ส่วนกากมันสำปะหลังที่หมักด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลงต่ำสุดเท่ากับ 53.19 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ส่วนคุณภาพของโปรตีนพบว่าปริมาณกรด อะมิโนในกากมันสำปะหลังหมักจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักและเพิ่มสูงสุดที่เวลา 84 ชั่วโมง แต่ระดับของกรดอะมิโนฮิสติดีน เมทไธโอนีน ไลซีน และฟีนิลอะลานีนยังมีอยู่ในปริมาณต่ำเพียง 0.14, 0.15, 0.22 และ 0.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารสัตว์พบว่าสามารถใช้เป็นอาหารโคได้ถึง 31-40 เปอร์เซ็นต์ แต่สำหรับสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น สุกร ไก่ และเป็ดนั้นสามารถใช้ได้ปริมาณสูงสุดสูตรเพียง 24.5, 20.0 และ 17.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การใช้กากมันสำปะหลังแทนปลายข้าวในสูตรอายุ 3-5 เดือนนั้น ควรใช้ปลายข้าวเป็นส่วนผสมกับอาหารโปรตีนอย่างอื่น เพื่อจะทำให้ลูกสุกรเจริญเติบโตและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นรวดเร็ว สำหรับสูตรอายุ 7-8 เดือน การใช้กากมันสำปะหลังผสมกับปลายข้าวในอัตราส่วน 1:1 จะช่วยเร่งการเจริญเติบโต การเพิ่มน้ำหนักมากกว่าสุกรที่กินปลายข้าวล้วนๆ หรือกากมันสำปะหลังล้วนๆ เนื่องจากสุกรที่มีอายุมากขึ้นจะต้องการอาหารจำพวกเยื่อใยซึ่งมีอยู่ในกากมันสำปะหลัง (crude fiber) สูงขึ้นมากกว่าในตอนเมื่อสุกรยังมีอายุน้อย (ประยูร, 2495) กากมันสำปะหลังสามารถใช้กับสุกรระยะขุนได้ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนและประหยัดค่าใช้จ่าย (ประยงค์, 2493) นอกจากนี้ยัง

สามารถใช้กากมันสำปะหลังได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารสำหรับแม่สุกรอ้วนท้องเพื่อเป็นการทดแทนรำละเอียด โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ และสมรรถภาพการผลิต (อุทัย และคณะ, 2548) ในการเลี้ยงไก่เนื้อสามารถใช้กากมันสำปะหลังทดแทนธัญพืชได้ถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของอาหารผสม แต่จะเหมาะสมที่สุดเมื่อใช้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ (Robinson, 1957) เช่นเดียวกับไก่พ่อพันธุ์ และไก่ไข่ที่สามารถใช้กากมันสำปะหลังได้ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (McMillan and Dudley, 1941)

กระบวนการหมัก

การหมัก (fermentation) เป็นคำที่มีรากศัพท์มาจากภาษาละติน “fervere” แปลว่าเดือด ในครั้งแรกใช้เพื่ออธิบายลักษณะที่เกิดจากการกระทำของยีสต์ในน้ำสักดผลไม้หรือเมล็ดข้าวมอลท์ เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือด (สมใจ, 2537) อย่างไรก็ตามนักชีวเคมีและนักจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมได้นำคำว่าหมักมาใช้ในความหมายที่แตกต่างกันไปบ้าง ในทางชีวเคมี การหมัก หมายถึง กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพไม่มีอากาศ และใช้สารอินทรีย์เป็นตัวอิเล็กตรอนแทนออกซิเจน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักจะมีอยู่ทั้งในสภาพรีดิวซ์ และออกซิไดส์ สำหรับผลิตภัณฑ์สุดท้าย (end product) ที่ได้จากการหมักคาร์โบไฮเดรตจะเป็นสารอะไรนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ คือ ชนิดของเชื้อ ชนิดของคาร์โบไฮเดรต และสภาวะของการเลี้ยงเชื้อ เช่น อุณหภูมิ เวลา และความเข้มข้นของสาร โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ อาจจะมี แก๊สไฮโดรเจน (H_2) และ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) กรดบางชนิด แอลกอฮอล์และสารพวกคีโตน ส่วนแบคทีเรียที่มีการหมักโดยปกติมักจะเป็นพวก facultative anaerobe (ดวงพร, 2537) ส่วนการหมักในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมหมายถึง กระบวนการผลิตผลผลิตใดๆ ก็ตามที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมาก (mass culture) ซึ่งจะครอบคลุมทั้งกระบวนการแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน (สมใจ, 2537)

กระบวนการหมักโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

กระบวนการหมักโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ (Brookes and Buckle, 1992)

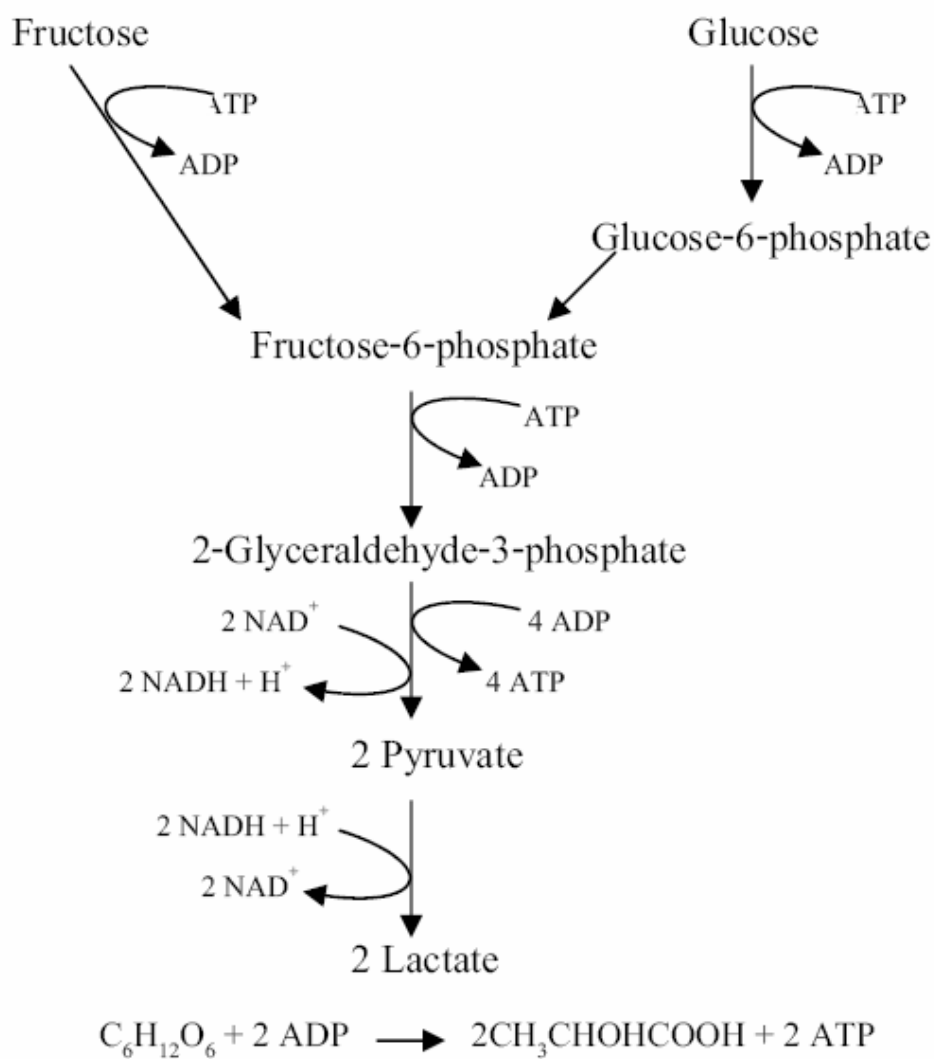
1. Homofermentation กลุ่มนี้จะย่อยสลายกลูโคส ผ่านขบวนการ Embden Meyerhof (ภาพที่ 4) ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดแลคติกส่วนใหญ่ ดังสมการในตารางที่ 3

2. Heterofermentation หรืออาจเรียกว่า mixed lactic acid fermentation โดยการย่อยสลายกลูโคสผ่านขบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตในช่วงต้นของขบวนการ (ภาพที่ 5) จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดหลายชนิด เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก เอทานอล และ คาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการในตารางที่ 3

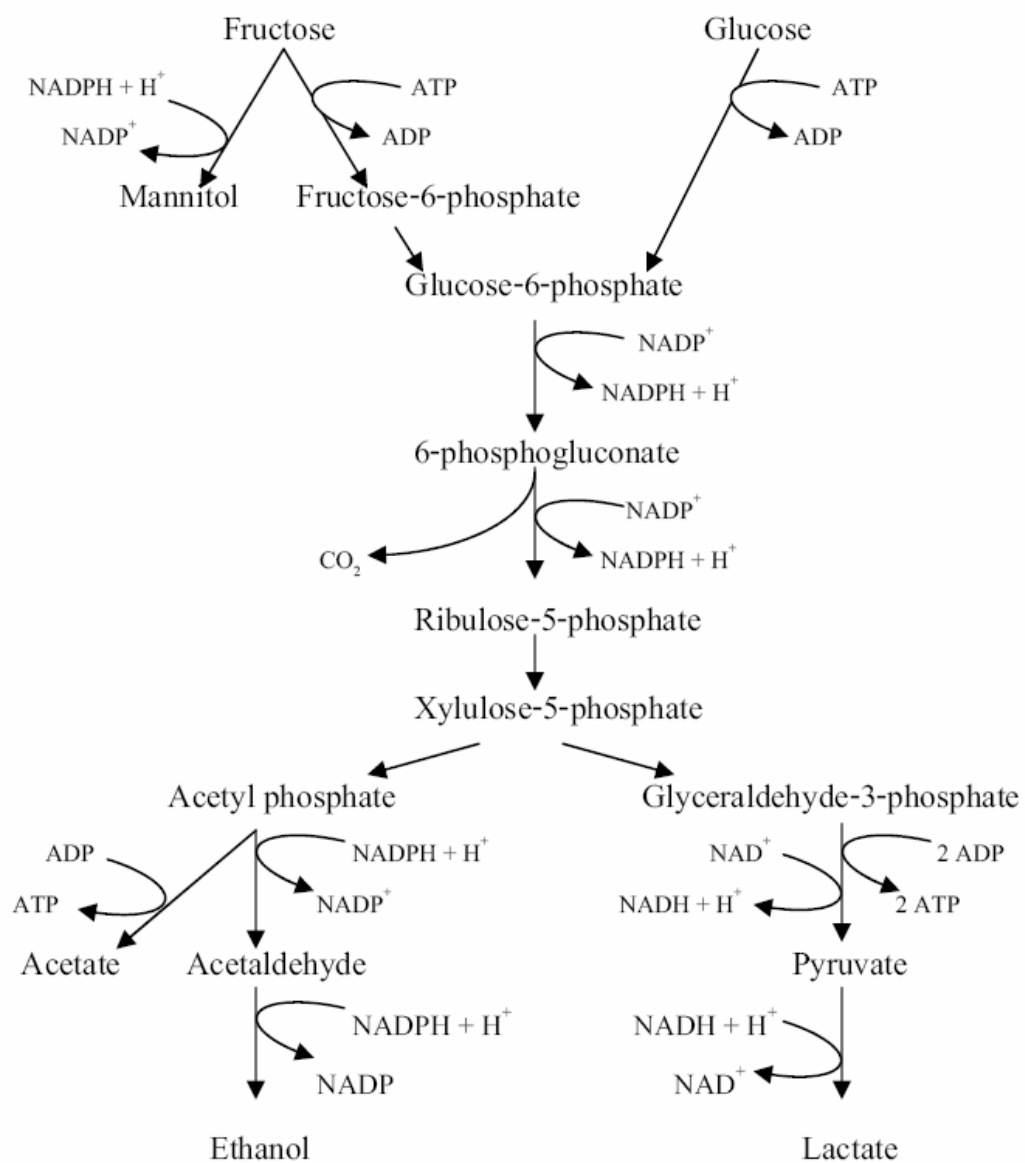
ตารางที่ 3 ปฏิกริยาการหมักคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

Homofermentative	Heterofermentative
1 glucose $\rightarrow$ 2 lactate	1 glucose $\rightarrow$ 1 lactate + 1 ethanol + CO ₂
1 fructose $\rightarrow$ 2 lactate	3 fructose $\rightarrow$ 1 lactate + 1 acetate + 2 mannitol + 1 CO ₂
	2 fructose + 1 glucose $\rightarrow$ 1 lactate + 1 acetate + 1 CO ₂ + 2 mannitol
	1 pentose $\rightarrow$ 1 lactate + 1 acetate

ที่มา: Brookes and Buckle (1992)



ภาพที่ 4 กระบวนการเมแทบอลิซึมโดยอาศัยกลูโคส และฟรุกโตสของ homofermentative
 แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โดย glycolysis หรือ Embden Meyerhof pathway
 ที่มา : Woolford (1985)



ภาพที่ 5 กระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสและฟรุกโตสของ heterofermentative lactic acid bacteria โดย phosphoketolase pathway

ที่มา : Woolford (1985)

สารเสริมชีวิต (Probiotics)

คำว่าโปรไบโอติก (Probiotics) มาจากภาษากรีก แปลว่า “เพื่อชีวิต” ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1970 โดย Metchnikoff แต่เริ่มนำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์อย่างจริงจังเมื่อ ค.ศ. 1974 (Fuller, 1989) สำหรับประเทศไทยได้มีการประกาศใช้โปรไบโอติกไว้ในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยให้ใช้ชื่อเรียกว่า “สารเสริมชีวิต” (ศรีสุข, 2540)

Fuller (1989) ได้ให้คำจำกัดความว่า โปรไบโอติก คือ อาหาร (เสริม) ซึ่งประกอบด้วย จุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่และยังก่อให้เกิดประโยชน์ ช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต สอดคล้องกับ Crawford (1979) และ Reddy *et al.* (1984) ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดจำเพาะที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ (โดยเฉพาะ *Lactobacillus* spp.) แล้วเสริมในอาหารสัตว์ มีผลทำให้มีการเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ และลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษ

อย่างไรก็ตามในปี 1989 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา หรือ FDA (The United States Food and Drug Administration) ได้ให้คำจำกัดความว่า สารเสริมชีวิตเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารที่ให้อินได้โดยตรง และจัดเป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) ingredients ซึ่งเป็นอาหารที่เติมในอาหารที่ปลอดภัยสามารถเป็นอาหารมนุษย์ได้โดยผ่านการพิจารณาจากเภสัชกรและนักพิษวิทยาแล้ว (คณินิจ, 2540)

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นสารเสริมชีวิต

สารเสริมชีวิตหรือโปรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 มีระดับการใช้ในรูปอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปไม่น้อยกว่า 1×10^5 CFU (colony forming unit) ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม โดยมีจุลินทรีย์ที่กำหนดให้ใช้เป็นสารเสริมชีวิต (ศรีสุข, 2540) ดังนี้

แบคทีเรีย

Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbruekii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus reuterii*,

Lactobacillus helveticus, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecium cernelle*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus intermedius*, *Bacillus subtilis strainBN*, *Bacillus coagulan*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* *Pediococcus acidilacticii*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium shermanii*

สายพันธุ์ที่ไม่สร้างยาปฏิชีวนะ *Bacillus toyoi*, *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides capillosus*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides suis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium thermophilum*

ยีสต์

Candida pintolepessi, *Saccharomyces cerevisiae*

เชื้อรา

Aspergillus niger, *Aspergillus oryzae*

คุณสมบัติของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติก

คุณสมบัติของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกมีดังนี้ (Havenaar *et al.* 1992; Nousiainen and Satala, 1998)

1. ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกกว่าเป็นที่ยอมรับ และมีความปลอดภัยไม่ทำให้เกิดโรคและไม่เป็นพิษ
2. ต้องมีความทนทานต่อสภาวะความเป็นกรดของน้ำย่อยที่กระเพาะ และทนน้ำดีที่ลำไส้เล็กภายในทางเดินอาหารของเซลล์เจ้าบ้าน โดย Chateau *et al.* (1994) รายงานการกำหนดความ

ทนทานต่อน้ำดีของแบคทีเรียโดยอาศัย delay of growth (d) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเติมน้ำดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

กลุ่ม I	$d \leq 15 \text{ min}$	จัดเป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อน้ำดี
กลุ่ม II	$15 \text{ min} < d \leq 40 \text{ min}$	จัดเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อน้ำดี
กลุ่ม III	$40 \text{ min} < d < 60 \text{ min}$	จัดเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อน้ำดีต่ำ
กลุ่ม IV	$d \geq 60 \text{ min}$	จัดเป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อน้ำดี

3. เป็นเซลล์มีชีวิตและมีจำนวนมากพอที่จะเดินทางไปจนถึงทางเดินอาหารส่วนท้ายได้
สามารถมีชีวิต และมีกิจกรรมของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารได้
4. สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ก่อโรคในการยึดเกาะบริเวณเยื่อบุผิวทางเดินอาหารได้
5. มีความสามารถในการผลิตสารต่างๆ ที่ยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์อื่นที่บุกรุกหรือก่อโทษ และสารที่สร้างขึ้นสามารถเพิ่มความต้านทานต่อภาวะการติดเชื้อภายในลำไส้ได้
6. ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถช่วยส่งเสริมในการแก้ปัญหาภาวะทุโภชนาการของสัตว์ได้
คือมีการสังเคราะห์สารอาหารที่จำเป็นและนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น วิตามิน และกรดอะมิโน
7. มีความคงตัวและมีอัตราการรอดชีวิตสูงในสภาพการเก็บรักษาระยะเวลานาน และการใช้จริงในฟาร์ม
8. มีความคงตัวและมีชีวิตอยู่ได้นานในการผสมอาหาร เนื่องจากการผลิตอาหารสัตว์บางชนิดต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อน แสงแดด และสภาพกรด
9. ไม่ตกค้างในซากสัตว์
10. ไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร
11. ไม่เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ไม่ทำให้เกิดการแพ้

12. เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ ต้องเพาะเลี้ยงง่ายเพิ่มจำนวนรวดเร็ว

กลไกการทำงานของสารเสริมชีวนะกลุ่มแบคทีเรีย

1. การแข่งขันในการยึดเกาะบนผิวผนังลำไส้

แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสามารถช่วยส่งเสริม และป้องกันผนังลำไส้ไม่ให้จุลินทรีย์ที่เป็นโทษสามารถยึดเกาะที่ผนังลำไส้ให้ได้รับอันตรายได้ โดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจะเข้ายึดเกาะที่ผนังลำไส้โดยใช้ส่วนที่เรียกว่า frimbriae ที่อยู่บนผิวของเชื้อแบคทีเรีย frimbriae สร้างจากโปรตีนที่มีชื่อว่า เลคติน (lectins) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถจดจำและมีความจำเพาะต่อตัวรับที่อยู่บนผนังลำไส้ (McDonald *et al.*, 2002)

การให้สารเสริมชีวนะในไก่ช่วยให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นสามารถป้องกันการยึดเกาะของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Hentges, 1992) เช่นเดียวกับในสุกรที่ได้รับ *Lactobacillus lactis* พบว่า homogenates ของ washed ceaca ในลำไส้สุกร มีจำนวน *Lactobacillus* spp. สูง และ *E. coli* ต่ำกว่าสุกรที่ไม่ได้รับ *Lactobacillus lactis* (Muralidhara *et al.*, 1977)

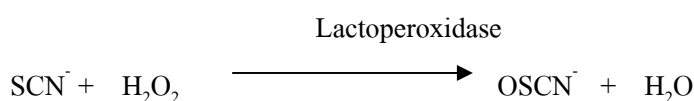
2. การผลิตสารต้านจุลชีพ

Lactobacillus spp. สามารถเปลี่ยนแลคโตสให้เป็นกรดแลคติกได้ทำให้กรด-เบสในลำไส้เล็กน้อยลงอยู่ในระดับที่จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อีกทั้งยังสามารถผลิตสร้างคล้ายยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสามารถผลิตสารต้านจุลชีพที่มีลักษณะเป็น bacteriocins (nisin, reuterin, acidolin และ bulgaricin) สารคล้าย bacteriocin และสาร antagonists อื่นๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และกรดอินทรีย์ (organic acid) (Juven *et al.*, 1991, McDonald *et al.*, 2002)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

ในสถานะที่แบคทีเรียใช้ออกซิเจนมีการผลิตกรดแลคติก สถานะดังกล่าวจะมีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงและมีผลต่อเซลล์แบคทีเรีย โดยหมู่ sulhydryl ภายในโมเลกุลโปรตีนของเซลล์และในชั้นไขมันที่เมมเบรนสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ทำให้โครงสร้างของโปรตีนในเซลล์เปลี่ยนไปจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ (Lindgren and Dobrogosz, 1990) เช่น *Lactobacillus crispatus* F117 สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับสูง ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ (Ocana *et al.*, 1999)

นอกจากนี้ H_2O_2 ยังสามารถรวมตัวกับสารประกอบอื่นเกิดเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นได้ เช่น ในน้ำนมดิบ H_2O_2 จะรวมตัวกับไธโอไซยาเนต (thiocyanate) โดยเอนไซม์ lactoperoxidase เกิดเป็นสารไฮโปไธโอไซยาเนต (hypothiocyanate) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้ (Banks *et al.*, 1986) โครงสร้างเมมเบรนของแบคทีเรียจะถูกทำลายหรือเปลี่ยนแปลงได้เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโปไธโอไซยาเนต (OSCN⁻) (Kamau *et al.*, 1990)



กรดอินทรีย์ (Organic acid)

กรดอินทรีย์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนเช่นกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทิริก และ กรดโพรพิโอนิกสามารถลดระดับ กรด-เบส ในลำไส้ โดยกรดแลคติก และกรดอะซิติกถูกผลิตจากแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Bifidobacterium* ซึ่งมีการใช้เป็นสารเสริมชีวนะกันอย่างแพร่หลาย ปัจจุบันมีการใช้ *Veillonella* spp. เพื่อการผลิตกรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก (Hinton *et al.*, 1991) สำหรับกรดอะซิติกเป็นตัวยับยั้งที่แรงที่สุด และมีช่วงของการยับยั้งกว้างสามารถยับยั้งได้ทั้ง เชื้อยีสต์ เชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย การใช้กรดทั้งสองชนิดนี้ร่วมกันสามารถลดอัตราการเจริญของ *Salmonella typhimurium* ได้มากกว่าการใช้กรดชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว จึงกล่าวได้ว่ากรดทั้งสองมีฤทธิ์ที่เสริมกัน (synergistic activity) (Rubin, 1978)

กลไกการยับยั้งคือ กรดอินทรีย์สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เพราะสามารถละลายได้ในไขมัน (Bearso *et al.*, 1997) การสะสมของกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสร้างขึ้นใน

ระหว่างการเจริญส่งผลให้ค่ากรด-เบสในช่วงแรกของการเจริญลดลง และมีผลยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ทนกรด (Mayra-Makinen and Bigret, 1998) อีกทั้งยังมีข้อเสนอแนะอื่นอีกว่า กลไกการยับยั้งไม่ใช่เป็นเพราะการเคลื่อนย้ายโปรตอนเท่านั้น แต่เป็นการสะสมของประจุลบซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้ โดยจะไปลดอัตราการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ และมีผลกระทบต่อการเคลื่อนย้ายสารบริเวณเหนือเยื่อหุ้มเซลล์

3. การป้องกันการสังเคราะห์เอมีน

Coliform bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถผลิตเอมีนจากกรดอะมิโนด้วย กระบวนการ decarboxylation ซึ่งเอมีนเป็นสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคืองในลำไส้ เป็นพิษ และยังสามารถทำให้เกิดการท้องเสียได้ (McDonald *et al.*, 2002) จากการศึกษาของ Ewing and Haresign (1989) พบว่าโปรตีนในอาหารจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนดูดซึมเข้าไปใช้ประโยชน์ในร่างกาย แล้วมีบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงเป็นแอมโมเนียและเอมีน ไปกระตุ้นการทำงานของเชื้อ *E. coli* ซึ่งทำให้เกิดการระคายเคืองและเป็นพิษต่อร่างกายอีกทั้งเพิ่มการบีบตัวของลำไส้ทำให้เกิดการท้องเสีย จึงได้ทำการทดลองให้อาหารที่มี *Lactobacillus* spp. ในหนูที่มีอาการเครียด พบว่าสามารถลด แอมโมเนียและป้องกันพิษของเอมีนในทางเดินอาหารของหนูได้

4. เพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

การเพิ่มจำนวนของ *Lactobacillus* spp. เป็นการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคทั้งแบบ จำเพาะและแบบไม่จำเพาะ (Rolfe, 2000) ในสุกรระยะเล็กที่ได้รับ *Lactobacilli* จะสามารถยกระดับ โปรตีนในซีรัมและ เซลล์เม็ดเลือดขาวได้ อีกทั้งยังพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันโดยกระตุ้นการผลิต antibody และเพิ่มการทำงานของ phagocyte (McDonald *et al.*, 2002) Sasaki *et al.* (1987) รายงานว่า เมื่อสุกรหลังคลอดได้รับเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ที่มาจาก *Bifidobacterium thermophilum* และสุกรที่หย่านมอายุ 4 สัปดาห์ จะมีจำนวนของ IgA สูงขึ้นที่ lamina propria ของลำไส้เล็กส่วน เจจูนัม และอิลีียม เมื่อให้สุกรอายุ 2 สัปดาห์ก่อนหย่านม และสุกรอายุ 4 สัปดาห์หลังหย่านมได้รับ อาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์ที่หมักด้วย *Lactobacillus* spp. จะสามารถเพิ่มระดับ IgG ในซีรัม แต่ไม่มี อิทธิพลในการเพิ่มระดับของ IgA ในซีรัม (Lessard and Brisson, 1987)

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณ และตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมัน
ลำปะหลังหมัก

อุปกรณ์

1. กากมันลำปะหลังสด
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ
3. สารเคมี และอุปกรณ์สำหรับย้อมสีแกรม
4. น้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ arabinose, galactose, lactose, maltose, mannose, mannitol, malizetose, melibiose, ribose, raffinose, sorbitol, trechalse และ xylose
5. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
6. จานเพาะเชื้อ
7. ขวดและฝาเกลียวสำหรับบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ
8. centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร
9. เครื่องชั่งน้ำหนัก กระดาษชั่งและช้อนตักสารเคมี
10. ไมโครปิเปต และปิเปต
11. ก่อจตุรทรรศน์
12. Anaerobic jar
13. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
14. หม้อสเตนเลสสำหรับต้มอาหารเลี้ยงเชื้อ
15. ตู้อบ
16. ตู้ปลอดเชื้อ
17. waterbath
18. เตาแก๊สและแก๊สหุงต้ม

วิธีการ

1. การหมักกากมันสำปะหลัง

นำกากมันสำปะหลังสดที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานแปรงมันสำปะหลังมาหมักในถุงพลาสติก โดยการหมักกากมันสำปะหลังเป็นการหมักในสภาพไร้ออกซิเจนที่ระยะเวลา 3 วัน เนื่องจากวราพันธุ์ และคณะ (2549) ได้ทำการหมักกากมันสำปะหลังพบว่าในวันที่ 3 ของการหมักเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกมากที่สุด

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และยีสต์มีดังนี้

- เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก เลี้ยงในอาหาร Man Rogosa Sharpe Agar (MRS agar) ตามวิธีของ De man *et al.* (1960)

- เชื้อยีสต์เลี้ยงในอาหาร Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPD agar) ตามวิธีของ Atlas และ Park (1993)

3. การหาปริมาณจุลินทรีย์ และ การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในกากมันสำปะหลังหมัก

3.1 การเก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลังหมักและอาหารผสม

สุ่มเก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลังหมักที่ระยะเวลา 3 วัน ใส่ถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้แน่น แช่น้ำแข็งแล้วรีบนำไปวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และ ยีสต์ การตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์มีขั้นตอนดังนี้

3.1.1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยชั่งส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด นำไปต้มจนละลาย แล้วนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ความร้อนลดลงจนมือจับได้ จึงนำมาเทลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.1.2. เจือจางตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่างซึ่งในการทดลองนี้คือ กากมันสำปะหลังหมัก และอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร จำนวน 11 กรัม ใส่ในสารละลาย normal saline (0.85% NaCl) ปริมาตร 99 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:10 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจางนี้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลาย normal saline ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ $1:10^2$ ทำการเจือจางต่อไปเรื่อย ๆ จนได้สารละลายเจือจาง $1:10^8$

3.1.3. การ spread plate โดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความเจือจาง 3 ระดับ ที่เชื้อสามารถขึ้นได้ประมาณ 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเลี้ยง

3.1.4. อาหารที่เพาะเชื้อแล้วมาบ่มที่อุณหภูมิดังนี้

- อาหารสูตร MRS Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงภายใน anaerobic jar โดยใส่ Anaerocult[®] A เพื่อปรับสภาพให้มีออกซิเจนประมาณ 0.5% และในสภาพไร้อากาศ (aerobic)
- Coliform agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม.
- อาหารสูตร YPD Agar บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน

3.1.5. การนับโคโลนี จะเลือกนับจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี

3.2 การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตภัณฑ์กรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก

แยกเชื้อแบคทีเรียจากกากมันสำปะหลังหมักที่ขึ้นบนอาหารแข็ง MRS Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มาเพาะ (restreak) ลงบนอาหารแข็ง MRS Agar เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำมาตรวจคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมักจากการทดสอบดังต่อไปนี้ และตรวจสอบชนิดของเชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์กรดแลคติกตามคุณสมบัติดังแสดงไว้ในตารางภาคผนวกที่ 1-4

3.2.1 การย้อมสีแบคทีเรียแบบแกรม (Gram's staining)

เกลี่ยเชืบนสไลด์ที่สะอาด ทิ้งให้แห้ง ผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง เพื่อให้เซลล์ยึดติดแน่นกับสไลด์ จากนั้นหยด crystal violet ให้ทั่วมรอยเกลี่ย ทิ้งไว้ 1 นาที เทสีทิ้ง พร้อมกับหยดสารละลาย Gram's iodine ได้สีออกไปและหยดให้ทั่วมรอยเกลี่ยนาน 1 นาที เทสารละลาย Gram's iodine ทิ้ง พร้อมกับหยด ethyl alcohol เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ล้างสีออก จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่ไม่ควรเกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที ซับด้วยกระดาษซับ ย้อมทับรอยเกลี่ยอีกครั้งด้วย Safranin O นาน 1 นาที ล้างน้ำ ซับให้แห้ง ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบบที่เรียกรวมบวกติดสีม่วงของ crystal violet ส่วนแบคทีเรียแกรมลบติดสีแดงของ Safranin O

3.2.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส

หยด 3% H_2O_2 ลงบนแผ่นสไลด์ เชื้อเชื้อที่อายุ 24 ชั่วโมงแต่ละลงในหยดของ H_2O_2 ถ้าเกิดฟองแก๊สขึ้น แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลส บันทึกผลการทดสอบเป็นบวก

3.2.3 การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เชืเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS Agar บ่มที่อุณหภูมิ 15 และ 45 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญเติบโต ตรวจสอบผลทุกวันจนครบ 7 วัน สังเกตการเจริญจากความขุ่น

3.2.4 การทดสอบการย่อยแป้ง

ใช้เชื้ออายุ 24 ชั่วโมงมาเลี้ยงใน starch agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน หลังจากนั้นหยด lugol's iodine ลงบนอาหารถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยแป้งได้ บันทึกผลการทดสอบเป็นบวก

3.2.5 การทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาล arabinose, galactose, lactose, maltose, mannose, mannitol, malizetose, melibiose, ribose, raffinose, sorbitol, trehalose และ xylose

การทดสอบทำโดยใช้เชื้ออายุ 24-48 ชั่วโมง ลงในหลอดอาหาร การทดสอบตรวจดูแก๊สจากหลอดดักแก๊ส และการเกิดการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จากสีเขียวเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อนี้สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลนั้นๆ ได้

การทดลองที่ 2 ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารต่อปริมาณจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และ สมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหย่านม

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ×ดอร์คเจอร์ซี่) หย่านมอายุ 28 วัน คละเพศ จำนวน 128 ตัว

2. อาหารทดลอง

อาหารทดลองมีทั้งหมด 4 สูตร ซึ่งมีองค์ประกอบทางโภชนาะโดยการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 4 และทำการสับสุกรแต่ละกลุ่มให้กินอาหารทดลองสูตรใดสูตรหนึ่ง ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรควบคุม ใช้ปลายข้าว และกากถั่วเหลืองเป็นหลัก
อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรควบคุม ใช้กากมันสำปะหลังหมัก 3 เปอร์เซ็นต์
อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรควบคุม ใช้กากมันสำปะหลังหมัก 6 เปอร์เซ็นต์
อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรควบคุม ใช้กากมันสำปะหลังหมัก 9 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางโภชนาการทดลองทั้ง 4 สูตรในระยะสุกรหย่านม

วัตถุดิบอาหาร	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
ปลายข้าว	52.60	48.95	45.30	41.65
กากมันสำปะหลังหมัก	-	3	6	9
กากถั่วเหลือง (44 % โปรตีน)	10.00	10.00	10.00	10.00
ถั่วเหลืองเอ็กทรา	26.58	27.23	28.65	29.30
ปลาป่น (60 % โปรตีน)	5	5	5	5
น้ำมันรำ	0.5	0.5	0.5	0.5
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	3.50	3.50	3.50	3.50
แอล-ไลซีน	0.25	0.25	0.25	0.25
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.2	0.2	0.2	0.2
เกลือ	0.35	0.35	0.35	0.35
พรีมิกซ์	0.25	0.25	0.25	0.25
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00
องค์ประกอบทางโภชนาการโดยการคำนวณ				
โปรตีน (%)	22	22	22	22
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กก.)	3353.19	3335.75	3318.32	3300.89
ไขมัน (%)	6.45	6.53	6.62	6.71
เยื่อใย (%)	2.61	3.00	3.36	3.71
แคลเซียม (%)	1.35	1.38	1.40	1.43
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	1.09	1.09	1.09	1.09
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.9	0.9	0.9	0.9
ไลซีน	1.48	1.50	1.51	1.51
เมทไธโอนีน + ซีสทีน	0.90	0.88	0.89	0.88
ทริปโตเฟน	0.28	0.28	0.28	0.28
ทรีโอนีน	0.95	0.94	0.94	0.94

3. อุปกรณ์และสารเคมี

- อุปกรณ์ และ สารเคมี สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และ โภชนะของอาหารทดลอง
- อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการเลี้ยงเชื้อเพื่อหาปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในอาหารทดลอง และสิ่งย่อยในลำไส้สุกร
- อุปกรณ์ และ สารเคมี สำหรับการศึกษาทาง จุลกายวิภาค (histology) ของเนื้อเยื่อบุผิวลำไส้ สุกร
- อุปกรณ์ และ สารเคมีสำหรับตรวจหาปริมาณของ short chain fatty acid โดยวิธี gas chromatography
- อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับตรวจหาปริมาณกรดแลกติกของสิ่งย่อยในลำไส้สุกร
- เครื่องวัดกรด-เบส สำหรับตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบสของสิ่งย่อยในลำไส้สุกร
- เครื่องมืออื่นๆ เช่น เครื่องผสมอาหาร เครื่องชั่งน้ำหนักสุกร เป็นต้น

วิธีการ

1. สัตว์และอาหารทดลอง

ใช้สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (ดาร์จไวท์×แลนด์เรซ×คูรอกเจอร์ซี่) หย่านมอายุ 28 วัน คละเพศ จำนวน 128 ตัว จำนวน 16 คอก คอกละ 8 ตัว โดยสุ่มสุกรแต่ละคอกกินอาหารทดลองสูตรใดสูตรหนึ่งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ คอกสุกรมีที่ให้อาหารซึ่งสุกรสามารถกินอาหารได้ตลอดเวลา และเครื่องให้น้ำอัตโนมัติ สุกรทุกตัวเลี้ยงในโรงเรือนเปิด อากาศสามารถถ่ายเทได้สะดวก

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก *E. coli* และยีสต์มีดังนี้

- เชื้อ *E. coli* เลี้ยงในอาหาร Coliform agar ตามวิธีของ Christen *et. al.* (1992)
- เชื้อ *Lactobacillus* spp. เลี้ยงในอาหาร MRS agar ตามวิธีของ De man *et.al.* (1960)
- เชื้อยีสต์เลี้ยงในอาหาร YPD agar ตามวิธีของ Atlas และ Park (1993)

3. การหาปริมาณจุลินทรีย์อาหารทดลอง และสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอิลีียม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่

3.1 การเก็บตัวอย่างอาหารทดลอง

กลุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองขณะผสมเสร็จใหม่ๆ ใส่ถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้แน่น แช่น้ำแข็งแล้วรีบนำไปวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และ ยีสต์ การตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์มีขั้นตอนดังการทดลองที่ 1 หัวข้อที่ 3.1

3.2 การเก็บตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอิลีียม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่

กลุ่มฆ่าสุกรเมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 21 วัน ทรีทเมนต์ละ 5 ตัว (คอกละ 1 ตัว) เพื่อเก็บสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอิลีียม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่ใส่ถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้แน่น แช่น้ำแข็ง แล้วรีบนำไปวิเคราะห์ประชากรแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และ *E. coli* การตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์มีขั้นตอนดังการทดลองที่ 1 หัวข้อที่ 3.1

4. การตรวจสอบลักษณะของเนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วนอิลีียม

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้ ในส่วนลำไส้เล็กส่วนอิลีียม จากสุกรที่ทำการฆ่าในหัวข้อ 3.2 โดยตัดเนื้อเยื่อด้วยใบมีด ให้มีความหนาประมาณครึ่งเซนติเมตร กว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างใน phosphate-buffer saline (PBS) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และต้อง fixed ให้เร็วที่สุดเพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อให้คงที่มากที่สุด โดยใส่ลงในสาร fixative คือ ฟอรัมาลิน 10 เปอร์เซนต์ (neutral buffer formalin) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปตรวจวิเคราะห์ตามขั้นตอนดังนี้

4.1 กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ โดยใช้เครื่อง automatic tissue processor มี 3 ขั้นตอน ดังนี้

- การขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) เป็นขบวนการดึงเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อ เพื่อให้พาราฟินเข้าไปแทนที่น้ำได้ สารเคมีที่ใช้ดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ คือแอลกอฮอล์ โดยใช้แอลกอฮอล์จากเปอร์เซนต์ต่ำไปเปอร์เซนต์สูง โดยเริ่มจาก 80 เปอร์เซนต์ 1 ครั้ง 95 เปอร์เซนต์ 2 ครั้ง และ 100 เปอร์เซนต์ 3 ครั้ง แต่ละครั้งจะแช่เนื้อเยื่อนาน 1-2 ชั่วโมง
- การขจัดแอลกอฮอล์ (clearing) เนื่องจากแอลกอฮอล์ไม่ละลายรวมกับพาราฟินจึงต้องเอา clearing agent เข้าไปแทนที่แอลกอฮอล์ โดยใช้ xylene เป็น clearing agent โดยนำชิ้นเนื้อแช่ใน xylene 3 ครั้งๆ ละ 1-2 ชั่วโมง

- การแทรกซึมของพาราฟิน (infiltration) เป็นขบวนการดึงเอา xylene ออกเพื่อให้พาราฟินแทรกซึมเข้าไปแทนที่ พาราฟินที่ใช้มักมีจุดหลอมเหลว 55-56 องศาเซลเซียส หม้อต้มพาราฟินจะทำการปรับอุณหภูมิให้ใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลว ถ้าอุณหภูมิเกินจุดหลอมเหลวมากกว่า 5 องศาเซลเซียส จะทำให้เนื้อเยื่อตัวอย่างหดมาก และแข็งเกินไป ขั้นตอนนี้อาจบางครั้งต้องใช้ตู้สุญญากาศช่วย เพื่อลดเอาฟองอากาศในเนื้อเยื่อออก ทำให้พาราฟินแทรกซึมไปได้เต็มทุกส่วนของเนื้อเยื่อ ทำการแช่เนื้อเยื่อในพาราฟินหลอมเหลว 3 ครั้งๆ ละ 1-2 ชั่วโมง

4.2 การฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน (embedding) คือขั้นตอนการเอาชิ้นเนื้อฝังในพาราฟิน จะทำการจัดชิ้นเนื้อให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการภายในถ้วยสแตนเลส แล้วเทพาราฟินทับชิ้นเนื้อให้มิด ปล่อยให้เย็นเมื่อพาราฟินแข็งตัวจึงแกะออก

4.3 การตัดเนื้อเยื่อให้เป็นแผ่นบาง (sectioning) นำ block พาราฟินที่มีชิ้นเนื้อมาตัดแต่ง นำเข้าเครื่อง rotary microtome ที่ความหนา 5 ไมครอน

4.4 การติด section บนสไลด์ โดยนำแผ่น section มาลอยในหม้อน้ำที่ปรับอุณหภูมิไว้ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของพาราฟินเล็กน้อย (ประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส) ปล่อยให้ section ยึดตัวเต็มที่ เอาสไลด์ที่ทาด้วย adhesive จุ่มลงไปใต้น้ำแล้วช้อน section ติดสไลด์ขึ้นมาจัดตำแหน่ง section บนสไลด์ให้พอเหมาะแล้วปล่อยให้แห้ง

4.5 การเติมน้ำเข้าไปในเนื้อเยื่อ (hydration) คือการละลายเอาพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อเพื่อให้ น้ำเข้าไปแทนที่ โดยนำสไลด์เนื้อเยื่อไปจุ่มใน

- Xylene 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที
- 100% แอลกอฮอล์ 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที
- 95% แอลกอฮอล์ 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที
- 80% แอลกอฮอล์ 1 ครั้งๆ ละ 1 นาที
- จุ่มในน้ำ 2-3 ครั้ง

4.6 การย้อมสีเนื้อเยื่อ (staining) จะใช้ Hematoxylin Eosin ซึ่ง hematoxylin มีคุณสมบัติเป็น basic dye ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อที่มีกรดเป็นส่วนประกอบอยู่ภายใน ส่วน eosin มีคุณสมบัติเป็น acid dye จะย้อมติดเนื้อเยื่อส่วนที่มีเบสเป็นองค์ประกอบ

4.7 ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยวัดความสูงวิลไล (villus height) และวัดความลึกคริปต์ (crypt depth) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย objective 40X (ดังรูปผนวกที่ 1)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้นในลำไส้เล็กส่วนอิลีอัม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่

นำตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้ส่วนอิลีอัม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่ ที่ได้จากการฆ่าสุกรในหัวข้อ 3.2 เก็บใส่ถุงพลาสติกไว้ในที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจหาปริมาณของกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) โดยทำการสกัดและการวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นตามวิธีการของ (Jacobasch *et al.*, 1999)

5.1 การสกัดกรดไขมันสายสั้นจากสิ่งย่อย

นำตัวอย่างสิ่งย่อยที่แช่แข็งมาละลายที่ 4 องศาเซลเซียส ตลอดคืน ซึ่งตัวอย่างหนัก 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 20,000 rpm นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปิเปตสารละลายปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน microtube เติมน้ำกลั่น metaphosphoric acid เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ที่ละลายในกรดกำมะถัน (sulfuric acid) เข้มข้น 5 นอร์มอล ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex บ่มที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที ปิเปตส่วนใส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น internal standard (Iso-valerate) ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography

5.2 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น

ฉีดตัวอย่างสิ่งสกัดจำนวน 2 ไมโครลิตร เข้าไปใน gas chromatography Chrompack ซึ่งมี pack column ชนิด Chrompack B.V. Packing 10% SP-1200+1% H₃PO₄ on chromosorb waw 80-100 mesh (2m x 1/8 " x 2.0 mm SS) ใช้ฮีเลียมเป็น mobile phase ด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตร/นาที กระทำที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น (กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก)

$$\text{ความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น (mmol/dl)} = (s/S) \times 2 \times 1.5$$

เมื่อ

$s = (\text{พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันสายสั้นที่ต้องการคำนวณ}) / (\text{พื้นที่ใต้กราฟของ Iso-valerate ในตัวอย่าง})$

$S = (\text{พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันสายสั้นที่ต้องการคำนวณใน standard}) / (\text{พื้นที่ใต้กราฟของ Iso-valerate ใน standard})$

2 = อัตราส่วนของการใช้ตัวอย่างต่อ Iso-valerate ซึ่งใช้ที่ 1:1

6. การหาปริมาณกรดแลกติกในสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอิลีอัม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่

นำตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้ส่วนอิลีอัม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่ที่ได้จากการฆ่าสุกรในหัวข้อ 3.2 เก็บใส่ถุงพลาสติกไว้ในที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจหาปริมาณกรดแลกติกตามวิธีการดังนี้ (ชัยวัฒน์, 2520)

1. ชั่งตัวอย่าง 6.25 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วเข้าเครื่องเขย่า (shaker) เป็นเวลา 15 นาที
3. กรองด้วยกระดาษกรอง No.1
4. ชั่งสารละลายตัวอย่างที่ได้ประมาณ 2-3 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร
6. ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 N โดยใช้ฟีนอล์ฟทาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ มาคำนวณปริมาณกรดทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลกติกตามสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละกรดแลกติก} = \frac{\text{มล. ของ NaOH} \times N \text{ ของ NaOH} \times 90.08 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times 1,000}$$

หมายเหตุ 90.08 = น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลกติก

7. การหาค่าความเป็นกรด-เบส สิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอเลียม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่

แบ่งเก็บตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนอเลียม+เจจูนัม และลำไส้ใหญ่ที่ได้จากการฆ่าสุกรในหัวข้อ 3.2 แล้ววิเคราะห์หาความเป็นกรด-เบสโดยใช้เครื่อง pH- meter (INDEX, US) ทันที

8. วัดค่าสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหย่านม

8.1 การบันทึกข้อมูล

- บันทึกน้ำหนักลูกสุกรหย่านมเมื่อเริ่มการทดลอง (จำนวน 8 ตัวต่อ 1 คอก)
- วันที่ 21 ของการทดลอง บันทึกน้ำหนักสุกรที่สุ่มฆ่าเพื่อเก็บตัวอย่างวิจัย (1 ตัวต่อ 1 คอก) และปริมาณอาหารที่กินเพื่อนำไปหาค่าสมรรถภาพการผลิตในช่วงสัปดาห์แรกก่อนสุ่มตัวอย่างฆ่า
- วันที่ 28 ของการทดลอง บันทึกน้ำหนักสุกรที่เหลือในคอก (จำนวน 7 ตัวต่อ 1 คอก) ปริมาณอาหารที่กิน และชั่งน้ำหนักครั้งสุดท้ายในวันที่สิ้นสุดการทดลอง
- ระหว่างการทดลอง บันทึกจำนวนสุกรที่ตายในช่วงการทดลอง หักน้ำหนักตัวและปริมาณอาหารที่กินของสุกรที่ตายออก แล้วคำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก

8.2 การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว} = \text{น้ำหนักสุกรสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักสุกรเริ่มต้น}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้} - \text{น้ำหนักอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนสุกร}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก} = \text{ปริมาณอาหารที่กิน} / \text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}$$

9. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการต่าง ๆ ของสูตรอาหารทดลองทุกสูตร โดยใช้วิธี proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และพลังงานโดยใช้ adiabatic bomb calorimeter (Parr 1261, USA)

10. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (2003)

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

โดยที่ $i = 1, 2, 3, 4, \quad j = 1, 2, 3, 4, 5$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากหน่วยทดลองที่ j ทรีทเมนต์ที่ i

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากรทั้งหมด

α_i = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ i

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มสุกรขุนบุญส่ง แซ่ลิ้ม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

2. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์จุลินทรีย์ ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ห้องประกอบทางโภชนาการ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

4. งานจุลชีววิทยาประยุกต์ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มต้นทดลองเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2549 และสิ้นสุดการทดลองเดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2550

แหล่งทุนสนับสนุน

เงินทุนสนับสนุนจากมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณ และตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในกากมัน ลำปะหลังหมัก

1.1 ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในกากมันลำปะหลังหมัก

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก *E. coli* และยีสต์ในกากมันลำปะหลัง และกากมันลำปะหลังหมัก พบว่า เมื่อหมักกากมันลำปะหลังเป็นเวลา 3 วัน ส่งผลให้ปริมาณของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและยีสต์เพิ่มขึ้นจาก 2.2×10^6 CFU/g เป็น 8.7×10^7 CFU/g และ 2.6×10^7 CFU/g เป็น 3.5×10^7 CFU/g ตามลำดับ และไม่พบ *E. coli* ทั้งในกากมันลำปะหลัง และกากมันลำปะหลังหมัก ดังตารางที่ 5 ซึ่งใกล้เคียงกับวรพจน์ และคณะ (2549) ที่รายงานว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในกากมันลำปะหลังจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกของการหมัก โดยในวันที่ 3 ของการหมักกากมันลำปะหลังพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและยีสต์เท่ากับ 6.5×10^7 CFU/g และ 6.8×10^5 CFU/g ตามลำดับ และจะคงที่จนถึงวันที่ 7 ของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ ทั้งนี้เกิดจากการที่กากมันลำปะหลังหมักมีความเป็นกรดสูงขึ้นส่งผลให้แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และยีสต์ลดจำนวนลง กากมันลำปะหลังหมักที่ได้จากการทดลองนี้เป็นพืชหมักที่มีคุณภาพเนื่องจาก Woolford (1985) กล่าวว่าการผลิตพืชอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพทำได้โดยการผลิตไซเลจที่มีแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 10^6 - 10^7 CFU/g พืช

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก ยีสต์ และ *E. coli* ในกากมันลำปะหลังและกากมันลำปะหลังหมัก

ชนิดแบคทีเรีย	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/g)	
	กากมันลำปะหลัง	กากมันลำปะหลังหมัก
แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก	2.2×10^6	8.7×10^7
ยีสต์	2.6×10^7	3.5×10^7
<i>E. coli</i>	0	0

1.2 ตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในกากมันสำปะหลังหมัก

ทำการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกตามลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกันบนจานเพาะเชื้อที่ได้จากการนับปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก โดยใช้ลูปเขี่ยเชื้อลงบนอาหาร MRS Agar เพาะจนได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อที่บริสุทธิ์แล้วเพาะลงบนอาหาร MRS Agar ที่ใส่แคลเซียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทดสอบความสามารถในการผลิตกรด หากเชื้อแบคทีเรียโคโลนีดังกล่าวสามารถผลิตกรดจะพบบริเวณใส (clear zone) รอบโคโลนีของแบคทีเรียชนิดนั้น หลังจากพบว่าโคโลนีของแบคทีเรียชนิดดังกล่าวมีความสามารถในการผลิตกรดจึงนำลูปเขี่ยเชื้อดังกล่าวเพื่อเพาะในอาหาร MRS Agar อีกครั้ง เพื่อนำไปตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย

เมื่อได้แบคทีเรียที่บริสุทธิ์จึงนำไปทดสอบโดยการย้อมสีแบคทีเรียแบบแกรม (Gram's staining) แล้วคัดเลือกแบคทีเรียที่ผนังเซลล์ย้อมติดสีน้ำเงินของ crystal violet ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จากนั้นทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลสโดยหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงบนโคโลนีของแบคทีเรีย แล้วคัดเลือกแบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างแคตาเลส ซึ่งไม่เกิดฟองแก๊สที่โคโลนีของแบคทีเรียหลังจากหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แล้วจึงนำแบคทีเรียที่ได้จากการคัดเลือกลักษณะมาทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ ทดสอบการย่อยแป้ง และทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรตบางชนิด ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวจำแนกได้เป็น *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus manihottivorans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pumilus*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* (*Streptococcus* spp. G.L) และ *Streptococcus uberis* โดยทั่วไปแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่พบในพืชหมักหลาย ๆ ชนิดนั้นมีจุลินทรีย์ที่ถือว่ามีสำคัญคือ *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis* and *Leuconostoc mesenteroid* subsp. *mesenteroides* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบได้ตามธรรมชาติ (Gordana, 2006)

จากการตรวจสอบพบแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกที่กำหนดให้ใช้เป็นสารเสริมชีวนะ 4 ตัว คือ *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* และ *Leuconostoc mesenteroides* ซึ่งตามคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่เป็นสารเสริมชีวนะจะไม่ก่อให้เกิดโรค มีความทนทานต่อสภาวะความเป็นกรดของน้ำย่อยที่กระเพาะอาหารและทนน้ำดีที่ลำไส้เล็กภายในทางเดินอาหาร ส่งเสริมให้เกิดกิจกรรมของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารและมีความสามารถในการผลิตสารต่าง ๆ ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโทษ และสร้างสารขึ้นเพื่อเพิ่มด้านทนต่อสภาวะการติดเชื้อมาในลำไส้ได้ (Havenaar et al., 1992, Nousiainen and Setälä, 1998)

Lactobacillus plantarum มีการหมักแบบ facultative heterofermentative ได้เป็นกรดแลคติก หรือกรดผสมระหว่างกรดแลคติก กรดอะซิติก เอทานอล และกรดฟอर्मิก (Brookes and Buckle, 1992) Jimenez-Diaz *et al.* (1993) พบว่า *Lactobacillus plantarum* LPCD สร้างสารที่มีการทำงานคล้ายแบคทีเรียโอซินที่เรียกว่า Plantaricin D และ T สอดคล้องกับ Franz *et al.* (1998) พบว่า *Lactobacillus plantarum* BFE905 สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินที่เรียกว่า Plantaricin D ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งต่อ *Listeria monocytogenes* และมีความคงตัวที่กรด-เบสในช่วง 2.0-10.0 นอกจากนี้ *Lactobacillus plantarum* 104R สามารถยับยั้งการยึดเกาะของ *E. coli* K88 บนเยื่อเมือกลำไส้เล็กส่วน อีเลียม (Blomberg *et al.*, 1993) Adlerberth *et al.* (1996) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการเพิ่มจำนวนของ *Lactobacillus plantarum* ในลำไส้เซลล์ของสัตว์ ภายใต้สภาวะการทดลองได้ข้อสันนิษฐานว่า น้ำตาลแมนโนสมีส่วนเกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในเยื่อบุลำไส้

Leuconostoc mesenteroides เป็นสายพันธุ์หลักที่สามารถพบได้ในไซเลจ ซึ่งจะเจริญในช่วงแรกๆ ของการหมัก มีการหมักแบบ heterofermentative ได้เป็นกรดแลคติก และกรดอะซิติก อีกทั้งยังผลิตสารที่เพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับพืชหมักด้วย (Bong-Joon *et al.*, 2000) มีการจัดเรียงตัวเป็นสารเดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือสายโซ่สั้นถึงปานกลาง เจริญได้ช้า และมีความต้องการสารอาหารมากกว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆ สามารถเจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน *Leuconostoc mesenteroides* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส แต่ก็สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (บุญกร, 2545; Brookes and Buckle, 1992)

Bacillus เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-75 องศาเซลเซียส (บุญกร, 2545) เนื่องจากสามารถสร้างเอนโดสปอร์ที่ทนความร้อนสูง และทนความแห้งได้ดี ทนต่อน้ำดี และช่วยกระตุ้นสภาพภายในกระเพาะอาหารได้ด้วยจึงสามารถนำมาใช้เป็นสารเสริมชีวนะได้ทั้งในคนและสัตว์ (Teresa *et al.*, 2005) Gabriella and Simon (2002) พบการเจริญของสปอร์ของเชื้อ *Bacillus* ในกระเพาะอาหารรวมถึงลำไส้เล็กส่วน เจจูนัม และอีเลียม อีกทั้ง *Bacillus licheniformis* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่สำคัญ คือ เบซิทราซิน (bacitracin), พูมุลิน (pumulin) และแกรมิซิดิน (gramicidin) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Staphylococci*, *Streptococci*, *anaerobic cocci*, *Corynebacter* and *Clostridium* (Ali, 2006) นอกจากนี้ *Bacillus licheniformis* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสชนิดแอลฟา (α -amylase) และเอนไซม์สำหรับย่อยโปรตีน (alkaline protease) (Ferrero *et al.*, 1996) และสามารถผลิตเอนไซม์เคราติเนส (keratinase) (William *et al.*, 1990) สำหรับ *Bacillus pumilus* สร้างสปอร์ที่มีความสามารถในการ

เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง interleukin-6 เพื่อลดการอักเสบ และเนื้องอกในสัตว์ อีกทั้งยังกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (Duc *et al.*, 2004)

การทดลองที่ 2 ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารต่อปริมาณจุลินทรีย์ ลักษณะทางจุลกาย วิภาคของทางเดินอาหาร และสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหย่านม

2.1 การศึกษาองค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งเป็นองค์ประกอบของกากมันสำปะหลัง กากมันสำปะหลังหมัก และโภชนะต่างๆ ในอาหารทดลอง แสดงดังตารางที่ 6 จากการวิเคราะห์พบว่าการหมักกากมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 3 วันทำให้ระดับโปรตีนในกากมันสำปะหลังลดลงจาก 3.17 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง เป็น 2.50 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง แต่โภชนะอื่น ๆ นั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกับวราพันธุ์ และคณะ (2549) รายงานว่าเมื่อทำการหมักกากมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 3 วันทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกับความชื้น ส่วนเชื้อยีสมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีระยะการหมัก 5 วันขึ้นไป เนื่องมาจากจุลินทรีย์ใช้แป้งและโปรตีนในกากมันสำปะหลังเพื่อการเจริญเติบโต จึงทำให้น้ำหนักของโภชนะดังกล่าวลดลง ในขณะที่น้ำหนักของส่วนเชื้อยีสไม่เปลี่ยนแปลง จึงมีผลทำให้ส่วนของเชื้อยีสมีความเข้มข้นมากขึ้น ส่วนในอาหารทดลองพบว่าเมื่อมีการเสริมกากมันสำปะหลังหมักลงให้สูตรส่งผลให้ความชื้นในอาหารเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ แต่โภชนะอื่นๆ อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนาของกากมันสำปะหลัง กากมันสำปะหลังหมัก และอาหาร
ทดลองทั้ง 4 สูตร

องค์ประกอบทาง โภชนา	กากมัน สำปะหลัง	กากมัน สำปะหลัง หมัก	อาหารทดลอง			
			สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
ความชื้น (%)	83.71	82.78	9.26	11.64	13.56	15.27
วัตถุแห้ง (%)	16.29	17.22	90.74	88.36	86.44	84.83
โปรตีน (%)	3.17	2.50	21.94	21.87	21.92	21.83
พลังงานรวม (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	4108.01	4051.31	4691.64	4625.01	4641.02	4654.90
ไขมัน (%)	*	*	8.46	8.23	7.95	7.77
เยื่อใย (%)	15.24	15.27	2.87	2.45	3.13	3.35
แคลเซียม (%)	1.10	0.56	1.27	1.14	1.16	1.26
ฟอสฟอรัส (%)	0.05	0.03	0.80	0.76	0.78	0.78

หมายเหตุ * น้อยมากจึงไม่ทำการวิเคราะห์

2.2 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และ *E. coli* ในอาหารทดลอง และสิ่งย่อย
ของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อีเลียม และลำไส้ใหญ่

เมื่อนำกากมันสำปะหลังหมักที่ 3 วันมาผสมอาหารในระดับ 0, 3, 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในอาหารมีปริมาณของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และยีสต์เพิ่มขึ้นเป็นลำดับเท่ากับ 0, 1.8×10^5 , 2.0×10^5 และ 2.7×10^5 CFU/g และ 0, 1.4×10^5 , 2.7×10^5 และ 3.3×10^5 ตามลำดับ แต่ไม่พบ *E. coli* ในอาหารทดลองทุกสูตร (ตารางที่ 7) แสดงว่าการเติมกากมันสำปะหลังหมักลงไปในการอาหารนั้นสามารถนำมาใช้เป็นสารเสริมชีวิตได้ เนื่องจากสารเสริมชีวิตหรือโปรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 มีระดับการใช้ในรูปอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปไม่น้อยกว่า 10^5 CFU ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม (ศรีสุข, 2540)

ตารางที่ 7 ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และ *E. coli* ในอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร

ชนิดของจุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารทดลอง (CFU/g)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก	0	1.8×10^5	2.0×10^5	2.7×10^5
ยีสต์	0	1.4×10^5	2.7×10^5	3.3×10^5
<i>E. coli</i>	0	0	0	0

จากการนำกากมันสำปะหลังหมักเสริมลงในสูตรอาหาร พบว่ามีการลดลงของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากกากมันสำปะหลังหมักมากกว่ายีสต์ เนื่องจากในอาหารทดลองมีความชื้นต่ำกว่าในกากมันสำปะหลังหมัก โดยโครงสร้างยีสต์มีผนังเซลล์ (cell wall) ที่เป็นส่วนประกอบของกลูแคน (glucan), ฟอสโฟแมนแนน (phosphomannan) และไคติน (chitin) หนาประมาณ 100-200 nm แต่แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกมีเซลล์เมมเบรน (outer membrane) หนา 7-8 nm ที่ประกอบไปด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) และมิวโคเปปไทด์ (mucopetide) (Michael *et al.*, 2001) ผนังเซลล์ช่วยป้องกันเซลล์จากแรงดันออสโมติก และจากแรงกลภายนอกจึงทำให้ยีสต์สามารถทนต่อสภาวะดังกล่าวได้ดีกว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก (ธีรพร, 2546)

เมื่อศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียมและลำไส้ใหญ่ของสุกร พบว่าการเพิ่มปริมาณกากมันสำปะหลังหมักในอาหารมีผลให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสุกรที่กินอาหารมีกากมันสำปะหลังหมัก 9 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสูงที่สุดเท่ากับ $8.33 \log_{10} \text{CFU/g}$ ($9.1 \times 10^7 \text{ CFU/g}$) ส่วนปริมาณ *E. coli* และสัดส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก/*E. coli* ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียมแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร ส่วนในลำไส้ใหญ่พบว่าปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และ *E. coli* แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาคิดสัดส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก/*E. coli* พบว่าสุกรกลุ่มที่กินอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมัก 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์มีสัดส่วนของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก/*E. coli* สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับ Colin (1998) ที่ศึกษาจำนวน *Lactobacillus* spp. ในระบบทางเดินอาหารส่วนต่างๆ พบว่าในลำไส้เล็กส่วนปลายมีจำนวน *Lactobacillus* spp. เท่ากับ $6.1-9.8 \log_{10} \text{CFU/g}$

หลังจากหย่านมลูกสุกรจะเปลี่ยนมาได้รับอาหารแทนน้ำนมแม่ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะ *E. coli*, *Enterococcus* และ *Clostridium* เพิ่มขึ้นเป็นส่วนใหญ่ (Savage, 1977) โดย *E. coli* จะเจริญได้ดีในน้ำเมือกที่หลั่งออกมาจากชั้นเยื่อเมือกโดยเฉพาะที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย โดยที่ *E. coli* จะจับกับตัวรับที่เฉพาะเจาะจงบนชั้นเยื่อเมือกและจะแย่งใช้สารอาหารของตัวสัตว์ในการเจริญ หากร่างกายมีจำนวน *E. coli* มากเกินไปจะเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อที่ลำไส้ (Conwey *et al.*, 1990) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การเสริมกากมันสำปะหลังหมักลงในสูตรอาหารที่ระดับต่างๆ ช่วยเพิ่มสัดส่วนของแบคทีเรียกรดแลคติก/*E. coli* ในทางเดินอาหารให้สูงขึ้น ช่วยให้ทางเดินอาหารมีความสมดุลของจุลินทรีย์โดยลดปริมาณ *E. coli* ในลำไส้ลงจนไม่เป็นอันตรายต่อตัวสัตว์

ตารางที่ 8 ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *E. coli* และอัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก/*E. coli* ในลำไส้เล็กส่วนเจูนัม+อิลียม และลำไส้ใหญ่ ของสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง

ชนิดของแบคทีเรีย	ปริมาณแบคทีเรียในอาหารทดลอง ($\log_{10}$ CFU/g)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
เจูนัม + อิลียม				
แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก	7.06±0.31 ^u	7.10±0.32 ^u	7.40±0.21 ^{nu}	8.33±0.35 ⁿ
<i>E. coli</i>	6.66±0.40	6.70±0.37	5.89±0.25	6.85±0.08
แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก/ <i>E. coli</i>	1.06±0.03	1.07±0.10	1.26±0.10	1.21±0.03
ลำไส้ใหญ่				
แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก	7.21±0.42	7.31±0.48	7.67±0.28	7.89±0.19
<i>E. coli</i>	6.77±0.40	6.64±0.34	6.21±0.30	6.25±0.11
แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก/ <i>E. coli</i>	1.02±0.03 ^u	1.10±0.05 ^{nu}	1.25±0.08 ⁿ	1.26±0.007 ⁿ

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

^{n,u} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการทดลองนี้การเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสอดคล้องกับ Muralidhara *et al.* (1977) ได้ให้ลูกสุกรกิน *Lactobacillus* spp. พบว่า ทำให้ระบบทางเดินอาหารมี *Lactobacillus* spp. สูงขึ้นและ *E. coli* ลดลง ซึ่งเมื่อปริมาณ *Lactobacilli* มากขึ้นทำให้สามารถแข่งขันแย่งสารอาหารและยึดเกาะติดผนังเยื่อบุผิว และสามารถครอบครองพื้นที่ผิวของเยื่อบุทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นกลไกขัดขวางการยึดเกาะและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Salmonella* spp., *E. coli* และ *Clostridium* spp. เป็นต้น (Barrow *et al.*, 1980) ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคไม่สามารถเกาะเพื่อขยายตัวและลดความสามารถในการสร้างสารพิษ โดยป้องกันเชื้อโรคไม่ให้ได้รับอาหาร เพื่อจะสร้างสารพิษต่อไป (นรินทร์, 2544)

นอกจากนี้แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสามารถผลิตกรดอินทรีย์เช่น กรดแลกติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และ กรดโพรพิโอนิก ส่งผลให้ค่ากรด-เบสลดลงในช่วงแรกของการเจริญ และมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ทนกรด (MacDonald *et al.*, 2002) อีกทั้งยังสามารถผลิตสารที่มีลักษณะเป็น bacteriocins และสาร antagonists อื่นๆ ได้ (Mayra-Makinen and Bigret, 1998) เช่น การสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงและมีผลต่อเซลล์แบคทีเรียโดยหมู่ sulhydryl ภายในโมเลกุลโปรตีนของเซลล์และในชั้นไขมันที่เมมเบรนสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ (Juven *et al.*, 1991) ทำให้โครงสร้างของกรดนิวคลีอิกและโปรตีนในเซลล์เปลี่ยนไปจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติจะทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย (Lingren and Dobrogosz, 1990)

2.3 การศึกษาค่าความเป็นกรด-เบส (pH) และปริมาณกรดแลกติกในสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วน เจจูนัม + อีเลียม และลำไส้ใหญ่

ค่ากรด-เบสในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อีเลียม และลำไส้ใหญ่ของสุกรที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรแสดงดังตารางที่ 9 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยค่ากรด-เบส ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อีเลียมที่วัดได้จากการทดลองนี้มีค่าประมาณ 6.0-6.5 ส่วนในลำไส้ใหญ่ค่ากรด-เบส เท่ากับ 6.0 ซึ่งต่ำกว่าที่ Jonsson and Conway (1992) รายงานว่า ระดับกรด-เบสในลำไส้สุกรนั้นมีความเป็นกรดสูงในส่วนดูโอดินัมประมาณ 2-6 และลดลงเรื่อยๆ จนที่อีเลียมจะมีค่ากรด-เบสประมาณ 7.0-7.5 โดยระดับกรด-เบส ดังกล่าวยังขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดในอาหาร และกิจกรรมของจุลินทรีย์สามารถส่งผลให้ระดับ กรด-เบสในบริเวณนี้ต่ำลงได้เช่นกัน และในลำไส้ใหญ่นั้นมีค่าประมาณ 6.0 ซึ่งจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเหมือนในลำไส้ส่วนต้น ทั้งนี้จากการทดลองพบว่าสุกรทุกกลุ่มมีระดับ กรด-เบสใกล้เคียงกันนั้นอาจเกิดจากลำไส้มีการหลั่ง

น้ำเมือกและไบคาร์บอเนตออกมาเพื่อปรับ กรด-เบสในทางเดินอาหารให้มีสภาพเหมาะสมสำหรับ น้ำย่อย และป้องกันเชื้อบูดน้ำเสียจากน้ำย่อย (ชัยวัฒน์, 2541)

ตารางที่ 9 ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลคติกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลียม และ ลำไส้ใหญ่ของสุกรหย่านมเมื่อกินอาหารทดลอง

	อาหารทดลอง			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
เจจูนัม+อิลียม				
ค่าความเป็นกรด-เบส	6.20±0.16	6.43±0.19	6.18±0.23	6.52±0.05
กรดแลคติก (mmol/L)	2.19±0.27	2.13±0.19	2.21±0.43	2.27±0.21
ลำไส้ใหญ่				
ค่าความเป็นกรด-เบส	5.90±0.13	6.00±0.14	5.80±0.11	5.90±0.08
กรดแลคติก (mmol/L)	1.97±0.25	3.15±0.40	3.84±0.87	2.29±0.23

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

ปริมาณกรดแลคติกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อิลียมของสุกรที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในลำไส้ใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม (P=0.087) (ตารางที่ 9) สอดคล้องกับ Winsen *et al.* (2001) พบว่า ในสุกรที่ได้รับอาหารหมักด้วย *L. plantarum* (9.4 log CFU/g) มีค่ากรด-เบสในลำไส้เล็กประมาณ 7 และลำไส้ใหญ่ประมาณ 5.7 อีกทั้งปริมาณกรดแลคติกในกระเพาะอาหารจะมีค่าสูงสุดในอาหารที่หมักด้วย *L. plantarum* และจะลดลงเรื่อยๆ ในส่วนของลำไส้เล็ก ส่วนในไส้ตั้ง และลำไส้ใหญ่นั้นพบปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 3.7 และ 2.1 $\mu\text{mol/g}$ ตามลำดับ และพบว่าในลำไส้ใหญ่นั้นสามารถผลิตกรดแลคติกมากกว่าในลำไส้เล็ก เนื่องจากลำไส้ใหญ่มีการย่อยสลายอาหารจำพวกแป้งที่ผ่านลงไปถึงลำไส้ใหญ่ โพลีแซคคาไรด์อื่นๆ ที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide) น้ำตาลที่ไม่ถูกย่อยได้เป็นกรดอินทรีย์เช่น กรดแลคติก (Gibson and Roberfroid, 1995) ซึ่งการสะสมของกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสร้าง ขึ้นในระหว่างการเจริญส่งผลให้ค่ากรด-เบสในช่วงแรกของการเจริญลดลง และมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ทนกรด เช่น *E. coli* (Mayra-Makinen and Bigret, 1998)

2.4 ลักษณะโครงสร้างของวิลไล และคริปต์ของเยื่อบุผิวมิวโคซาลำไส้เล็กส่วนอิลีียม

จากการศึกษาความสูงวิลไล และความลึกคริปต์จากเยื่อบุผิวมิวโคซาลำไส้เล็กส่วนอิลีียมของสุกรหย่านมที่กินอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร พบว่า ความสูงวิลไลมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่กลุ่มที่กินกากมันสำปะหลังหมัก 6 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีความสูงวิลไลมากที่สุดเท่ากับ $337.19 \mu\text{m}$ แต่ความลึกคริปต์นั้นมีเพียงแนวโน้มลดลง ($P = 0.0659$) อย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร และอัตราส่วนระหว่างความสูงวิลไลต่อความลึกคริปต์นั้นก็แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่กลุ่มที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมัก 6 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีอัตราส่วนระหว่างความสูงวิลไลต่อความลึกคริปต์มากที่สุดเท่ากับ 3.15 แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่กินอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมัก 9 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (ตารางที่ 10) ทั้งนี้เนื่องจากสุกรที่กินอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมัก 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อิลีียมสูงกว่าสูตรควบคุม ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเหล่านี้ช่วยลดจำนวน *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของความระคายเคืองในลำไส้ (McDonald *et al.*, 2002; Van Beers-Schreurs *et al.*, 1992) ทำให้สุกรมีวิลไลแคระแกร็น (Hall and Byren, 1989) การย่อยและดูดซึมอาหารลดลง (Pluske *et al.*, 1996) ดังนั้นการเสริมกากมันสำปะหลังหมักลงในอาหารช่วยเพิ่มความสูงหรือความยาววิลไลทำให้สุกรมีความย่อย และการดูดซึมอาหารดีขึ้น

ค่าความสูงวิลไล และความลึกคริปต์ของสุกรในการทดลองนี้พบว่ามีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ Maria *et al.* (2007) ที่รายงานว่า สุกรที่ได้รับโปรไบโอติกที่มีจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* และโปรไบโอติกสายผสมมีความยาววิลไลและความลึกของคริปต์ที่ส่วนอิลีียมเท่ากับ $331.7 \mu\text{m}$ และ $395.5 \mu\text{m}$ และ $247.6 \mu\text{m}$ และ $270.4 \mu\text{m}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Marinho *et al.* (2007) พบว่าลูกสุกรที่ได้รับโปรไบโอติก ยีสต์ และโปรไบโอติกร่วมกับยีสต์ นั้นมีความยาววิลไลที่ลำไส้เล็กส่วนอิลีียมเท่ากับ $374 \mu\text{m}$, $359 \mu\text{m}$ และ $367 \mu\text{m}$ ตามลำดับ

ตารางที่ 10 ลักษณะโครงสร้างวิลไล และคริปต์ของเยื่อบุผิวมิวโคซาของลำไส้เล็กส่วนอเล็กของ
ลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารทดลอง

	อาหารทดลอง			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
ความสูงของวิลไล (μm)	263.96 $\pm$ 11.48 ^u	277.14 $\pm$ 14.67 ^u	337.19 $\pm$ 14.33 ⁿ	299.12 $\pm$ 15.56 ^{nu}
ความลึกของคริปต์ (μm)	155.05 $\pm$ 10.35	141.89 $\pm$ 8.60	126.15 $\pm$ 9.03	123.59 $\pm$ 8.44
ความสูงวิลไล/ความลึกคริปต์	1.96 $\pm$ 0.158 ⁿ	2.32 $\pm$ 0.25 ^{nk}	3.15 $\pm$ 0.24 ⁿ	2.75 $\pm$ 0.23 ^{nu}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

^{u, n, k} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2.5 การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อเล็ก และ ลำไส้ใหญ่

การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อเล็ก และ
ลำไส้ใหญ่ พบว่าปริมาณกรดอะซิดิก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อ
เล็ก และกรดโพรพิโอนิก และ กรดบิวทีริก ในลำไส้ใหญ่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
($P > 0.05$) แต่กรดอะซิดิกในลำไส้ใหญ่นั้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ($P = 0.1168$) เมื่อเพิ่มระดับการใช้
กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารดังตารางที่ 11 ซึ่งใกล้เคียงกับ Franklin *et al.* (2002) รายงานว่า
สุกรหย่านมมีปริมาณกรดอะซิดิก โพรพิโอนิก และ บิวทีริก ในลำไส้เล็กส่วนอเล็กและไส้ติ่ง
เท่ากับ 33.4 และ 71.6, 3.7 และ 27.7 และ 2.8 และ 10.4 mmol/L ตามลำดับ ส่วน Imoto and Namioka
(1978) พบว่าเมื่อสุกรได้รับอาหารที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูงจะมีการผลิตอะซิดิก โพรพิโอ
นิก และบิวทีริก ในลำไส้ใหญ่ต่อชั่วโมงเท่ากับ 26.2, 10.9 และ 4.0 mmol และในหนึ่งวันสุกรจะมี
การผลิตกรดไขมันระเหยได้แต่ละชนิดคือ อะซิดิก โพรพิโอนิก และบิวทีริก เท่ากับ 0.57, 0.23 และ
0.08 mol/day และสามารถดูดซึมได้เท่ากับ 0.44, 0.19 และ 0.06 mol/day ตามลำดับ กรดไขมัน
ระเหยได้สามารถเป็นสารต่อต้านจุลชีพ มีผลในการป้องกันการเข้ายึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรคเช่น
Salmonella spp. (Cummings. 1983) อีกทั้งการเสริมกรดโพรพิโอนิกลงในอาหารสุกรหย่านมจะ
เหนี่ยวนำให้ปริมาณ *E. coli* ในลำไส้เล็กส่วนอเล็กลดลง แต่ไม่ส่งผลต่อปริมาณของ *Lactobacilli*
(Barbara *et al.*, 2001)

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในสิ่งย่อยในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อีเลียม และลำไส้ใหญ่
ของลูกสุกรหย่านมเมื่อได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร

กรดไขมันระเหยได้ (mmol/L)	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
เจจูนัม+อีเลียม				
อะซิติก	15.93±0.84	13.58±2.11	13.23±1.40	16.26±2.21
โพรพิโอนิก	7.07±1.89	6.83±1.65	7.76±2.16	1.11±1.20
บิวทีริก	2.65±0.70	1.94±0.33	2.34±0.73	2.19±0.78
ลำไส้ใหญ่				
อะซิติก	124.34±10.61	1132.83±11.49	153.76±4.34	163.75±16.89
โพรพิโอนิก	35.59±7.03	44.90±4.63	47.54±5.19	46.66±4.71
บิวทีริก	16.95±6.54	18.52±6.73	20.18±1.04	23.73±2.13

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อีเลียม และลำไส้ใหญ่มีกรดอะซิติกมากกว่ากรดไขมันระเหยได้ชนิดอื่น และปริมาณกรดอะซิติกจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารนั้นเนื่องจากในอาหารมีปริมาณของเชื้อยีสสูงทำให้มีอัตราส่วนของกรดอะซิติกสูงกว่าในขณะที่สัตว์ที่กินอาหารจำพวกแป้งเป็นส่วนใหญ่จะมีอัตราส่วนของกรดโพรพิโอนิกสูงกว่าพวกที่กินอาหารเชื้อยีส (Herd, 1997)

การหมักย่อย NSP (fiber) และ resistant starch โดยแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในส่วนโคลอนและไส้ติ่ง จะได้กรดไขมันสายสั้น ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก ซึ่งจะมีผลกระทบต่อเซลล์โคลอนทั้งในเชิงโครงสร้างและบทบาทของเซลล์ (Scheppach, 1994) การหมักย่อยส่วนใหญ่เกิดขึ้นในโคลอนส่วนต้น และกรดไขมันสายสั้นที่เกิดขึ้นจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วเกือบทั้งหมด (95-99 เปอร์เซ็นต์) ที่เซลล์เยื่อบุผิวของโคลอนเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมขึ้นภายในเซลล์เยื่อบุลำไส้ และมีการขนส่งกรดไขมันระเหยได้ผ่านทางเส้นเลือดดำไปตับและส่งไปยังเนื้อเยื่ออื่น กรดไขมันบางส่วนจะถูกขับออกทางมูล ปัสสาวะ และลมหายใจ กรดไขมันสาย

สั้นที่ถูกดูดซึมให้พลังงาน 4.4 กิโลแคลอรีต่อกรัม (Gibson and Roberfroid, 1995; Eliot and Shronts, 1992)

กรดโพธิโอนิกประมาณครึ่งหนึ่งถูกใช้โดยตับสำหรับกระบวนการกลูโคเนโอเจเนซิส (gluconeogenesis) และอีกครึ่งหนึ่งถูกใช้โดยเซลล์ของโคลอน จากการทดลองในหนู พบว่า กรดอะซิติกและบิวทิริกถูกใช้ในการผลิตคีโตนบอดี้ (ketone bodies) อะซิโอะอะซิเตท (acetoacetate) และเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต (β -hydroxybutyrate) (Eliot และ Shronts, 1992) กรดบิวทิริก ถูกดูดซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อผิวของโคลอน เพื่อเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ของโคลอนส่วนท้ายโดยผ่านกระบวนการ β -oxidation ประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ของพลังงานที่ต้องการทั้งหมด นอกจากนี้ยังกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มขึ้นของเซลล์เยื่อผิวของโคลอน และคาดว่าจะมีผลในการป้องกันการอักเสบของลำไส้และป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอน (Bingham, 1996; Jacobasch *et al.*, 1999) นอกจากนี้กรดบิวทิริกร่วมกับกรดอะซิติกทำให้หลอดเลือดฝอยของเซลล์เยื่อผิวขยายตัว เพิ่มการไหลเวียนเลือดเข้าไปในลำไส้ และเพิ่มการเคลื่อนไหวของอิลีียม ดังนั้น การที่ร่างกายได้รับ resistant starch และเยื่อใยต่ำจะมีผลทำให้การผลิตกรดไขมันสายสั้นลดลงใน ส่วนโคลอนและอาจทำให้เกิดอาการผิดปกติของลำไส้ส่วนโคลอน (colonic disorders) สูงขึ้น (Scheppach, 1994)

2.6 การศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านม

จากการศึกษาพบว่า ลูกสุกรทุกกลุ่มการทดลองมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในการทดลองพบว่าอัตราการตายของสุกรที่กินอาหารสูตรที่ไม่มี และมีการกัมมันตภาพหลังหมัก 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 6.25 และ 3.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่สุกรกลุ่มที่กินอาหารที่มีการกัมมันตภาพหลัง 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ไม่พบการตายของสุกร ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรหย่านมที่กินอาหาร
ทดลองทั้ง 4 สูตร

	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
ระดับกากมันสำปะหลังหมัก	0%	3%	6%	9%
น้ำหนักเริ่มต้น (กก.)	9.51	9.47	9.52	9.53
น้ำหนักสุดท้าย (กก.)	20.65	21.03	20.34	20.64
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กก.)	11.13±0.85	11.55±0.68	10.82±0.56	11.36±0.84
ปริมาณอาหารที่กิน (กก./ตัว)	15.99±0.88	16.12±0.68	14.6±1.08	15.64±0.87
อัตราการเจริญเติบโต (กก./วัน)	0.40±0.03	0.41±0.02	0.39±0.02	0.41±0.03
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร	1.45±0.05	1.40±0.03	1.35±0.06	1.38±0.03
อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)	6.25	3.13	0	0

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

การเพิ่มกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารนั้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่ากลุ่มที่ไม่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (lactic acid bacteria) ในกากมันสำปะหลังหมักช่วยส่งเสริมให้เกิดขบวนการแข่งขันในการยึดเกาะผนังลำไส้ ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ที่เพิ่มสูงขึ้นไปแย่งพื้นที่ในการจับกับผนังลำไส้ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรครวม เช่น *E. coli* และ *Salmonella* spp. ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ สัตว์จึงมีสุขภาพที่แข็งแรง และเจริญเติบโตได้ดี (ศรีสุข, 2540; Ander, 1970) ซึ่ง Barrow *et al.* (1980) ได้ศึกษาการเสริมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก พบว่ากลไกการยึดเกาะจะเริ่มตั้งแต่แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเจริญติดกับผนังลำไส้ แล้วสามารถเพิ่มจำนวนการเพาะตัวในช่องทางเดินอาหาร (lumen) ของสุกรโดยจะยึดครองบริเวณตัวรับ (receptor) ที่ผิวเซลล์ทำให้แบคทีเรียที่ก่อโรครวมถูกกำจัดออกจากทางเดินอาหาร

สภาวะปกติทางเดินอาหารจะมีสมดุลระหว่างปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรครวมและปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ก่อโรครวม แต่ความเครียดต่างๆ ที่เกิดขึ้นในฟาร์ม ตลอดจนการเลี้ยงสุกรสมัยใหม่ ที่พยายามใช้สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วให้ผลผลิตสูง ยิ่งทำให้สุกรมีความเครียดมากขึ้นส่งผลให้สมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสุกรเสียไป โดยปริมาณ

จุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคจะเพิ่มมากขึ้นปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดโรคลดลงจนเป็นสาเหตุให้เกิดโรคหรือสภาพร่างกายอ่อนแอตามมา ซึ่ง *Lactobacillus* spp. จะไปช่วยควบคุมหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อร่างกายสัตว์ (อุทัย, 2535; กิจจา, 2537)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลการตรวจสอบชนิดแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในกากมันสำปะหลังหมัก และการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับลูกสุกรหย่านม สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. กากมันสำปะหลังสดมีแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์

2. การหมักกากมันสำปะหลังเป็นเวลา 3 วันในสภาวะไร้ออกซิเจนทำให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และยีสต์เพิ่มสูงขึ้น โดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่พบในกากมันสำปะหลังหมักมีทั้งหมด 10 ชนิด ดังนี้ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus manihottivorans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pumilus*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* (streptococcus spp. G.L) และ *Streptococcus uberis* ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้น มีถึง 4 ชนิดด้วยกันที่กำหนดให้ใช้เป็นสารเสริมชีวนะคือ *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* และ *Leuconostoc mesenteroides* และเมื่อนำกากมันสำปะหลังหมักมาผสมลงในอาหารทดลองพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกให้เพิ่มสูงขึ้นจนอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถใช้เป็นสารเสริมชีวนะได้ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539

3. ลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารที่เสริมกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียม และ สัดส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกต่อ *E. coli* ในลำไส้ใหญ่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง แต่ปริมาณ *E. coli* และ สัดส่วนระหว่างแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกต่อ *E. coli* ในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อิลีียม และปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และ *E. coli* ในลำไส้ใหญ่ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

4. ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลคติกในสิ่งย่อยของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม+อเลียม และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารทุกระดับมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

5. ลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารที่เสริมกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารส่งผลให้ลำไส้เล็กส่วนอเลียมมีความสูงวิลไล และสัดส่วนของความสูงวิลไลต่อความลึกครีปต์มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความลึกครีปต์ของลำไส้เล็กส่วนอเลียมมีเพียงแนวโน้มลดลง ($P=0.0659$) เมื่อเพิ่มการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร

6. ปริมาณกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม + อเลียม และกรดโพรพิโอนิก และ กรดบิวทีริก ในลำไส้ใหญ่ของลูกสุกรหย่านมที่กินอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารทุกระดับมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปริมาณกรดอะซิติกในลำไส้ใหญ่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ($P=0.1168$) เมื่อเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหาร

7. ลูกสุกรหย่านมที่ไม่ได้กิน และกินอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักในทุกกลุ่มการทดลองมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในลูกสุกรหย่านมกลุ่มที่กินอาหารที่มีกากมันสำปะหลัง 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ไม่พบการตายของสุกร

ดังนั้นการหมักกากมันสำปะหลังสดเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่มีอยู่ตามธรรมชาติให้เพิ่มสูงขึ้นจากเดิม อีกทั้งการนำกากมันสำปะหลังหมักมาใช้เป็นอาหารสำหรับลูกสุกรหย่านมยังไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต และสามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และช่วยให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของลูกสุกร นอกจากนี้การใช้กากมันสำปะหลังหมักยังช่วยเพิ่มกรดอะซิติกซึ่งมีผลต่อเซลล์เยื่อลำไส้ และกระตุ้นการเจริญของการสร้างเซลล์ของวิลไล และครีปต์ใหม่ จึงทำให้ลูกสุกรหย่านมได้รับผลกระทบจากจุลินทรีย์ก่อโทษลดลง สุกรจึงมีสุขภาพที่แข็งแรง และลดอัตราการตายของลูกสุกรในระยะอนุบาลลงได้

ข้อเสนอแนะ

1. การนำกากมันสำปะหลังหมักไปผสมลงในอาหารนั้นทำให้ความชื้นของอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการขึ้นรา ดังนั้นจึงไม่ควรเก็บอาหารผสมไว้นานเกิน 5 วัน เนื่องจากจะทำให้เกิดขึ้นราได้ส่งผลให้โภชนะ และการย่อยได้ของสัตว์ลดลง อีกทั้งการเก็บอาหารนานขึ้นส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในอาหารลดลงตามไปด้วย

2. จากการทดลองพบว่าเมื่อนำกากมันสำปะหลังหมักมาผสมลงในอาหารทำให้ปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกลดลง ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาวิธีการหมักกากมันสำปะหลังเพื่อให้มีปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น เช่นการเพิ่มแหล่งของไนโตรเจนลงในกากมันสำปะหลัง เนื่องจากในกากมันสำปะหลังนั้นมีระดับโปรตีนต่ำ อาจไม่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กิจจา อุไรรงค์. 2537. โรคที่มีผลเด่นชัดต่ออัตราการเจริญเติบโตของสุกรในปัจจุบัน, น. 193-208.
ใน การผลิตสุกรเชิงอุตสาหกรรม เล่ม 1. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม
- กรมวิชาการเกษตร. 2537. มันสำปะหลัง. เล่มที่ 7. งานทะเบียนและประมวลสถิติ กองแผนงาน
และวิชาการ
- กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2542. เทคโนโลยีของแป้ง. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรม
เกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 225 น.
- กานดา พันสุรินทร์. 2546. การศึกษาเปรียบเทียบการใช้มันสำปะหลังและข้าวโพดในสูตรอาหาร
ต่อระดับกรด-เบส และปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคร/ไม่ก่อโรครที่ปลายลำไส้เล็ก
ในสุกรระยะรุ่น และมูลสุกรระยะรุ่น, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
กรุงเทพฯ.
- คณิงนิจ กิจธรรมฤทธิ์. 2540. การศึกษาและการวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิต การใช้
และความต้องการ probiotic ของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์. ธุรกิจอาหารสัตว์. 14 (53) : 9-17
- จิราภรณ์ โล่ห้วงค์วัฒน. 2525. การผลิตกรดซิตริกจากกากมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อ *Aspergillus*
niger. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิพิเชษฐ์. 2519. มันสำปะหลัง. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชวนิศนดากร วรวรรณ. 2500. หลักการใช้อาหารสัตว์: หลักวิชาอาหารสัตว์โดยทั่วไปคุณค่า- วิธีใช้
อาหารสัตว์สำหรับประเทศไทย. แผนกวิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2541. สรีรวิทยาทางเดินอาหาร. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล. 348 น.

ดวงพร คันทโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์,
กรุงเทพฯ. น. 154-155

ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล. 2543. อาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทวี แก้วคง. 2527. โภชนศาสตร์สัตว์เบื้องต้นและการให้อาหารสัตว์. สำนักพิมพ์เกษตรไทย,
กรุงเทพฯ. 242 น.

ธีรพร กงบังเกิด. 2546. จุลชีววิทยาอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์
ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยนเรศวร. น. 8.

นรินทร์ ครองจิตต์. 2544. การนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในสัตว์ปีก. สัตว์เศรษฐกิจ. 19: 53-55.

บุญกร อุดรภิชาดิ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. น. 11-37.

ประยงค์ ประยูรหงส์. 2493. การเปรียบเทียบการใช้กากมันสำปะหลังและปลายข้าวเป็นอาหารขุน
หมู. วิทยานิพนธ์ประกอบการทำปริญญาตรี. คณะกสิกรรมและสัตวบาล
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประยูร สวนะสุจริต. 2495. การเปรียบเทียบการให้อาหารระหว่างปลายข้าวกับกากมันสำปะหลัง
สำหรับเป็นอาหารประเภทแบ่งในการใช้เป็นส่วนผสมสำหรับอาหารสุกร. วิทยานิพนธ์
ประกอบการทำปริญญาตรี. คณะกสิกรรมและสัตวบาล. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ

พวงเพชร นรินทรพร. 2547. การแปรรูปและการใช้ประโยชน์มันสำปะหลัง. ใน เอกสาร
วิชาการมันสำปะหลัง. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ลำดับที่ 7/2547.
ไอเดีย สแควร์, กรุงเทพฯ. น. 91-110

มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ
สยามบรมราชกุมารี และภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2546. มัน
สำปะหลัง. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเพื่อสร้างวิทยากรมันสำปะหลังในท้องถิ่น ครั้งที่ 1.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เมธา วรรณพัฒน์ และ นลอง วชิราภากร. 2533. เทคนิคการให้อาหารโคเนื้อและโคนม. ภาควิชา
สัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 142 น.

วราพันธุ์ จินตณวิทย์, สุกัญญา จิตตพรพงษ์, ฤทัยชนก มากระนิตย์, สุกัญญา ศรีมงคลงาม
และณัฐชา วิวัฒน์วงศ์วนา. 2549. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม
แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์ในระหว่างการหมักกากมันสำปะหลัง. ใน: เอกสารประชุม
ทางวิชาการ ครั้งที่ 44. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศรีสุข โลหะชาละ. 2540. ผลดีและประโยชน์ของสารเสริมชีวนะ (Probiotic) ต่อการเลี้ยงสัตว์.
สาส์นไก่และการเกษตร. 45:21-28

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2537. มันสำปะหลัง. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 210 น.

สมใจ ศิริโชค. 2537. เทคโนโลยีการหมัก. ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ. 250 น.

สาโรช คำเจริญ, เขาวมาลย์ คำเจริญ, ณรงค์ กิจพานิชย์, กนก ผลารักษ์ และสุกัญช งามศักดิ์. 2527.
คุณภาพผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไทยและการใช้มันสำปะหลังทดแทนผลิตภัณฑ์พืชอาหาร
สัตว์, น. 76-121. ใน. หนังสือที่ระลึกงานเกษียณอายุราชการ ศ. ดร. สุชีพ รัตธาร.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

_____ และ เขาวมาลย์ คำเจริญ. 2528. การใช้มันสำปะหลังในอาหารสัตว์ สุกร เป็ดและไก่.
วารสารเผยแพร่ชุมชนสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกรจำกัด. 1(1): 15-20.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ ผกาพรรณ สกุลมัน. 2545. อาหารหมักจากมันสำปะหลัง. ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันสุวรรณวรกิจกสิกิจฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล. 2546. การผลิตอาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังและกากน้ำตาลโดยการหมักแบบแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เสวนิตย์ คุปประเสริฐ. 2527. อาหารสัตว์เบื้องต้น. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่, สงขลา. 134 น.

อัจฉรา ลิมศิลาและ จรุงสิทธิ์ ลิมศิลา. 2547. พันธุ์มันสำปะหลัง. ใน เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ลำดับที่ 7/2547. ไอเดียสแควร์, กรุงเทพฯ. น. 91-110

อัจฉริยา จารุจินดา. 2529. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตกรดมะนาวจากวัสดุเหลือทิ้ง และวัตถุดิบราตาอุบบางชนิด *Aspergillus niger*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัย กันโซ. 2535. หลักการโปรไบโอติกในเชิงอาหารสัตว์. สุกรสาส์น. 18 (72): 11-16.

_____ และ สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2547. การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์: ผลการใช้และข้อมูลการวิจัยในประเทศไทย. ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวรกิจกสิกิจฯ และ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 99 น.

_____, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ ไพฑูรย์ มุลจิตร. 2548. การใช้กากมันสำปะหลังเป็นอาหารแม่สุกรอุ้มท้องและเลี้ยงลูก. 53-58 น. ในประชุมวิชาการครั้งที่ 43. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- Adlerberth, Y., S. Ahrne, M. L. Johansson, G. Molin, L. A. Hanson and A. E. Wold. 1996. A mannose-specific adherence mechanism in *Lactobacillus plantarum* conferring binding to human colonic cell line HT-29. **Appl. Environ. Microbiol.** 62:2244-2251.
- Ali Abdul Hussein S. AL-Janabi. 2006. Identification of bacitracin produced by local isolate of *Bacillus licheniformis*. **African Journal of Biotechnology.** 18: 1600-1601.
- Ander, R. F. 1970. Formation of hydrogenperoxide by group *Streptococci* and its effect on their growth and metabolism. **Appl. Microbiol.** 19:602-616.
- AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis.** 15th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Virginia.
- Atlas, R. M. and L. C. Park. 1993. **Handbook of Microbiology Media.** Boca Ration: CRC Press, Florida.
- Banks, J. G., R. G. Broad and N. H. C. Sparks. 1986. Natural antimicrobial systems and their potential in food preservation of the future. **Biotech. Appl. Biochem.** 8:103-147.
- Barbara, A. W., M. A. V. Martin and T. Seerp. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. **Nutr. Res. Rev.** 14:. 207-227.
- Barrow, G. I., R. K. A. Feltham. 1993. **Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria.** 3rd ed. Great Britain at the University Press, Cambridge. 50-90 p.
- Barrow, P. A., B. A. Brolleker, R. Fuller and M. J. Newport. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of intestinal. **Appl. Bacteriol.** 48: 147-154.

Bearso, S., B. Bearson and J. W. Foster. 1997. Acid stress responses in enterobacteria.

FEMS. Microl. Lett. 147:173-180.

Bingham, S. A. 1996. Epidemiology and mechanisms relating diet to risk of colorectal cancer.

Nutr. Res. Rev. 9: 197-239.

Blomberg, L., A. Henriksson and P. L. Conway. 1993. Inhibition of adhesion of *Escherichia*

coli K88 to piglet ileal mucus by *Lactobacillus* sp. **Appl. Environ. Microbiol.** 59: 34-39.

Bong-Joon Kim, Hye-Ja Lee, Sae-Young Park, Jeongho Kim and Hong-Ui Han. 2000.

Identification and characterization of *Leuconostoc gelidum*, isolated from kimchi, a ensilaged cabbage product. **J. Microbiol.** 38:132-136.

_____, Jongho Lee, Jichan Jang, Jeeongho Kim and Hongui Han. 2003. *Leuconostoc inhae* spp. Nov., a lactic acid bacterium isolated from kimchi. **Int. J. Sys. Evol. Microbiol.** 53:1123-1126.

Brookes, R. M. and A. E. Buckle. 1992. Lactic acid bacteria in plant silage. In. B. J. B. Wood

(ed). **The Lactic Acid Bacteria Volume I : The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease.** Great Britain at the University Press, Cambridge. 363-386 p.

Chateau, N., A. M. Deschamps and A. Hadsassi. 1994. Heterogeneity of bile salts resistance in

Lactobacillus isolates of a probiotic consortium. **Lett. Appl. Microbiol.** 18: 42-44.

Cheeke, P. R. and L. R. Shull. 1985. **Natural Toxicants in Feed and Poisonous Plant.** AVI

Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.

Christen, G. L., P. M. Davidson, J. S. McAllister and L. A. Roth. 1992. Coliform and other

indicator bacteria, pp. 247-269. In R. J. Marshall, (eds). **Standard Method for the Examination of Dairy Products.** 16th ed. Port City Press, USA.

- Barreau C. and G. Wagener. 1990. Characterization of *Leuconostoc lactis* strains from human sources. **J. Clin. Microbiol.** 28:1728-1733.
- Colin, W. 1998. **The Science and Practice of Pig Production**. 2nd ed. Blackwell Science, USA.
- Conway, P. L., A. Welin and P. S. Cohen. 1990. Presence of *Escherichia coli* specific receptor in porcine ileal mucous is age dependent. **Infect. Immune.** 58:3178-3182.
- Crawford, J. S. 1979. **Probiotic in animal nutrition**, pp 45-55. In Proceeding 1979. Arkansas Nutrition Conference, U.S.A.
- Cumming, J. H. 1983. Fermentation in the human large intestine: Evidence and implications for health. **Lancet.** : 1206-1209.
- De Man, J. D., M. Rogosa and M. E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacillus*. **J. Appl. Bact.** 23: 130.
- Duc, Le. H., Huynh A. Hong, Teresa M. Barbosa, Adriano O. Henriques and Simon M. Cutting. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotic available for human use. **Appl. Environ. Microbiol.** 70:2161-2171.
- Eliot, G. and E. P. Shronts. 1992. Intestinal fuels : Glutamine, short-chain fatty acids and dietary fiber. **J. Amer. Diet. Ass.** 92 (10): 1239-1246.
- Ewing, W. and W. Haresign. 1989. **Probiotic UK**. Chal Combe, United Kingdoms.
- Ferrero, M. A., G. R. Castro, C. M. Abate, M. D. Baigori and F. Sineriz. 1996. Thermostable alkaline protease of *Bacillus licheniformis* MJR29 : Isolation, production and characterization. **Appl. Microbiol. Biotech.** 45: 327-332.

- Franklin, M. A., A. G. Mathew, J. R. Vickers and R. A. Clift. 2002. Characterization of microbial population and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, Ileum and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 day of age. **J. Anim. Sci.** 80:2904-2910.
- Franz, C. M. A. P., D. M. Toit, N. A. Olasupo, U. Schillinger and W. H. Holzapfel. 1998. Plantaricin D, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BEF 905 from ready-to eat salad. **Lett. Appl. Microbiol.** 76:231-235.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. **J. App. Bacteriol.** 66 : 365-378
- Gabriella, C. and M. Simon. 2002. Cutting *Bacillus* Probiotics: Spore germination in the gastrointestinal tract. **Appl. Environ. Microbiol.** 68:2344-2352.
- Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotic. **J. Nutr.** 125: 1404-1412.
- Gordana R., Dimic. 2006. Characteristics of the *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Mesenteroides* strains from fresh vegetables. **APTEFF.** 37:1-192.
- Hall, G. A. and T. F. Byrne. 1989. Effect of age and diet on small intestine structure and function in gnotobiotic piglets. **Res. Vet. Sci.** 47: 387-392.
- Hammes, W. P. and R. F. Vogel. 1995. The genus *Lactobacillus*, pp. 19-54. . In B. J. B. Wood and W. H. Holzapfel (eds.) . **The Genera of Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria Volume 2.** Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Havenaar, R., B. T. Brink and J. H. J. Huis in't Veld. 1992. Selection of for probiotic use, pp. 209-221. In R. Fuller (ed.). **Probiotic: The Scientific Basis.** Chapman & Hall, London.

- Hentges, D. J. 1992. Gut flora in disease resistance. *In* R. Fuller (ed). **Probiotic: The Scientific Basis**. Chapman and Hall, London. UK, pp 87-110.
- Herd, T. 1997. Digestion: The fermentative process. *In*. G. Cunningham (ed). **Veterinary Physiology**. Pennsylvania.
- Hinton, A., G. E. Spates, D. E. Corrier, M. E. Hume, J. R. DeLoach and C. M. Scanlan. 1991. *In vitro* inhibition of the growth of *Samonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 by bacteria isolate from cecal contents of adult chickens. **J. Food Prot.** 54: 496-501.
- Imoto, S. and S. Namioka. 1978. VFA production in pig large intestine. **J. Anim. Sci.** 47: 467-478
- Jacobasch, G., D. Schmiedl, M. Kruchewski and K. Schmehl. 1999. Dietary resistance starch and chronic inflammatory bowel diseases. **Int. J. Colorectal Dis.** 14: 201-211.
- Jimenez-Diaz, R., R. M. Rios-Sanchez, M. Desmazeaud, J. L. Ruiz-Barba and J. C. Piard. 1993. Plantaricin S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCD 10 isolated from a green olive fermentation. **Appl. Environ. Microbiol.** 59: 1416-1424.
- Johnsson, E. and Conway P. 1992. Probiotics for pig. *In*. R. Fuller (ed). **Probiotic: The Scientific Basis**. Chapman and Hall. London. UK, pp 260-316.
- Juven, B. J., R. J. Meinersmann and N. J. Stern. 1991. Antagonistic effect of lactobacilli and pediococci control intestinal colonization by human enteropathogens in live poultry. **J. Appl. Bacteriol.** 70: 95-103.

- Kamau, D. N., S. Doores and K. M. Pruitt. 1990. Enhanced thermal destruction of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in the presence of starter culture in a laboratory medium and during meat fermentation. **J. Food Prot.** 62(9): 975-979.
- Ketiku, A. O. and V. A. Oyenuga. 1972. Change in the carbohydrate constitution of cassava root-tuber (*Manihot utilissima* Pohl.) during growth. **J. Sci. Fd. Agric.** 23: 1451-1456.
- Khajarearn, S., J. M. Khajarearn, A. Vibulchai and P. Prechanont. 1979. Effect of supplementation of cassava based diets on growth performance of pigs, pp. 133-142. *In* KKU-IDRC. **Cassava/Nutrition Project 1978**. Ann. Rep. Khon Kaen Univ., Khon Kaen.
- Lessard, M. and G. J. Brisson. 1987. Effect of a lactobacillus fermentation product on growth, immune response and fecal enzyme activity in weaned pigs. **Can. J. Anim. Sci.** 67: 509-516.
- Lindgren, S. E. and W. J. Dobrogosz. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. **FEMS Microbiol. Rev.** 87: 149-163.
- MacDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh and C. A. Morgan. 2002. **Animal Nutrition**, 6th ed., Ashford Colour Press Ltd., Gosport. pp 616-621.
- Maria, A., Martins Rodrigues, Deise A. de Oliverira Sillva, A. Taketomi and Francisco J. Hernandez-Blazquez. 2007. IgA production, coliforms analysis and intestinal mucosa morphology of piglets that received probiotics with viable or inactivated cells. **Pesq. Vet. Bras.** 27: 241-245.
- Marinho, M. C., M. A. Pinho, R. D. Mascarenhas, F. C. Silva, M. M. Lordelo, L. F. Cunha and J. P. B. Freire. 2007. Effect of prebiotic or probiotic supplementation and ileo rectal anastomosis on intestinal morphology of weaned piglets. **Livest. Sci.**, 108: 240-243.

- Mayra-Makinen, A. and M. Bigret. 1998. Industrail use and production of lactic acid bacteria, pp. 81-82. *In* S. Salminen and A. von Wright (eds.). **Lactic Acid Bacteria**. 2nd ed. Mercel Dekker Inc., New York.
- McMillan, A. M. and F. J. Dudley. 1941. Potato meal, tapioca meal and town waste in chicken rations. **J. Poult.** 24:191.
- Waites, M. J., L. M. Neil, J. S. Rockey and G. Higon. 2001. **Industrial Microbiology: An Introduction**. Blackwell Science KK, London.
- Muralidhara, K. S., G. G. Sheggeby, P. R. Elliker, D. C. England and W. E. Sandine. 1977. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. **J. Food Prot.** 40: 288-295.
- Nartey, F. 1973. Biosynthesis of cyanogenic glucosides in cassava (*Manihot* spp.), pp. 73-87. *In* B. Nestel and R. MacIntyre, (eds.). **Chronic Cassava Toxicity**. Int. Dev. Res. Cent., IDRC-010e, Ottawa.
- Nousiainen, J. and J. Setala. 1998. Lactic acid bacteria as animal probiotics, pp. 431-473 *In* S. Salminen and A. von Wright (eds.). **Lactic Acid Bacteria**. 2nd ed., Mercel Dekker Inc., New York.
- Ocana, V. S., A. A. Pesce de Ruiz Holgado and M. E. Nader-Macias. 1999. Selection of vaginal H₂O₂-Genarating *Lactobacillus* species for probiotic. **Curr. Microbiol.** 38: 279-284
- Onwueme, I. C. 1978. **The Tropical Tuber Crops**. John Wiley & Sons Inc., New York. 274 p.
- Onwueme, I. C. and W. B. Charles. 1994. **Tropical Root and Tuber Crops: Production, Perspectives and Future Prospects**. FAO Plant Production and Protection Paper. Rome, Italy.

- Pluske, J. R., I. H. Williams and F. X. Aherne. 1996. Maintenance of villus height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **J. Anim. Sci.** 62: 131-144.
- Reddy, G. V., K. M. Shahani, B. A. Friend and R. C. Chandah. 1984. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus III* : Production and partial purification of bulgarican from *Lactobacillus bulgaricus*. **Cult. Dairy Prod. J.** 19: 7-11.
- Robinson, L. 1957. **The Feeding Stuffs Modern Poultry Husbandry**. Grosby Lockwood & Sons Ltd., London. 746 p.
- Rolfe, D. R. 2000. The role of probiotic culture in the control of gastrointestinal health. **J. Nutr.** 130: 396-402.
- Rubin, H. E. 1978. Toxicology model for a two-acid system. **Appl. Environ. Microbiol.** 36: 623-624
- SAS. 2003. **SAS Use's Guide: Statistic**. SAS Institue Inc., North Carolina. USA.
- Sasaki, T., Y. Meade and S. Namioka. 1987. Immunopotential of the mucosa of the small intestine of weaning piglets by peptidoglycans. **Jpn. J. Vet. Sci.** 49: 235-243.
- Savage, D. C. 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Ann. Rev. Microbiol.** 3: 107-133.
- Scheppach, W. 1994. Effect of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut.** 35 (Suppl 1): S35-38.
- Teresa, M. B., S. R. Claudia, M. R. Roberto, J. W. Martin, and O. H. Adriano. 2005. Screening for Bacillus isolate in the broiler gastrointestinal tract. **Appl. Environ. Microbiol.** 71: 968-978.

- Van Beers-Schreurs, H. M., J. A. Nabuurs, L. Velenga, H. J. Kalsbeek-van der Valk, T. Wensing and H. J. Breukink. 1998. Weaning and the weaning diet influence the villus high and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short chain fatty acids in the large intestine and blood. **J. Nutr.** 128: 947-953
- William, G. M., C. S. Richter, J. M. Mackenzie and J. C. H. Shih. 1990. Isolation identification and characterization of a feather-degrading bacterium. **Appl. Environ. Microbiol.** 56: 1509-1515.
- Winsen, R. L., B. A. P. Urlings, L. J. A. Lipman, J. M. A. Snijders, K. David, J. H. M. Verheijden and K. Frans. 2001. Effect of ensilaged feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. **Appl. Environ. Microbiol.** 67: 3071-3076.
- Woolford, M. K. 1985. The silage fermentation, *In*. Wood (ed.). **Microbiology of Ensilaged Foods.** Elsevier Applied Science Publishers, Essex.
- Yimin C., B. Yoshimi, T. Akiko, Y. Tsutomi, I. Tamiko and N. Takashi. 1998. Characterization of *Leuconostoc* species isolate from vacuum-packaged ham. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 44: 153-159.

ภาคผนวก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Coliform Agar ใช้ในการทดสอบหาแบคทีเรีย *E. coli* และ Coliform ปัจจุบันสามารถเตรียมได้จาก Coliform agar ผง โดยการชั่งน้ำหนักผลวุ้นสำเร็จรูป 26.5 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายผงอาหารวุ้นในน้ำกลั่น ต้มเดือดก่อนบรรจุขวด และปิดฝานึ่งในหม้อความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่อนำไปใช้ให้ความร้อนอาหารวุ้นจนอยู่ในสภาพของเหลว จากนั้นนำไปแช่ใน waterbath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Christen *et al.*, 1992)

Coliform agar ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

Peptone	3.0 กรัม/ลิตร
Sodium chloride	5.0 กรัม/ลิตร
Sodium dichloridephosphate	2.2 กรัม/ลิตร
di-sodium hydrogenphosphate	2.7 กรัม/ลิตร
Tryptophan	1.0 กรัม/ลิตร
Sodium pyruvate	1.0 กรัม/ลิตร
Tergitol	70.15 กรัม/ลิตร
Sorbital	1.0 กรัม/ลิตร
Chromogenic mix	0.4 กรัม/ลิตร
Agar	10.0 กรัม/ลิตร
ปรับ กรด-เบส 6.8 ± 0.2 (25°C)	

2. Man Rogosa Sharpa Agar (MRS agar) ใช้ในการทดสอบ *Lactobacillus* spp ปัจจุบันสามารถเตรียมได้จาก MRS agar ผง โดยการชั่งน้ำหนักผงสำเร็จรูป 66.8 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายผงอาหารวุ้นในน้ำกลั่น ต้มเดือดก่อนบรรจุขวดและปิดฝานึ่งในหม้อความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่อนำไปใช้ให้ความร้อนอาหารวุ้นจนอยู่ในสภาพของเหลว จากนั้นนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Deman *et al.*, 1960)

MRS agar ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

Peptone from casein	10.0 กรัม/ลิตร
Meat extract	8.0 กรัม/ลิตร
Yeast extract	4.0 กรัม/ลิตร

D (+) glucose	20.0 กรัม/ลิตร
di-potassium hydrogenphosphate	2.0 กรัม/ลิตร
Tween [®] -80	1.0 กรัม/ลิตร
di-amonium hydrogen citrate	2.0 กรัม/ลิตร
Sodium acetate	5.0 กรัม/ลิตร
Magnesium sulfate	0.2 กรัม/ลิตร
Manganese sulfate	0.04 กรัม/ลิตร
Agar	14.0 กรัม/ลิตร

ปรับ กรด-เบส 5.7 ± 0.2 (25°C)

3. Yeast extract Peptone Dextrose Agar (YPD agar) ใช้ในการทดสอบหา Yeast สามารถเตรียมได้โดยชั่งส่วนประกอบต่อน้ำ 1 ลิตร ต้มเดือดก่อนบรรจุขวดและปิดฝานึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่อนำไปใช้ให้ความร้อนอาหารอุ่นจนอยู่ในสภาพของเหลวจากนั้นนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Atlas and Park , 1993)

YPD agar ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

Peptone	20.0 กรัม/ลิตร
Yeast extract	10.0 กรัม/ลิตร
Dextrose	20.0 กรัม/ลิตร
Streptomycin 1 %	5.0 กรัม/ลิตร
Lactic acid 10 %	5.0 กรัม/ลิตร
Agar	18.0 กรัม/ลิตร

การเตรียม Neutral Buffer Formalin (NBF)

NBF ประกอบด้วย

Formalin (37-40 % formaldehyde)	100 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	900 มิลลิลิตร
Sodium phosphate monobasic (NaH ₂ PO ₄)	4 กรัม
Sodium phosphate dibasic (anhydrous) (Na ₂ HPO ₄)	6.5 กรัม

การเตรียม phosphate buffer solution (PBS)

PBS ประกอบด้วย

NaCl

8 กรัม

NaH_2PO_4

1.38 กรัม

น้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร

1 ลิตร

ปรับ กรด-เบส ด้วย 40 % NaOH ให้ได้ กรด-เบส 7.4

ตารางผนวกที่ 1 ลักษณะสำหรับจำแนก *Lactobacillus* spp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at																		
15°C	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	N
45°C	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	+	-	-	+	+	-	N
Fermentation																		
Amygdalin	+	d	-	d	-	-	+	+	+	-	ND	+	-	+	+	+	-	N
Cellobiose	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	ND	+	d	d	+	+	+	N
Galactose	+	+	+	N	-	+	+	+	+	+	ND	+	+	d	+	+	+	N
Lactose	+	-	-	d	-	+	+	d	d	+	-	d	+	-	+	-	+	-
Maltose	+	+	+	+	-	+	+	d	d	d	+	+	+	-	+	+	+	N
Mannitol	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Mannose	+	+	+	N	+	d	+	+	+	d	ND	+		+	+	+	+	N
Melibiose	d	d	-	+	-	+	-	+	d	-	-	d	+	-	+	-	-	-
Raffinose	d	d	-	d	-	+	-	+	d	-	-	d	+	-	+	-	-	+
Salicin	+	d	-	+	-	-	+	+	+	-	ND	+	-	+	+	+	+	N
Sucrose	+	+	-	N	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+
Trehalose	d	-	-	d	d	-	+	-	d	d	-	d	-	+	+	+	+	N
1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	8. <i>Lactobacillus gallinarum</i>										15. <i>Lactobacillus manihotivorans</i>							
2. <i>Lactobacillus amylolyticus</i>	9. <i>Lactobacillus gasseri</i>										16. <i>Lactobacillus nagelii</i>							
3. <i>Lactobacillus amylophilus</i>	10. <i>Lactobacillus helveticus</i>										17. <i>Lactobacillus pantheris</i>							
4. <i>Lactobacillus animalis</i>	11. <i>Lactobacillus iners</i>										18. <i>Lactobacillus psittaci</i>							
5. <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	12. <i>Lactobacillus johnsonii</i>																	
6. <i>Lactobacillus equi</i>	13. <i>Lactobacillus kefiranoferiens</i>																	
7. <i>Lactobacillus farciminis</i>	14. <i>Lactobacillus mali</i>																	

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 – 84 % strains positive, - = 0 – 15 % strains positive,

ND = no data available

ที่มา: Hammes and Vogel (1995)

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at																
15°C	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
45°C	-	-	+	-	-	-	-	-		-	-	+	-	+	d	+
Fermentation																
arabinose		-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
maltose	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mannitol	-	d	+	-	+	+	-	+	-	-	d	+	-	d	+	-
mannose	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
melezitose		-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
melibios	-	-	+	d	-	d	-	-	-	-	-	d	-	+	-	-
galactose	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
lactose	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ribose		d	+	+	+	-	+	+	+	-	d	d	+	+	+	+
raffinose	-	-	+	d	-	d	-	-	-	-	-	d	-	+	-	-
sorbitol		-	d	-	+	d	-	+	-	-	-	-	-	-	d	-
trehalose	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
xylose		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
20. <i>Lactobacillus shapeae</i>				27. <i>Lactobacillus fornicalis</i>				34. <i>Lactobacillus paracasei</i>								
21. <i>Lactobacillus acetotolerans</i>				28. <i>Lactobacillus fuchuensis</i>				35. <i>Lactobacillus paralimentarum</i>								
22. <i>Lactobacillus agilis</i>				29. <i>Lactobacillus graminis</i>												
23. <i>Lactobacillus algidus</i>				30. <i>Lactobacillus homohiochii</i>												
24. <i>Lactobacillus bifermentans</i>				31. <i>Lactobacillus intestinalis</i>												
25. <i>Lactobacillus coryneformis</i>				32. <i>Lactobacillus kimchi</i>												
26. <i>Lactobacillus curvatus</i>				33. <i>Lactobacillus murinus</i>												

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 – 84 % strains positive, - = 0 – 15 % strains positive,

ND = no data available

ที่มา: Hammes and Vogel (1995)

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

	36	37	38	3	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at																
15 °C	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-
45 °C	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	d	ND	+
Fermentation																
arabinose	d	d	d	+	-	-	+	+	d	-	-	-	d	+	+	+
maltose	ND	+	ND	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	d	-	-
mannitol	+	+	+	+	+	d	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+
mannose	ND	+	+	-	-	-	-	+	w	-	-	-	-	d	ND	-
melezitose	+	d	+	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-	+	-
melibios	+	+	-	+	+	-	+	d	+	-	-	-	d	+	+	+
galactose	ND	+	ND	d	d	-	+	+	+	-	-	-	d	+	+	+
lactose	ND	+	+	d	+	ND	ND	ND	ND	N	-	-	ND	ND	ND	ND
ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	w	-	+	+	+	+	+
raffinose	d	+	-	d	-/d	-	-	d	+	-	-	-	d	+	+	+
sorbitol	d	+	+	d	d	-	-	+	+	d	-	-	+	+	+	+
trehalose	ND	+	+	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-	-
xylose	-	d	+	-	d/+	-	+	+	d	-	-	-	d	+	-	-
36. <i>Lactobacillus palaplantarum</i>				43. <i>Lactobacillus ferintoshensis</i>				50. <i>Lactobacillus parabuchneri</i>								
37. <i>Lactobacillus plantarum</i>				44. <i>Lactobacillus fermentum</i>				51. <i>Lactobacillus reuteri</i>								
38. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>				45. <i>Lactobacillus fructivorans</i>												
39. <i>Lactobacillus brevis</i>				46. <i>Lactobacillus lindneri</i>												
40. <i>Lactobacillus buchneri</i>				47. <i>Lactobacillus malefermentans</i>												
41. <i>Lactobacillus coleohominis</i>				48. <i>Lactobacillus mucosae</i>												
42. <i>Lactobacillus collinoides</i>				49. <i>Lactobacillus oris</i>												

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 – 84 % strains positive, - = 0 – 15 % strains positive,

ND = no data available

ที่มา: Hammes and Vogel (1995)

ตารางผนวกที่ 2 ลักษณะสำหรับจำแนก *Streptococcus* spp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Requires CO ₂ for growth	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-
Hydrolysis of										
Hippurate	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
aesculin Hydrolysis of	d	-	-	-	d	d	d	d	+	+
arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentation of										
ribose	-	+	-	+	d	+	+	-	+	+
arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mannitol	D	-	-	-	-	-	-	d	+	+
sorbitol	-	-	-	d	+	-	-	-	+	+
adonital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
lactose	+	d	-	+	+	d	d	d	d	+
raffinose	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d
innulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
starch	+	d	+	+	+	+	+	d	d	d
1. <i>Streptococcus pyogen</i>	7. <i>Streptococcus</i> spp. Group G									
2. <i>Streptococcus agalactiae</i>	8. <i>Streptococcus anginosus</i>									
3. <i>Streptococcus equi</i>	9. <i>Streptococcus porcinus</i>									
4. <i>Streptococcus dysgalatae</i>	10. <i>Streptococcus uberis</i>									
5. <i>Streptococcus zooepidemicus</i>										
6. <i>Streptococcus equisimilis</i>										

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 - 84 % strains positive, - = 0 - 15 % strains positive,

ND = no data available, D = Different reactions given by lower taxa (genera, species, varieties)

ที่มา: Barrow and Feltham (1993)

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

	11	12	13	14	15	16
Catalase	-	-	-	-	-	-
Requires CO ₂ for growth	-	-	-	-	-	-
Hydrolysis of						
Hippurate	-	d	-	-	-	-
aesculin Hydrolysis of	+	-	d	+	d	-
arginine	+	+	d	+	+	-
starch	-	-	-	-	-	-
Fermentation of						
ribose	-	+	-	-	-	-
arabinose	-	-	-	-	-	-
mannitol	-	-	-	-	-	-
sorbitol	-	-	-	-	-	-
adonital	-	-	-	-	-	-
sucrose	+	+	+	+	+	d
lactose	+	+	+	+	+	d
raffinose	D	-	d	d	d	d
innulin	d	-	d	d	-	-
starch	+	+	d	d	d	d
11. <i>Streptococcus suis</i>	16. <i>Streptococcus</i> spp. Pyridoxal					
12. <i>Streptococcus</i> spp. Group L	or cysteine dependent					
13. <i>Streptococcus pneumoniae</i>						
14. <i>Streptococcus sanguis</i>						
15. <i>Streptococcus oralis</i>						

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 - 84 % strains positive, - = 0 - 15 % strains positive,

ND = no data available, D = Different reactions given by lower taxa (genera, species, varieties)

ที่มา: Barrow and Feltham (1993)

ตารางผนวกที่ 3 ลักษณะสำหรับจำแนก *Bacillus* spp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Gram reaction	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	d	+	d	d	d	-	d
Growth at																		
50°C	-	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	-	+	+	-	+	d
Anaerobic	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	d	+	-	+
Hydrolysis of																		
Hippurate	-	-	-	-	+	+	-	+	d	-	-	+	d	-	+	+	+	-
starch	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
Fermentation																		
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
cellulose	-	d	d	d	-	d	+	+	+	+	+	d	d	-	d	+	-	+
galactose	-	-	d	-	-	d	+	+	d	+	d	d	-	-	-	d	-	+
mannose	-	-	-	d	d	+	d	+	+	+	d	+	d	d	+	d	-	+
melibiose	-	-	-	-	-	d	+	d	d	d	d	+	-	-	d	d	-	+
raffinose	-	-	-	-	-	-	d	+	+	d	+	+	-	-	d	+	-	+
salicin	-	+	d	d	-	d	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	-	+
xylose	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	d	d	-	-	d	-	-	+
1. <i>Bacillus anthracis</i>																		
2. <i>Bacillus cereus</i>																		
3. <i>Bacillus mycoides</i>																		
4. <i>Bacillus thuringiensis</i>																		
5. <i>Bacillus firmus</i>																		
6. <i>Bacillus lentus</i>																		
7. <i>Bacillus megaterium</i>																		
8. <i>Bacillus pumilus</i>																		
9. <i>Bacillus subtilis</i>																		
10. <i>Bacillus licheniformis</i>																		
11. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>																		
12. <i>Bacillus coagulans</i>																		
13. <i>Bacillus laterosporus</i>																		
14. <i>Bacillus pantothenicus</i>																		
15. <i>Bacillus stearothermophilus</i>																		
16. <i>Bacillus alvei</i>																		
17. <i>Bacillus brevis</i>																		
18. <i>Bacillus circulans</i>																		

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 - 84 % strains positive, - = 0 - 15 % strains positive,

ND = no data available, D = Different reactions given by lower taxa (genera, species, varieties)

ที่มา: Barrow and Feltham (1993)

ตารางผนวกที่ 4 ลักษณะสำหรับจำแนก *Leuconostoc* spp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Growth at 37 °C	-	-	ND	ND	+	v	+	+	+
Growth at 41 °C	ND	ND	ND	ND	-	ND	+	ND	ND
Fermentation of									
amygdalin	+	-	-	+	w	ND	-	ND	ND
arabinose	+	-	+	+	+	+	+	v	-
cellulose	+	-	+	+	d	+	-	v	-
galactose	-	-	+	+	+	+	-	+	-
lactose	-	-	-	+	d	-	+	v	-
mannose	ND	ND	ND	ND	+	ND	-	ND	+
manitol	-	+	-	+	+	+	-	-	w
maltose	-	-	+	+	+	-	-	ND	-
melibiose	+	-	+	-	+	-	-	+	-
raffinose	+	-	+	-	+	-	-	+	-
ribose	-	V	ND	ND	+	-	-	+	-
trehalose	+	+	+	ND	+	+	+	+	-
xylose	+	-	-	-	d	-	-	+	-
1. <i>Leuconostoc gelidum</i>	8. <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>								
2. <i>Leuconostoc cernosum</i>	9. <i>Leuconostoc falla</i>								
3. <i>Leuconostoc gasicomi</i>									
4. <i>Leuconostoc kimchii</i>									
5. <i>Leuconostoc mesenteroides</i>									
6. <i>Leuconostoc citreum</i>									
7. <i>Leuconostoc lactis</i>									

หมายเหตุ + = 85 - 100% strains are positive, d = 16 – 84 % strains positive, - = 0 – 15 % strains positive,

ND = no data available, v = variable, w = weakly possitive

ที่มา: Claude and Georges (1990); Yiminoai *et al.* (1998); Bong-Joon *et al.* (2000);

Bong-Joon *et al.* (2003)



ภาพผนวกที่ 1 การวัดความสูงวิลไล และความลึกคริปต์ โดยใช้กล้องโทรทรรศน์กำลังขยาย
objective 40X

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวกฤติกา กาบพลอย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 สิงหาคม 2526
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียน ราชวินิตบางแก้ว จ.สมุทรปราการ พ.ศ. 2544 วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยา เขตกำแพงแสน พ.ศ. 2548
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี