อภินันทนาการ

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติสำหรับสุกรหลังหย่านม

(Natural Feed Supplement Product Development for Weaned Pigs)

โดย วันดี ทาตระกูล และคณะ

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน ๘ - ม.ค. ๒๕๕๘
เลขทะเบียน 1.6488822 c.2
เลขเรียกหนังสือ ว SF 98 .A2 ว429ร 2557

สิงหาคม 2557

สัญญาเลขที่ R2556B035

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติ
สำหรับสุกรหลังหย่านม
(Natural Feed Supplement Product
Development for Weaned Pigs)

คณะผู้วิจัย และสังกัด

1. รองศาสตราจารย์ ดร. วันดี ทาตระกูล
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอรส รักชาติ
3. ดร. สนธยา นุ่มท้วม
4. ดร. อมรรัตน์ วันอังคาร

สังกัด : คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

5. ดร. ทินกร ทาตระกูล
สังกัด : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เขตพื้นที่
พิษณุโลก

สนับสนุนโดย กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติสำหรับสุกรหลังหย่านม

วันดี ทาตระกูล[1*] โอรส รักชาติ[1] สนธยา นุ่มท้วม[1] อมรรัตน์ วันอังคาร[1] ทินกร ทาตระกูล[2]

[1] คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

[2] มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เขตพื้นที่พิษณุโลก ต. บ้านกร่าง อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อประเมินศักยภาพของสารเสริมที่เตรียมจากส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (Essential oil mixture; EOM) ที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู สะระแหน่ และผิวส้ม อย่างละ 0.06 % และกรดอินทรีย์ผสม (Organic acid mixture; OAM) ที่ประกอบด้วย กรดฟิวมาลิค กรดแลคติค และกรดซิตริค อย่างละ 0.11% ผสมกับพรีไบโอติคที่เตรียมได้จากกล้วยดิบ (Pre) ในสัดส่วน OM+OAM:Pre 1:1 (EOP) ที่เสริมและไม่เสริมโพรไบโอติค ทดลองในสุกร ดูร็อค x (ลาร์จไวท์ X แลนด์เรซ) หย่านมอายุ 21 วัน แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลองตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ได้แก่การทดลองที่ 1 ใช้จำนวนสุกร 36 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม อาหารกลุ่มควบคุมไม่มีการเสริมสารเสริมใดๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วย EOP 0.5 และ 1 % ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการผลิตของสุกรในกลุ่มที่เสริม EOP ดีกว่า (P<0.05) กลุ่มควบคุม ระดับการเสริม EOP ที่ 1% ให้ผลดีที่สุด (P<0.05) ด้านน้ำหนักตัวที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต และปริมาณอาหารที่กิน โดยสรุปแล้ว ส่วนผสมของ EOM+OAM: Pre ที่ 1:1 ในระดับการใช้เสริมในอาหาร 1% ในอาหาร มีศักยภาพในการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสุกรหลังหย่านม การทดลองที่ 2 จำนวนสุกร 50 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่มตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยสุกรทั้ง 5 กลุ่มได้รับอาหารดังต่อไปนี้ กลุ่มที่ 1 (Control) กลุ่มควบคุมสุกรได้รับอาหารฐาน กลุ่มที่ 2 สุกรได้รับอาหารฐาน+EOP 1% กลุ่มที่ 3 สุกรได้รับอาหารฐาน+EOP 1% +*Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF) กลุ่มที่ 4 สุกรได้รับอาหารฐาน+EOP 1% +*Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA) และกลุ่มที่ 5 สุกรได้รับอาหารฐาน+EOP+EF+LA ผลการทดลองตลอด 6 สัปดาห์ ให้ผลด้านประสิทธิภาพการผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) ของทุกกลุ่มการทดลอง แต่พบว่าในสัปดาห์แรกหลังหย่านม จะเห็นผลชัดเจนในช่วงสัปดาห์แรก กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติค ของสุกรกลุ่มที่ 2-5 มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราแรกเนื้อดีกว่า (P<0.05) กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP เพียงอย่างเดียว และจากผลการตรวจสอบเชื้อจุนทรีย์ที่พบจากทวารหนักสุกร พบว่ากลุ่มที่เสริมโพรไบโอติค *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml ร่วมกับ EOP 1% ช่วยลดปริมาณ *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* และ Coliform bacteria ต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.002) ดังนั้นสรุปได้ว่า สารเสริมในลูกสุกรหลังหย่านมที่เหมาะสม ควรประกอบด้วย EOP 1% และ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml โดยระยะเวลาที่เหมาะสมของการเสริมในอาหารคือสัปดาห์แรกหลังสุกรหย่านม

คำสำคัญ: สารเสริมในอาหารสัตว์ ลูกสุกร น้ำมันหอมระเหย กรดอินทรีย์ พรีไบโอติค โพรไบโอติค

---

*Corresponding author: Email : wandeeta@nu.ac.th

Natural Feed Supplement Product Development for Weaned Pigs

Wandee Tartrakoon [1]*, Orose Rugchati[1], Sonthaya Numthuam[1], Amornrat Wanankarn[1], Tinnagon Tartrakoon[2]

[1] Faculty of Agriculture Natural Resource and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

[2]Rajamangala University of Technology Lanna, Phitsanulok Campus, Phitsanulok 65000, Thailand

Abstract

The objective of this study to evaluate the potentiality of feed supplement prepared from essential oils mixture (EOM) contained each of 0.06% clove oil, peppermint oil and orange peel oil and organic acid mixture (OAM) contained each of 0.11% fumaric acid, lactic acid and citric acid, mixed with prebiotics prepared from raw bananas (Pre) at the ratio of EOM+OAM:Pre 1:1 (EOP) with and without probiotic supplementation. Two experiments were conducted using 21-day-old Duroc x (Large white x Landrace) weaning pigs in Completely Randomized Design. A total of thirty six pigs were divided into 3 groups in the first experiment. The control diet was the diet without any supplement compared with the diets supplemented with EOP 0.5 and 0.1%, respectively. There were better of productive performances (P< 0.05) of the pigs fed the diet supplemented with EOP than the pigs fed control diet. Inclusion level of 1% EOP had the best (P<0.05) for weight gain, average daily gain and daily feed intake than the others. The suitable mixture of EEO-OAM:Pre at the ratio of 1:1 at 1% inclusion level in the diet had potentially be used as feed supplements for weaning pigs. The second experiment, a total of 50 pigs were randomly allotted to 5 treatments. The dietary treatment included a basal diet supplemented with none (control), 1% EOP, 1% EOP+ *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF), 1%EOP+*Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA) and 1%EOP1+EF+LA. The average results of pigs for 6 weeks of experimental period showed no significant different (P<0.05) of productive performances. However, the pigs fed diets supplemented with EOP+LA, EOP+EF and EOP+LA+FA had better an average daily gain and feed conversion ratio than (P<0.05) the pigs fed diets supplemented only EOP and control diet. *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* and Coliform bacteria could be reduced from the anus of the pigs fed diets supplemented with 1%EOP+LA (P<0.002). In conclusion, suitable composition of feed supplements for weaned pigs contains 1%EOP plus *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml and should be supplemented at the first week after weaning.

Keywords: feed supplements, piglets, essential oil, organic acids, prebiotics, probiotics

---

*Corresponding author : Email : wandeeta@nu.ac.th

แบบสรุปผลการวิจัยโดยย่อ

1. ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติสำหรับสุกรหลังหย่านม

(ภาษาอังกฤษ) Natural Feed Supplement Product Development for Weaned Pigs

2. รายชื่อคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

2.1 **หัวหน้าโครงการวิจัย** รศ. ดร. วันดี ทาตระกูล
หน่วยงาน : คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
ภาควิชา วิทยาศาสตร์การเกษตร
โทรศัพท์/โทรสาร : 0-5596-2737/0-5596-2704
E-mail : wandeeta@nu.ac.th

2.2 **ผู้ร่วมวิจัย :** ผศ.ดร. โอรส รักชาติ
หน่วยงาน : คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
ภาควิชา อุตสาหกรรมเกษตร
โทรศัพท์/โทรสาร : 0-5596-2745/0-5596-1987
E-mail : oroser@nu.ac.th

2.3 **ผู้ร่วมวิจัย :** ดร.สนธยา นุ่มท้วม
หน่วยงาน : คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
ภาควิชา วิทยาศาสตร์การเกษตร
โทรศัพท์/โทรสาร: 0-5596-2734/ 0-5596-2704
E-mail : ayahtnos@gmail.com

2.4 **ผู้ร่วมวิจัย :** ดร. อมรรัตน์ วันอังคาร
หน่วยงาน คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
ภาควิชา วิทยาศาสตร์การเกษตร
โทรศัพท์/โทรสาร: 0-5596-2725/0-5596-2704
E-mail : Amornrat_Wanangkarn@hotmail.com

2.5 **ผู้ร่วมวิจัย :** ดร. ทินกร ทาตระกูล
หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เขตพื้นที่พิษณุโลก ต. บ้านกร่าง อ. เมือง จ. พิษณุโลก
โทรศัพท์/โทรสาร: 0-5529-8438-40 ต่อ 122/ 0-5529-8440
Email address: ttin15@rmutl.ac.th

3. ระยะเวลาทำการวิจัย วันที่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 1 ตุลาคม 2556

4. ความเป็นมา/ปัญหาในการวิจัย

ระยะของสุกรที่ความไวต่อการสูญเสียได้การแก่ระยะหลังหย่านม อันเนื่องมาจากหลายๆ สาเหตุ ส่วนใหญ่ได้แก่ เกิดจากความเครียดอันเนื่องมาจาก การถูกพรากจากแม่ การต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมใหม่ เพื่อนใหม่ การที่ต้องกินอาหารข้นแทนที่น้ำนมจากแม่ กอรปกับในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ระบบภูมิต้านทานโรคยังพัฒนาได้ไม่เต็มที่ ทำให้อาการที่แสดงออกให้เห็นเป็นอันดับแรกคือ อาการท้องเสียหรือท้องร่วง การรักษาโดยการใช้ยาหรือสมุนไพรบางชนิดอาจทำให้สุกรหายจากอาการดังกล่าว แต่ผลกระทบทางเศรษฐกิจคือสุกรจะชะงักการเจริญเติบโตระยะหนึ่ง หรืออาจแคระแกรน ทำให้การนำไปเลี้ยงต่อเพื่อเป็นสุกรขุน สุกรจะโตช้าและใช้อาหารเปลือง ทำให้ต้นทุนการเลี้ยงสูง ถ้าแคระแกรนมาก ส่วนใหญ่ฟาร์มสุกรจะต้องกำจัดทิ้ง เพราะเลี้ยงไปก็ไม่คุ้มกับค่าอาหาร ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาเป็นวิธีการที่ให้ผลเร็ว แต่มักก่อปัญหาที่ตามมาในระยะยาว คือการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียต่างๆ เป็นสาเหตุให้การรักษามักจะไม่ค่อยได้ผลหากไม่ได้มีการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่เป็นสาเหตุ จึงได้มีการออกกฎระเบียบมาควบคุมทั้งในและต่างประเทศ ในการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์ ในกรณีมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต หรืออีกนัยหนึ่งก็คือเพื่อป้องกันการเกิดโรค ดังนั้นนักโภชนศาสตร์สัตว์ จึงมีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่อง เพื่อศึกษาสารเสริมจากธรรมชาติที่เหมาะสมมาใช้เสริมให้สุกรในช่วงดังกล่าวเพื่อลดการสูญเสียให้เหลือน้อยที่สุด โดยที่สารเสริมในอาหารสุกรที่ดีที่สุด ควรให้ผล 4 ด้าน คือ 1. ปลอดภัยต่อสุกรและผู้บริโภค 2. สุกรสุขภาพดี 3. โตเร็วใช้อาหารไม่เปลือง และ 4. ลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อใช้สารที่มาจากธรรมชาติ จาก 4 องค์ประกอบได้แก่ การใช้ส่วนผสมของ**น้ำมันหอมระเหย** จากพืชสามกลุ่มคือสมุนไพร เครื่องเทศและพืชตระกูลส้ม และส่วนผสม**กรดอินทรีย์** 3 ชนิด จุดประสงค์หลักคือลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร กระตุ้นการกินอาหาร และส่งเสริมภาวะความเป็นกรดเพื่อให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถเจริญได้ดี รวมทั้งเมื่อเพิ่มศักยภาพของสารเสริมในอาหารสุกร โดยการเสริมอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เข้าไปในรูป**พรีไบโอติค** เพื่อประสิทธิภาพของสารเสริมในอาหารสุกร ดีและเห็นผลได้ชัดเจนขึ้นและเพื่อให้สารเสริมที่ผลิตได้ มีศักยภาพใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และป้องกันการเกิดอาการท้องเสียในลูกสุกรได้ ซึ่งผลวิจัยของผู้เสนอโครงการนี้ได้ทำการศึกษาวิจัยจนได้สูตรที่เหมาะสมของส่วนผสมดังกล่าว จากโครงการวิจัยที่ผ่านมา งานวิจัยนี้จึงต้องการหาแนวทางเพิ่มประสิทธิภาพให้มากขึ้น โดยศึกษาเพื่อเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ เพิ่มความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในรูปของ **โพรไบโอติค**

5. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติในอาหารสุกร ได้อย่างน้อย 1 ชนิด

6. ขอบเขตของโครงการวิจัย

เพิ่มโพรไบโอติค 2 ชนิด ได้แก่ *E. faecium และ L. acidophilus* ร่วมกับผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย-กรดอินทรีย์ และพรีไบโอติค ที่ผลิตจากกล้วยดิบ ในอาหารสุกรหลังหย่านมอายุ ไม่เกิน 4 สัปดาห์ เพื่อให้ได้สูตรสารเสริมที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพ

7. **กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย**

การนำเอาคุณสมบัติหลายๆ อย่างของทั้งน้ำมันหอมระเหยจากพืช และกรดอินทรีย์ บางชนิด ร่วมกับการเสริมพรีไบโอติคและโพรไบโอติค มาศึกษาเพื่อหาสัดส่วน และปริมาณการใช้ที่เหมาะสม ในการเสริมในอาหารสุกร เพื่อป้องกันโรคท้องร่วง และกระตุ้นการเจริญเติบโต และปรับสมดุลจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างสูง จากสมมติฐานที่แสดงตามแผนภาพดังต่อไปนี้

6. วิธีดำเนินการวิจัย

ผลิตภัณฑ์ขั้นต้นที่ได้จากน้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ และพรีไบโอติค (Primary Product from Essential Oil, Organic Acids and Prebiotic; EOP) ที่ทราบสัดส่วนและระดับการใช้ที่เหมาะสม ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วนผสมหลัก

1) น้ำมันหอมระเหย (Essential oil; E) ได้แก่ส่วนผสมของน้ำมันกานพลู น้ำมันผิวส้ม และน้ำมันสะระแหน่ อย่างละ 0.6 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม นำน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิดมาทำการห่อหุ้มอนุภาคโดยใช้เทคนิค Encapsulation เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมัน ซึ่งการห่อหุ้มจะทำโดยการผสมสารน้ำมันหอมระเหยกับแป้งดัดแปรง สารน้ำมันหอมระเหยจะถูกห่อหุ้มไว้ภายใน ทำให้ลดการระเหย รักษาคุณภาพการกระจายในอาหารให้ดีขึ้น และยังเพิ่มอายุการเก็บรักษา
2) กรดอินทรีย์ (Organic acids; O) ได้แก่กรดฟิวมาริค กรดซิตริค และกรดแลคติค อย่างละ 1.1 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม
3) พรีไบโอติค (Prebiotic; P) ซึ่งเป็นชนิด Fructo-oligosaccharide (FOS) ที่เตรียมได้จากแป้งกล้วย 5 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม

การศึกษาวิจัยประกอบด้วยการทดลองจำนวน 2 การทดลองคือ

3.1.1 การทดลองที่ 1 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

สารเสริมที่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (Eessential oil mixture; EOM) จากกานพลู สะระแหน่ และผิวส้ม อย่างละ 0.06 % และกรดอินทรีย์ (Organic acid mixture; OAM) ที่ประกอบด้วย กรดฟิวมาลิค กรดแลคติค และกรดซิตริค อย่างละ 0.11 % นำพรีไบโอติคจากกล้วยดิบ (Pre) ผสม EOM+OAM:Pre (EOP)

อัตราส่วน 1:1 เสริมในอาหารทดลอง 0.5 และ 1 % เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริม สูตรอาหารใช้วัตถุดิบหลัก คือ ข้าวโพด กากถั่วเหลือง และหางนม ปรับระดับโภชนะไม่ต่ำกว่าคำแนะนำของ NRC (1998) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในสุกรหย่านม ดูรอค x (ลาร์จไวท์ xแลนด์เรซ) อายุ 21 วันจำนวน 36 ตัว สุ่มสุกรแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม มีเพศผู้และเพศเมียในแต่ละกลุ่มจำนวนเท่าๆ กัน เลี้ยงสุกรบนกรงตับขังเดี่ยวเป็นเวลา 42 วัน ให้อาหารและน้ำเต็มที่ บันทึกน้ำหนักสุกร ปริมาณอาหารที่สุกรกิน ทุกสัปดาห์ เพื่อคำนวณหาสมรรถภาพการผลิตต่างๆ นอกจากนี้ยังบันทึกสุขภาพของลูกสุกร เพื่อคำนวณอัตราการเกิดท้องเสียของสุกรจากลักษณะรูปร่าง และสีของมูลสุกร วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple range Test (Steel and Torrie, 1980)

3.1.2 การทดลองที่ 2 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

นำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด (EOP) มาผสมกับโพรไบโอติค ซึ่งเป็นชนิดจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพตรวจสอบจากรายงานการวิจัย แล้วคัดเลือกมาใช้ 2 ชนิด คือ *E. faecium* และ และ *L. acidophilus* ในงานทดลองจะใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดมาทำการห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโดยใช้เทคนิค Encapsulation

ดังนั้น อาหารทดสอบซึ่งเป็นอาหารฐาน โดยใช้แหล่งวัตถุดิบอาหารหลัก คือ ข้าวโพด และถั่วเหลือง และหางนม เป็นหลัก ปรับให้มีระดับโภชนะตามคำแนะนำของ NRC (1998) ซึ่งกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหาร ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ได้รับอาหารฐานเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 – 5 ได้รับอาหารฐานเสริมด้วย ผลิตภัณฑ์ EOP ในระดับการใช้ 1% ร่วมกับชนิดของโพรไบโอติค ชนิดใดชนิดหนึ่งดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 (Control) กลุ่มควบคุมสุกรได้รับอาหารฐาน

กลุ่มที่ 2 (A) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP

กลุ่มที่ 3 (B) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF)

กลุ่มที่ 4 (C) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA)

กลุ่มที่ 5 (D) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + EF +LA

การผสมส่วนผสมของสารเสริมที่จะใช้ทดสอบ จะทำให้การผสมสารแต่ละชนิดเข้ากับสารสื่อ ได้แก่ ถั่วเหลืองบดละเอียดก่อน เพื่อให้สารเสริมแต่ละชนิดกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างสารเสริม หลังจากนั้นนำมาผสมในอาหารทดลอง

<u>การทดลองที่ 1:</u> ศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ทำการทดลองในลูก ลูกผสมหลังหย่านม ดูรอค x (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) หย่านมอายุ 21 วันน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 5-6 กิโลกรัม จำนวน 50 ตัว สุ่มสุกรแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว โดยมีเพศผู้และเพศเมียในแต่ละกลุ่มจำนวนเท่าๆ กันทุกกลุ่มการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูณ์ (Completely Randomized Design) เลี้ยงสุกรบนกรงตับขังเดี่ยว 50 x 100 เซนติเมตร เป็นเวลา 42 วัน หรือ 6 สัปดาห์ สุกรจะได้รับอาหารและน้ำเต็มที่ กลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหาร ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ได้รับอาหารฐานเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 – 5 ได้รับอาหารชนิดที่ 2-5 ตามลำดับ โดยอาหารที่ผสมไว้ให้สุกรกินจะผสมไว้ไม่เกิน 7 วัน ถ้าสุกรกินไม่หมดต้องทำการผสมใหม่ สุ่มสุกรแต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารทดลอง 1 ใน 5 ชนิด บันทึกน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นทดลอง น้ำหนักเพิ่มทุกๆ สัปดาห์และน้ำหนักสุดท้ายของการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่สุกรกินแต่ละวัน เพื่อทำการคำนวณหาสมรรถภาพการผลิตต่างๆ รวมทั้ง ข้อมูลทางเศรษฐกิจ เช่น ต้นทุนค่าอาหารรวม สารเสริมต่อน้ำหนักสุกรที่เพิ่มขึ้น 1 กก. นอกจากนี้ยังบันทึกสุขภาพของลูกสุกร เพื่อวัดอัตราการเกิดท้องเสียของสุกร โดยดูจากลักษณะรูปร่าง และสีของมูลสุกร สุ่มตัวอย่างมูลสุกรเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ เชื้อ *Salmonella spp.* และ *Escherichia coli* และ Coliform bacteria ทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple range Test (Steel and Torrie, 1980)

<u>การทดลองที่ 2</u> : ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของสุกร

อาหารทุกชนิดจากการทดลองที่ 1 จะผสม titanium dioxide 0.5% เพื่อเป็น indigestible marker สำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นเพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะต่อไป เลี้ยงสุกรบนกรงศึกษาการย่อยได้ โดยใช้สุกรจำนวน 25 ตัว วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD) สุ่มให้สุกรแต่ละตัว กินอาหารที่ต้องการทดสอบ 1 ใน 5 ชนิด ดังกล่าวเป็นเวลา 5 วัน โดย 3 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวของสุกรกับอาหารทดสอบ และ 2 วันสุดท้าย เป็นช่วงเก็บมูลทั้งหมด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ทันที เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน เยื่อใย วัตถุแห้ง และโภชนะอื่น ในตัวอย่างอาหาร ตัวอย่างมูล ในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ AOAC (2000) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ค่าการย่อยได้ของโภชนะ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (Steel and Torrie, 1980)

7. ผลการวิจัย/ข้อค้นพบ

1) สารเสริมที่มีประสิทธิภาพที่สุดประกอบด้วย EOP ระดับการใช้ 1% ในสูตรอาหาร ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml
2) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเสริมสารเสริมที่มีส่วนผสมดังกล่าวคือในช่วงสัปดาห์แรกหลังหย่านม

8. ข้อเสนอแนะการนำไปใช้ประโยชน์

1) ควรมีการศึกษาทดลองในระดับฟาร์ม ที่มีการเลี้ยงสุกรแบบขังรวม จะสามารถยืนยันผลให้ชัดเจนขึ้น
2) ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ชนิดของโพรไบโอติคอื่นๆ ที่อาจมีผลร่วมในเชิงบวก เช่น *Bacillus spp.* หรือYeast

มหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จได้ด้วยดี โดยได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2556 รวมทั้งคณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่วิจัยทดลอง ณ สถานีวิจัยและฝึกอบรมบึงราชนก ในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย รวมทั้งขอบคุณ คุณอัษฎาวุธ สนั่นนาม คุณสุชาดา ทองอิน ทีมนิสิตบัณฑิตศึกษา และปริญญาตรี สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งอาจารย์กุลยาภัสร์ วุฒิจารี อาจารย์ ดร. อมรรัตน์ วันอังคาร อาจารย์ ดร. สนธยา นุ่มท้วมคุณนภดล ปุกแก้ว และคุณอรุณี โยธี ที่เป็นกำลังหลักสำคัญในการช่วยเหลือและดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

วันดี ทาตระกูล และคณะ
สิงหาคม 2557

สารบัญ

เนื้อหา **หน้า**

บทที่ 1 บทนำ 1
1.1. หลักการและเหตุผล 1
1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 2
1.4 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย 2

บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 น้ำมันหอมระเหย (essential oils or volatile oils) 3
2.1.1 กานพลู 3
2.1.2 สะระแหน่ 4
2.1.3 น้ำมันผิวส้ม 5
2.2 กรดอินทรีย์ (organic acids) 5
2.3 พรีไบโอติค (Prebiotic) 8
2.3.1. พรีไบติคจากกล้วยดิบ 9
2.4 โพรไบโอติค (Probiotic) 11
2.4.1 ชนิดของโพรไบโอติคที่เลือกใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ 17
2.4.2 *Lactobacillus acidophilus* 18

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 19
3.1 วิธีการดำเนินการวิจัย
3.1.1 การทดลองที่ 1 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค 19
3.1.2 การทดลองที่ 2 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค 20
การทดลองที่ 1: ศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร 21
การทดลองที่ 2 : ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของสุกร 22
3.2 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล 22

บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย 23
4.1 การทดลองที่ 1 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค 23

สารบัญ

เนื้อหา **หน้า**

4.2 การทดลองที่ 2 : การทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค 24

4.2.1 ผลด้านประสิทธิภาพการผลิต 27

4.2.2 ผลทางด้านการย่อยได้ของโภชนะของสุกร 28

4.2.3 ผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย 29

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 31

เอกสารอ้างอิง 33

ภาคผนวก 43

การคำนวณการใช้สารเสริมชนิดต่างๆ 44

การเตรียมพรีไบโอติคจากกล้วยดิบ 45

การเตรียมพรีไบโอติกจากสตาร์ชกล้วย 45

ขั้นตอนการทำแป้งกล้วย 47

ขั้นตอนการทำพรีไบโอติคจากแป้งกล้วย 48

การหาค่า standard curve จุลินทรีย์โพรไบโอติค 49

การตรึงเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชั่น 52

การวิเคราะห์ตัวอย่างมูลและตัวอย่างอาหาร 54

วิเคราะห์หาปริมาณ TiO_2 54

การหา Standard titanium 55

ประสิทธิภาพของอาหารเสริมลูกสุกรหย่านมที่ผลิตจากส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย กรดอินทรีย์ และพรีไบโอติคจากแป้งกล้วย 56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	Composition of experimental diets (as fed basis)	21
4.1	Productive performances of weaning pigs fed experimental diets for 42 days	23
4.2	Growth performance and faecal score index of weaned pigs fed with experimental diets for 42 days and in each week	25
4.3	Average nutrient digestibility coefficient of the weaned pigs fed experimental diets	28
4.4	Effects of treatment diets on coliform bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella spp*. in caecum of piglets on the 7th week of age	29

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพภาคผนวกที่ 1	**แผนภาพแสดงการเตรียมสตาร์ชกล้วยน้ำว้า**	44
ภาพภาคผนวกที่ 2	**แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมพรีไบโอติกจากสตาร์ชจากกล้วยน้ำว้า**	46
ภาพภาคผนวกที่ 3	การเตรียมกล้วยน้ำว้าเพื่อผลิตพรีไบโอติค	47
ภาพภาคผนวกที่ 4	การปั่นกล้วยให้ละเอียดและการกรองแป้ง	47
ภาพภาคผนวกที่ 5	ลักษณะแป้งกล้วย	48
ภาพภาคผนวกที่ 6	ภาพการเตรียมพรีไบโอติค	48
ภาพภาคผนวกที่ 7	พรีไบโอติคจากแป้งกล้วย	49
ภาพภาคผนวกที่ 8	การเตรียมโคโลนีเชื้อโพรไบโอติค	49
ภาพภาคผนวกที่ 9	การนำโคโลนีเดี่ยว มาใส่ใน MRS broth และบ่มเชื้อ	50
ภาพภาคผนวกที่ 10	การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อแยกเชื้อ	50
ภาพภาคผนวกที่ 11	วัดค่า OD 600 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer	50
ภาพภาคผนวกที่ 12	นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการวัดค่า OD มาเลี้ยงเชื้อด้วย MRS agar เพื่อหา standard curve ของเชื้อจุลินทรีย์	51
ภาพภาคผนวกที่ 13	กราฟมาตรฐานของจุลินทรีย์ *E. faecium และ L. acidophilus*	51
ภาพภาคผนวกที่ 14	การเตรียมเชื้อโพรไบโอติคเพื่อตรึงเซลล์	52
ภาพภาคผนวกที่ 15	การล้างเซลล์เชื้อโพรไบโอติค	52
ภาพภาคผนวกที่ 16	การห่อหุ้มเซลล์ด้วยเครื่อ micro-encapsulator	53
ภาพภาคผนวกที่ 17	การห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง micro-encapsulator	53
ภาพภาคผนวกที่ 18	การอบตัวอย่างมูลสุกร	54
ภาพภาคผนวกที่ 19	การเผาตัวอย่างมูลสุกร	54
ภาพภาคผนวกที่ 20	การย่อยด้วยกรดซัลฟุริค	55
ภาพภาคผนวกที่ 21	การต้มเพื่อเร่งกระบวนการย่อย	55
ภาพภาคผนวกที่ 22	การกรองตัวอย่างที่ผ่านการย่อย	55
ภาพภาคผนวกที่ 23	ลักษณะสีของ Standard Titanium	56
ภาพภาคผนวกที่ 24	ลักษณะและสีของมูลลูกสุกร ในการให้คะแนน เพื่อประเมินสุขภาพทางเดินอาหารของลูกสุกร ในทางอ้อม	57

บทที่ 1
บทนำ

1.1. หลักการและเหตุผล

ระยะของสุกรที่ความไวต่อการสูญเสียได้การแก่ระยะหลังหย่านม อันเนื่องมาจากหลายๆ สาเหตุ ส่วนใหญ่ได้แก่ เกิดจากความเครียดอันเนื่องมาจาก การถูกพรากจากแม่ การต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมใหม่ เพื่อนใหม่ การที่ต้องกินอาหารข้นแทนที่น้ำนมจากแม่ กอรปกับในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ระบบภูมิต้านทานโรคยังพัฒนาได้ไม่เต็มที่ ทำให้อาการที่แสดงออกให้เห็นเป็นอันดับแรกคือ อาการท้องเสียหรือท้องร่วง การรักษาโดยการใช้ยาหรือสมุนไพรบางชนิดอาจทำให้สุกรหายจากอาการดังกล่าว แต่ผลกระทบทางเศรษฐกิจคือสุกรจะชะงักการเจริญเติบโตระยะหนึ่ง หรืออาจแคระแกรน ทำให้การนำไปเลี้ยงต่อเพื่อเป็นสุกรขุนสุกรจะโตช้าและใช้อาหารเปลือง ทำให้ต้นทุนการเลี้ยงสูง ถ้าแคระแกรนมาก ส่วนใหญ่ฟาร์มสุกรจะต้องกำจัดทิ้ง เพราะเลี้ยงไปก็ไม่คุ้มกับค่าอาหาร ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาเป็นวิธีการที่ให้ผลเร็ว แต่มักก่อปัญหาที่ตามมาในระยะยาว คือการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียต่างๆ เป็นสาเหตุให้การรักษามักจะไม่ค่อยได้ผล หากไม่ได้มีการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่เป็นสาเหตุจึงได้มีการออกกฎระเบียบมาควบคุมทั้งในและต่างประเทศ ในการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์ในกรณีมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต หรืออีกนัยหนึ่งก็คือเพื่อป้องกันการเกิดโรคดังนั้นนักโภชนศาสตร์สัตว์ จึงมีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่อง เพื่อศึกษาสารเสริมจากธรรมชาติที่เหมาะสมมาใช้เสริมให้สุกรในช่วงดังกล่าวเพื่อลดการสูญเสีนให้เหลือน้อยที่สุด โดยที่สารเสริมในอาหารสุกรที่ดีที่สุดควรให้ผล 4 ด้าน คือ 1. ปลอดภัยต่อสุกรและผู้บริโภค 2. สุกรสุขภาพดี 3. โตเร็วใช้อาหารไม่เปลือง และ 4. ลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อใช้สารที่มาจากธรรมชาติ จาก 4 องค์ประกอบได้แก่ การใช้ส่วนผสมของ<u>น้ำมันหอมระเหย</u> จากพืชสามกลุ่มคือสมุนไพร เครื่องเทศและพืชตระกูลส้ม และส่วนผสม<u>กรดอินทรีย์</u> 3 ชนิด จุดประสงค์หลักคือ ลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร กระตุ้นการกินอาหาร และส่งเสริมภาวะความเป็นกรด เพื่อให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถเจริญได้ดี รวมทั้งเมื่อเพิ่มศักยภาพของสารเสริมในอาหารสุกร โดยการเสริมอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เข้าไปในรูป<u>พรีไบโอติค</u> เพื่อประสิทธิภาพของสารเสริมในอาหารสุกร ดีและเห็นผลได้ชัดเจนขึ้นและเพื่อให้สารเสริมที่ผลิตได้ มีศักยภาพใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และป้องกันการเกิดอาการท้องเสียในลูกสุกรได้ ซึ่งผลวิจัยของผู้เสนอโครงการนี้ได้ทำการศึกษาวิจัยจนได้สูตรที่เหมาะสมของส่วนผสมดังกล่าว จากโครงการวิจัยที่ผ่านมา งานวิจัยนี้จึงต้องการหาแนวทางเพิ่มประสิทธิภาพให้มากขึ้น โดยศึกษาเพื่อเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ เพิ่มความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในรูปของ <u>โพรไบโอติค</u>

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สารเสริมจากธรรมชาติในอาหารสุกร ได้อย่างน้อย 1 ชนิด

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

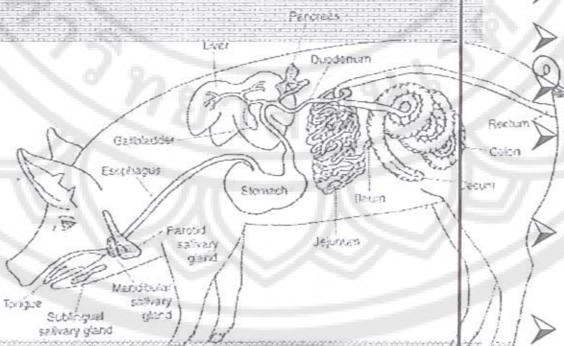
เพิ่มโพรไบโอติค 2 ชนิด ได้แก่ *E. faecium* และ *L. acidophilus* ร่วมกับผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย-กรดอินทรีย์ (ผลงานวิจัยงบประมาณปี 2550) และพรีไบโอติค ที่ผลิตได้เองจากกล้วยดิบ (ผลงานวิจัยงบประมาณปี 2551) ในอาหารสุกรหลังหย่านมอายุ ไม่เกิน 4 สัปดาห์ เพื่อให้ได้สูตรสารเสริมที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพ

1.4 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การนำเอาคุณสมบัติหลายๆ อย่างของทั้งน้ำมันหอมระเหยจากพืช และกรดอินทรีย์ บางชนิด ร่วมกับการเสริมพรีไบโอติคและโพรไบโอติค มาศึกษาเพื่อหาสัดส่วน และปริมาณการใช้ที่เหมาะสม ในการเสริมในอาหารสุกร เพื่อป้องกันโรคท้องร่วง และกระตุ้นการเจริญเติบโต และปรับสมดุลจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างสูง จากสมมติฐานที่แสดงตามแผนภาพดังต่อไปนี้

Essential oil mixes : ลดจุลินทรีย์ก่อโรค กระตุ้นการกินอาหาร

Prebiotic : เป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ในระบบทางเดินอาหาร



- สุขภาพดี โตเร็ว
- กินอาหารได้มาก
- น้ำหนักส่งตลาดเร็ว (ลดต้นทุน)
- ใช้ประโยชน์จากอาหารที่กิน อย่างมีประสิทธิภาพ
- ลดการการขับถ่ายจุลินทรีย์ที่ก่อโรคออกสู่สิ่งแวดล้อม
- ผู้บริโภค ปลอดภัย

Organic acid mixes : ลดจุลินทรีย์ก่อโรค เพิ่มการใช้ประโยชน์โภชนะ

*Probiotic Mixes
เพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ในระบบทางเดินอาหารของสุกร

*ขั้นตอนที่ดำเนินการวิจัยในโครงการนี้

บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำมันหอมระเหย (essential oils or volatile oils)

น้ำมันหอมระเหย เป็นของเหลวในรูปน้ำมัน มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว สามารถระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ น้ำหนักเบากว่าน้ำ สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ผล เมล็ด ใบ หรือ ราก เป็นต้น วิธีการให้ได้มาซึ่งน้ำมันหอมระเหยได้แก่ การบีบ การหมัก หรือการสกัด ซึ่งวิธีที่ใช้กันมากที่สุดในทางการค้าคือการสกัดด้วยไอน้ำ (steam distillation) (Burt, 2004) มีรายงานทางวิชาการมากมายแสดงให้เห็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ โดยองค์ประกอบหลักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้สรุปไว้โดย Bauer et al. (2001) การวิเคราะห์เพื่อหาองค์ประกอบสามารถทำได้โดยใช้เครื่อง chromatography and mass spectrometry น้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบของสารเดี่ยวๆ มากมายอาจมากกว่า 60 ชนิด (Senastore, 1996 and Russo et. al., 1998) โดยมีองค์ประกอบหลักประมาณ 85% ของน้ำมันหอมระเหย ที่เหลือเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่จำนวนน้อย องค์ประกอบที่มีองค์ประกอบเป็นฟีนอล (Phenolic component) ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย (Cosentino et.al., 1999) สารเหล่านี้ เช่น geraniol acetate, eugenyl acetate, trans-cinnamaldehyde, menthol, carvacrol, thymol, geraniol, eugenol, p-cymene, limonene, γ-terpinene และ carvone เป็นต้น (Bauer et al., 2001)

2.1.1 กานพลู (Clove) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eugenia caryophyllus* (Spreng) Bullock & Harrison หรือ *Syzygium aromaticum* (Linn) Merr & Perry. (Syn.) หรือ *Caryophyllus aaromaticus* Linn. (ดาลัด, 2526) ในดอกตูมเมื่อนำมาสกัดจะมีน้ำมันหอมระเหยอยู่ 14-20 % (สมพร , 2536) ซึ่งประกอบด้วย Eugenol 75-85% และ Eugenyl acetate 8-15 % (Bauer et al., 2001) หรือมี Eugenol 24.37 mg/g และ Eugenyl acetate 23.54 mg/g (Lee and Shibamoto, 2001) เป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังมี α และ β -caryophyllene และ caryophyllene oxide ซึ่งสารพวก phenol ที่สำคัญคือ eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) หรือชื่อทางเคมี 1-allyl-4-hydroxy-3-methoxybenzene หรือ 4-allyl-2-methoxyphenol หรือ phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 70-90 ของปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองอ่อนๆ มีจุดเดือด 254 °C และความถ่วงจำเพาะ 1.0620 (25 °C) (สมชาย, 2529) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืช (ขจรศักดิ์, 2539; วรนาฎ, 2544) และเชื้อแบคทีเรียพวกไวต่อกรด (acid fast) รวมทั้งแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวกและแกรมลบ เช่น เชื้อโรคไทฟอยด์ โรคบิดไม่มีตัว เชื้อหนองและแบคทีเรียในลำไส้ (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538; บัญญัติ, 2520)

ณครินทร์ (2545) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Enterobactor aergenes*, *Vibrio cholerae* และ *V.parahaemolyticus* ที่ความเข้มข้น 33% และที่ความเข้มข้น 30% สามารถ

ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella spp.* ได้ทุก species ทั้งนี้เนื่องจากสาร eugenol จะเข้าขัดขวางกระบวนการละลายของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้ Osmotic barrier ลดลง ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ โดยทำให้เอนไซม์ และโปรตีนอื่นๆ เสียสภาพไป เซลล์จึงถูกทำลาย นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกลากเกลื้อนได้ เมื่อใช้ความเข้มข้น 1: 8,000 ถึง 1:16,000 โดยที่ eugenol และ eugenol acetate ยังสามารถฆ่าพยาธิ *Trichomonas vaginalis* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคตกขาวอีกด้วย (วรนาฎ, 2544) ในการนำมาใช้ในคน ได้แก่ใช้ในการแต่งรส กลิ่น ช่วยในการย่อยอาหาร ขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แน่นท้อง ลดการจุกเสียดที่เกิดจากการย่อยไม่สมบูรณ์ มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ทำให้อาการปวดท้องลดลง ฆ่าเชื้อราโรคพืชและเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่นเชื้อโรคไทฟอยด์ บิดชนิดไม่มีตัว เป็นต้น แก้อาการท้องเสีย (นิจศิริ และพะยอม, 2534) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยทางชีววิทยาอีกมากมาย ว่าน้ำมันกานพลู มีคุณสมบัติที่เด่นชัดในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Arora and Kaur, 1999; Moreira et.al., 2005; Wannissorn et.al., 2005) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นสารกันหืนอีกด้วย (Lee and Shibamoto, 2001) และยับยั้งเชื้อรา และการสร้าง aflatoxin ได้อย่างสมบูรณ์ ที่ความเข้มข้น 0.5-1% (Gowda et.al., 2004)

Main et. al. (2001) ได้ทดสอบผลของการให้น้ำมันกานพลู ในสุกรหย่านม เพื่อทดแทน สารปฏิชีวนะ เช่น carbadox, mecadox ทดลองให้สุกรกินอาหารเป็นเวลา 21 วัน พบว่า เมื่อเสริมน้ำมันกานพลูที่ 0.5 % ปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าเมื่อเสริมด้วย carbadox 50g/ton แต่ถ้าเสริมน้ำมันกานพลูในระดับที่มากขึ้น คือ 1 และ 2 % มีแนวโน้มทำให้การกินอาหารได้ของสุกรลดลง ดังการศึกษาการใช้น้ำมันกานพลูในอาหารสุกรควรศึกษาในรายละเอียดต่อไป นอกจากนี้ จากการศึกษาเปรียบเทียบชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ในการเสริมในอาหารลูกสุกร โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ตะไคร้หอม และสะระแหน่ฝรั่งเป็นสารเสริมในอาหารสุกรหย่านม ที่ระดับ 5 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะในลูกสุกรหย่านม มีแนวโน้มดีขึ้นเมื่อเสริมด้วยน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด และน้ำมันหอมระเหยจากการพลู ให้ผลดีที่สุดในการลดอาการท้องเสียในลูกสุกร (เกษมสุข และคณะ, 2546; Tartrakoon et.al., 2003a) หลังจากนั้นได้ศึกษาระดับที่เหมาะสมของการใช้น้ำมันกานพลู วันดี และคณะ (2546) รายงานว่า ที่ระดับ 2-5 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ช่วยให้การเกิดท้องเสียในลูกสุกรลดลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.1.2 สะระแหน่ หรือ peppermint (*Mentha piperita* Linn.) ส่วนที่ใช้ คือ ใบแห้ง นำมากลั่นด้วยไอน้ำจะได้น้ำมันหอมระเหย 0.7–1.5% ซึ่งประกอบด้วย menthol 50 – 60% เป็นองค์ประกอบหลัก ประโยชน์ของน้ำมันสะระแหน่ พบว่า ใช้แต่งกลิ่นยาและอาหารในพวกยำต่างๆ ใช้เป็นยาขับลม ช่วยย่อยอาหาร แก้ปวดท้อง ฆ่าเชื้อโรค ระงับอาการเกร็งของกระเพาะอาหารและลำไส้ (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2529) ขับเหงื่อ รักษาหืด แก้อาการเกร็งของกล้ามเนื้อ (สมสุข , 2542) ในส่วนของสารที่อยู่น้ำมัน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ ต่างๆ เช่น methyl acetate, menthone, cineole, limonene, phellandrene, pinene และ β-caryophyllene (Price, 1993)

ซึ่งสารต่างในกลุ่ม Mentol และ limonene มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียเช่นกัน (Bauer et.al., 2001) ซึ่ง Wannissorn et. al. (2005) ทดสอบพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ญวน มีฤทธิ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด รวมทั้ง *salmonella* spp. ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการเลือกใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ก็คือ การไปเสริมฤทธิ์กับกานพลูในการต่อต้านจุลินทรีย์ที่เป็นโทษส่วนหนึ่ง เพื่อให้สามารถลดปริมาณการใช้น้ำมันกานพลูลงได้ เนื่องจากน้ำมันกานพลูมีราคาแพงกว่าชนิดอื่นๆ วัตถุประสงค์อีกส่วนหนึ่งคือ การช่วยย่อยอาหาร และรักษาสภาพระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้สุกรกินอาหารได้มากขึ้น หรือกระตุ้นการกินอาหารได้

2.1.3 น้ำมันผิวส้ม (Orange peel oil) เป็นน้ำมันที่สกัดได้จากเปลือกส้ม ถ้าเป็นส้มเขียวหวานของไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulate* Blanco เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae เช่นเดียวกับส้มชนิดอื่น รวมทั้ง มะนาวฝรั่ง (*Citrus limon* (linn.) Burm.f.) ดังนั้นน้ำหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวมะนาวฝรั่งใช้ชื่อว่า lemon oil จะใช้วิธีบีบเย็น ส่วนของน้ำมันที่สกัดจากใบมะนาวจะใช้วิธีการกลั่น ในส่วนของน้ำมันที่ได้จากเปลือกจะประกอบด้วย citral 6 %, limonene 70 %, pinene 15%, β-pinene 22% และ γ-terpinene 12% โดยองค์ประกอบหลักที่ได้คือ limonene ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย (Bauer et al., 2001) ส่วนสารที่ช่วยให้เกิดกลิ่นและรส คือ isometric citrals, neral and geranial (Weiss, 1997) ส่วนของน้ำมันผิวส้มที่มีข้อมูลอยู่ได้แก่ น้ำมันส้ม (Bitter Orange Oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่บีบจากเปลือกผลสดโดยไม่ใช้ความร้อนจากส้ม (*Citrus aurantium* L.) ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่ ร้อยละ 90 ที่พบในน้ำมัน เป็นพวก terpine ได้แก่ d-limonene, cymene, cajeputene (สนั่น, 2540) ส่วนที่มีรายงานไว้ น้ำมันผิวส้ม (Sweet Orange Oil or Orange Oil) เป็นน้ำมันที่มีขายในท้องตลาดของอเมริกา ได้จากส้ม *Citrus sinensis* (Linn) Osbeck. หรือ *Citrus aurantium* var. *sinensis* Linn. มีองค์ประกอบในน้ำมันใกล้เคียงกับที่กล่าวไปแล้ว คือมี terpene ที่เป็น limonene เป็นส่วนใหญ่ ประมาณ 90% ดังนั้นจะเห็นได้ว่า น้ำมันจากเปลือกส้มจะมีสารประกอบสำคัญ 2 ส่วนคือ limonene มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียได้ และมี citral ซึ่งช่วยในเรื่องของกลิ่นและรสของอาหารได้ ซึ่ง Caccioni et. al. (1998) ได้วิเคราะห์หาสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยในพืชตระกูลส้ม (Citrus Fruit) ส่วนใหญ่ ซึ่งเรียก Citrus essential oil พบว่า มากกว่า 90% เป็น limonene เช่นเดียวกับ Steuer et.al. (2001) ซึ่งวิเคราะห์ใน grapefruit และ orange และถ้ามี monoterpene ปริมาณมาก จะมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรามากตามไปด้วย (Caccioni et. al., 1998)

2.2 กรดอินทรีย์ (organic acids)

กรดอินทรีย์ประกอบด้วยคาร์บอนสายสั้น (C1-C7) ที่พบได้โดยทั่วไปในธรรมชาติ โดยเป็นส่วนประกอบของพืชและเนื้อเยื่อสัตว์ มนุษย์และสัตว์สามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้จากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้โดยจุลินทรีย์ภายในลำไส้ใหญ่ ลักษณะทางกายภาพและเคมีที่สำคัญของกรดอินทรีย์ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้กรดอินทรีย์ยังสามารถอยู่ในรูปเกลือของโซเดียม โปแตสเซียม หรือแคลเซียม ในส่วนของกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้อยู่มีหลายชนิด แต่ละชนิดแตกต่างกันที่โมเลกุลและ

ลักษณะทางเคมี กรดอินทรีย์สามารถออกฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียทั้งในอาหารและระบบทางเดินอาหารของสัตว์ การที่สัตว์ได้รับอาหารที่เสริมกรดอินทรีย์จะทำให้ระดับ pH ในระบบทางเดินอาหารลดลง ซึ่งระดับ pH เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโต และปริมาณของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ในส่วนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษจะเจริญได้ดีในระดับ pH ที่เป็นกลางดังแสดงในตารางที่ 2 ดังนั้นเมื่อมีการลดลงของระดับ pH จำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษก็น่าจะมีปริมาณลดลง แต่ระดับ pH ที่ลดลงจะผลต่อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์น้อย เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถทนต่อระดับ pH ที่ลดต่ำลงได้

การใช้กรดอินทรีย์เสริมในอาหารสุกรได้มีการศึกษามาหลายสิบปีแล้ว เพื่อประโยชน์ทางด้านสุขภาพของสุกร โดยเฉพาะในสุกรอายุน้อย กรดอินทรีย์ที่ใช้ เช่น citric acid, fumaric acid, propionic acid, lactic acid และ malic acid หรือบางทีก็เป็นกรดเหล่านี้ผสมกัน ซึ่งพบว่าให้ผลในทางบวกต่อประสิทธิภาพการผลิตของสุกร (Kirchgessner and Roth, 1988) ซึ่ง Roth and Kirchgessner (1995) รายงานว่า กรดอินทรีย์ ทำหน้าที่ 3 อย่างได้แก่ การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยตัวของกรดเอง การทำให้ pH ในกระเพาะลดลง และลดการเกิดเชื้อรา และการสร้างสารพิษ

ตัวแปรสำคัญที่ใช้สำหรับศึกษาสุขภาพของทางเดินอาหารของสุกรคือ ปริมาณของ coliform และ lactic acids bacteria ซึ่งกลุ่มแรกก่อให้เกิดอันตรายต่อสุกร โดยเฉพาะโรคท้องเสีย ในขณะที่กลุ่มหลัง มีประโยชน์ต่อสัตว์ เนื่องจากสามารถผลิต lactate ทำให้ pH ในระบบทางเดินอาหารลดต่ำลง นอกจากนี้ยังเชื่อว่า lactic acids bacteria ทำหน้าที่เป็นเกราะปราการ ในการต่อต้านการ colonization ของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ coliform bacteria ในทางเดินอาหารส่วนต้นของสัตว์อายุน้อย ซึ่ง Knarreborg et al. (2002) ศึกษาการใช้กรดอินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ กรด fumaric, benzoic, butyric, lactic, formic และกรด propionic โดยเป็นการศึกษาผลต่อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสุกร ในห้องปฏิบัติการ พบว่า coliform bacteria ไม่สามารถเจริญได้ในกระเพาะ ที่ pH 4.5 โดยประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์เรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ กรด benzoic, fumaric, lactic, butyric, formic และกรด propionic ตามลำดับ แต่กรด benzoic และ fumaric ก็มีผลต่อการลดจำนวนลงของ จุรินทรีย์ที่มีประโยชน์ คือ lactic acid bacteria ด้วย แต่กรดชนิดอื่นมีผลเช่นกัน แต่น้อยกว่า ซึ่งเช่นเดียวกับรายงานของ Sutton et al. (1991) ซึ่งพบว่า การเสริม fumaric acid ในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม ทำให้จำนวนของ lactic acid bacteria ในกระเพาะและลำไส้เล็กส่วนต้นลดจำนวนลง

มีการศึกษาการใช้กรดอินทรีย์เสริมในอาหารสุกร พบว่าช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตของสุกร (Falkwoski and Aherne, 1984; Giesting and Easting, 1985) ซึ่ง Scipioni et al. (1978) พบว่าการเสริม citic acid 1% ในอาหารสุกรอายุ 42 สัปดาห์ สามารถลด pH ในกระเพาะจาก 4.5 เป็น 3.5 ได้ เช่นเดียวกับ Edmonds et al., (1985) พบว่าการเสริม citric acid หรือ fumaric acid ที่ 1.5 % ในลูกสุกรหลังหย่านมใหม่ อายุ 28-32 วัน ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ Radecki et al. (1988)

Partanen (2001) ได้รวบรวมผลงานวิจัยจำนวนมากที่เกี่ยวกับการใช้กรดอินทรีย์ ในอาหารสุกรที่มีการตีพิมพ์ผลงาน สรุปไว้ว่า การเสริมกรดอินทรีย์ ในอาหารสุกรหย่านม และสุกรขุน ให้ผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น การเกิดอาการท้องเสียของลูกสุกรลดลง โดยกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ formic acid, fumaric acid, citric acid, propionic acid, potassium diformate และได้แนะนำไว้ว่า ในทางปฏิบัติ การใช้กรดในอาหารควรใช้ต่ำกว่า 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม หรือ ต่ำกว่า 1% เพื่อไม่ให้ส่งผลกระทบต่อการกินอาหารได้ของสุกร ตามที่ กรรณิการ์ และคณะ (2546) ทดลองเปรียบเทียบการใช้กรด fumaric, citric และ fumaric + citric ในระดับ 2% ในอาหารลูกสุกรหย่านม พบว่า การใช้กรด fumaric ร่วมกับ citric อย่างละ 1% มีแนวโน้มของสัมประสิทธิการย่อยได้ของโภชนะในสุกร ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม และกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมกรดอินทรีย์ ชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างเดียว

ดังนั้นจากรายงานวิจัยที่รวบรวมได้ทั้งหมด จะเห็นได้ว่า กรดอินทรีย์ ที่มีประสิทธิภาพ ต่อการทำหน้าที่ทดแทนปฏิชีวนะในการลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษกับสุกร คือ fumaric acid ในขณะที่อาจไปมีผลต่อ lactic acid bacteria ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สังเคราะห์กรดแลคติค ทำให้ลดจำนวนลงได้ ดังนั้นการเสริมกรด lactic เข้าไปช่วยในส่วนนี้ น่าจะให้ผลดีได้ ขณะเดียวกัน การใช้กรด citric เพื่อจุดประสงค์ในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ของอาหาร โดยเฉพาะอาหารที่ต้องประกอบด้วย ธัญพืช กากถั่วเหลือง ซึ่ง phytate เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่ง phytate นี้จะจับตัวกับโปรตีน และแร่ธาตุ โดยเฉพาะฟอสฟอรัส และแร่ธาตุอื่น ซึ่งมีรายงานว่า กรด citric ช่วยให้การใช้ประโยชน์ของโภชนะต่างๆ ดีขึ้น Burnell *et al.* (1988) พบว่า การเสริมกรดซิตริกในอาหารที่มีข้าวโพด กากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ สุกรจะมีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีกว่าอาหารที่มีข้าวโพด กากถั่วเหลือง และข้าวสาลีเป็นส่วนประกอบ ทั้งนี้อาจเป็นเหตุผลจากที่ Ravindran et al. (1993) รายงานว่า กรดซิตริกเป็นคีเลติงเอเจนต์ (chelating agent) ที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุในระบบลำไส้ นอกจากนี้ในช่วงหลังหย่านมลูกสุกรจะมีไขมันที่เก็บสะสมเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานอยู่น้อย มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตช้า และเกิดความเครียด (Fenten *et al.*, 1985) ดังนั้นการเสริมกรดซิตริกซึ่งเป็น "สารตัวกลาง" (intermediate) ในวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิก ซึ่งเป็นส่วนที่ช่วยเพิ่มแหล่งพลังงานของลูกสุกร รวมทั้งลดการเกิด กระบวนการกลูโคนีโอจีนีซิส (gluconeogenesis) และไลโปไลซิส (lipolysis) ได้ด้วย ทำให้ร่างกายสุกรไม่สูญเสียแหล่งพลังงานสำรองมากเกินไป

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกใช้ กรด 3 ชนิด ได้แก่ fumaric acid, lactic acid และ citric acid ในวัตถุประสงค์หนึ่งคือ ศึกษาส่วนผสมที่เหมาะสมของการใช้ส่วนของการใช้กรดอินทรีย์หลายชนิดเพื่อเป็นสารเสริมในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม และนำมาเพื่อเสริมฤทธิ์กับน้ำมันหอมระเหยที่ได้ได้รับการทดสอบแล้วว่าดีที่สุดต่อการเสริมในอาหารสุกร จากรายงานของ Tartrakoon et al. (2004) มองเห็นแนวโน้มที่ค่อนข้างชัดเจนว่า เมื่อใช้กรดชนิดเดียวคือ citric acid 2% เสริมในอาหารลูกสุกรหย่านมใหม่ประสิทธิภาพการใช้อาหารของลูกสุกรดีที่สุด และเมื่อเสริมน้ำมันกานพลู 2.5 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1

กิโลกรัม ร่วมกับ citric acid 2% พบว่าอัตราการเกิดท้องเสียต่ำสุด ในขณะที่ประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกับเมื่อใช้กรดเพียงอย่างเดียว และดีกว่าไม่เสริมอะไรเลยในอาหาร

2.3 พรีไบโอติค (Prebiotic)

ชนิดของแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารของสุกร ที่จัดเป็นกลุ่มที่ให้ประโยชน์สำหรับสุขภาพของทางเดินอาหาร เรียกเป็นกลุ่มใหญ่ว่า กลุ่มจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์กรดแลคติค ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ Lactobacilli, Bifidobacteria, กลุ่มของ Streptococci เป็นต้น (Gibson and Roberfroid, 1995) การเพิ่มขึ้นของประชากรจุลินทรีย์กลุ่มที่สังเคราะห์กรดแลคติคดังกล่าว เป็นผลดีกับสุขภาพสุกรในหลายด้าน โดยเฉพาะการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และลดปริมาณของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เนื่องจากการเข้าจับจองพื้นที่จับเกาะ กับพื้นที่ผิวเซลล์ ของเซลล์ผนังลำไส้เล็ก (Bernet et al., 1993) จากข้อมูลการศึกษาวิจัยที่ค้นพบเหล่านี้ ทำให้มีความพยายามที่จะศึกษา ถึงแนวทางในการคงสภาพของทางเดินอาหารสุกร ให้มีสุขภาพดีที่สุด นอกเหนือจากเพื่อลดปัญหาการเกิดโรคท้องเสีย ที่จะส่งผกระทบให้สุกรแคระแกร็นแล้ว ยังทำให้การดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ ของสุกรลดน้อยลง ทำให้สูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากมายในแต่ละปี ดังนั้นจึงมีการนำเอายาปฏิชีวนะมาใช้เสริมในอาหารสุกร เพื่อเป็นการป้องกัน และลดจุลินทรีย์ก่อโรค ทำให้สุกรเจริญเติบโตดี จึงเรียกสารที่เสริมเพื่อจุดประสงค์ดังกล่าวว่า “สารกระตุ้นการเจริญเติบโต (Growth Promoter)” ภายหลังพบว่า การใช้สารปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพลื่อก่อผลเสียตามมาหลายอย่าง เช่นการดื้อยาของเชื้อโรค ทำให้การรักษาโรคมักไม่ค่อยได้ผล ต้องเปลี่ยนยาอยู่เรื่อยๆ การตกค้างของสารเคมีในผลผลิต ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค จึงมีการห้ามใช้สารปฏิชีวนะเพื่อเป็นสารเสริมกระตุ้นการเจริญเติบโต ในเวลาต่อมา ดังนั้นในการศึกษาวิจัยจึงหันมาให้ความสนใจ การเพิ่มความเข้มข้นของ กลุ่มจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์กรดแลคติค ให้มากขึ้นในทางเดินอาหาร ในรูปแบบของการใช้สารเสริมในอาหารลูกสุกร เพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะ วิธีการที่มีการนำมาใช้กันมากชนิดหนึ่งได้แก่ การใช้ในรูปของ จุลินทรีย์มีชีวิต หรือที่เรียกว่า โพรไบโอติค (probiotics) ส่วนใหญ่ได้แก่ lactic acid bacteria ซึ่งรวมถึง lactobacilli และ bifidobacteria (Jonsson et al., 1992) ต่อมามีการศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรตในกลุ่ม ที่ช่วยในการเจริญของเชื้อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์กรดแลคติค เสริมเข้าไปในอาหารสุกร ซึ่งเรียกว่า สารพรีไบโอติค (prebiotics) คาร์โบไฮเดรตกลุ่มดังกล่าวได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์ หรือเรียกเต็มๆว่า Nondigestible Oligosaccharides (NDO) สารในกลุ่มที่เป็น NDO มีมากมายหลายรูปแบบ เช่น Fructans (inulin and oligofructose), Transgalactosylated oligosaccharides, Soybean oligosaccharides, Xylooligosaccharides, Lactosucrose และอีกหลายๆ ชนิด เป็นต้น

การใช้ NDO เสริมในอาหารสุกร พบว่าช่วยในการส่งเสริมการเจริญของ bifidobacteria และลดการเจริญของ Salmonella ในลูกสุกร (Letellier et al., 2000) ซึ่งศักยภาพการใช้ประโยชน์ของเยื่อใยดังกล่าว ไม่ได้จำกัดแค่เพียงเป็นสารอาหารสำหรับ lactic acid bacteria เท่านั้น ผลที่ได้ยังช่วยปรับปรุงด้านสุขภาพ และประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรได้อีกด้วย ซึ่งการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ในอาหารสัตว์ที่มีการผลิตออกมาจำหน่ายในทางการค้า ควบคู่กับการศึกษาในอาหารคน (Gibson et. al, 2000)

2.3.1. พรีไบติคจากกล้วยดิบ

กล้วยน้ำว้า มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ Musa sapientum Linn. Musaceae หรือ ชื่อสามัญ Banana กล้วยเป็นพืชที่ปลูกได้ง่าย และปลูกกันมาก โดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้น ผลผลิตกล้วยตามข้อมูลของ FAO (2003) ทั่วโลก ประมาณ 102 เมตตริกตัน ประเทศที่มีผลผลิตมากที่สุดได้แก่ อินเดีย แต่ประเทศที่ผลิตกล้วยส่งออกมาก รวมกันแล้วประมาณ 80% ของปริมาณส่งออกทั้งหมด สำหรับในประเทศไทยสามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดพิษณุโลก ซึ่งมีการปลูกกล้วยน้ำว้าเป็นจำนวนมาก ปริมาณผลผลิตรวม นับว่าเป็นจังหวัดที่ปลูกกล้วยน้ำว้ามากที่สุดในประเทศไทย จากรายงานปี 2546 มีพื้นที่การเพาะปลูกในจังหวัดพิษณุโลก 19,906 ไร่ มีผลผลิตรวม 160,006 ตัน (http://www.doae.go.th/data/fruit/7.pdf) จนมีผลิตภัณฑ์ ที่แปรรูปจากกล้วยมากมายหลายชนิด

ประมาณหนึ่งในห้าของกล้วยที่เก็บเกี่ยวผลผลิต จะถูกคัดทิ้ง เนื่องจากมีตำหนิ หรือถูกทำลายบางส่วน เนื่องจากโรคพืชบางชนิด หลังจากคัดทิ้งส่วนที่เน่าเสีย ส่วนที่ดี มีการนำมาเป็นอาหารสัตว์ หรือทำผลิตภัณฑ์ เช่น กล้วยแผ่น แป้ง เป็นต้น ความสำเร็จในการนำกล้วยมี่ถูกคัดทิ้ง กลับมาใช้ประโยชน์ ที่มีประสิทธิภาพที่สุดคือ การนำกล้วยทั้งหวี มาผลิตเป็นแป้งกล้วยต้นทุนต่ำ (Zhang et.al, 2005) แป้งกล้วยเป็นสินค้าที่มีความพิเศษจำเพาะ คือ มีราคาถูก ที่ทำมาจากกล้วยดิบทั้งหวี ซึ่งมีแป้งประมาณ 70-80% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับเอนโดเสปอร์มของเมล็ดข้าวโพด หรือมันฝรั่งขาว ลักษณะของแป้งดิบจากกล้วย ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วย α-amylase และ glucoamylase จากผลการศึกษาพบว่า แป้งประมาณ 75-84% ไม่ถูกย่อยจนกระทั่งถึงส่วนปลายของลำไส้เล็ก (Englyst and Cummings, 1986; Faisant et.al., 1995a and 1995b) มีรายงานว่าแป้งซึ่งไม่สามารถถูกย่อยในลำไส้เล็ก มีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพ โดยเรียกแป้งชนิดนี้ว่า resistant starch (RS) ซึ่งแบ่งเป็น 4 ชนิด ได้แก่ RS type I เป็นแป้งที่คงตัว พบในเมล็ดธัญพืช RS type II เป็นแป้งที่พบในมันฝรั่งหรือกล้วยดิบ RS type III เป็นแป้งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลังจากใช้ความร้อน และ RS type IV เป็นแป้งดัดแปลงที่มีการใช้เคมี (Englyst et.al., 1992; Sajilata et.al., 2006) โดยทั่วไปแล้ว RS เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว จะทำให้เพิ่ม interaction ระหว่าง starch polymers ทำให้มีการเรียงตัวของสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงมากขึ้น ทำให้เกิดการ Retrogradation (Eerligen and Delcour , 1995) ซึ่งความยาวของสายโซ่ α-polyglucans ที่ค่าของ DP (degree of polymerlization) สูงสุดประมาณ 20 เป็นค่าที่บ่งบอกได้ว่ามี RS type III สูงสุด (Schmiedl et al., 2000) ถ้าแป้งมี side chain ที่ α-1, 6 ที่มีขนาดยาวเพียงพอ ก็สามารถผลิต RS type III จากแป้งที่ amylopectin อยู่มาก ได้ ซึ่งแป้งกล้วย จะมีลักษณะของสายโซ่ยาวของ amylopectin ทำให้สามารถผลิต RS type III โดยใช้กระบวนการผ่านความร้อนได้ ซึ่ง Lehmann et.al. (2002) พบว่าแป้งในกล้วยซึ่งมีองค์ประกอบ amylase 8.47 $\pm$0.19 มี RS 50% หลังจากผ่านกระบวนการใช้ความร้อนชื้น ที่ 145 $^{\circ}$C จะได้ RS เพิ่มขึ้นเป็น 84% หลังจากนั้นนำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็น พรีไบโอติค โดยใช้จุลินทรีย์ที่ได้จากทางเดินอาหารของคนที่มีสุขภาพดี พบว่าสัดส่วนของ acetate:propionate:byterate ที่ได้คือ 49:17:34 ซึ่งแสดงว่ามีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพเนื่องจากการ

หมักย่อยมีสัดส่วนของ butyrate อยู่สูง จึงจัดได้ว่า RS เป็นแหล่งของ พรีไบโอติค ได้ เนื่องจากไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร แต่เป็นแหล่งสารอาหารที่ดีของจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacterium หรือ โพรไบโอติค (probiotic) (Sajilata et.al., 2006)

Faisant et.al. (1995a and 1995b) ศึกษาการย่อยได้ของกล้วยดิบที่ผ่านกระบวนการ freeze-dried ซึ่งไม่ผ่านกระบวนการใช้ความร้อน ซึ่งแป้งกล้วยดิบที่ได้ มี โปรตีน เยื่อใย และ α-glucan ปริมาณ 38, 93, 770 g/kg ตามลำดับ ซึ่งในส่วน α-glucan ประกอบด้วย oligosaccharides 60 g/kg และ insoluble starch 710 g/kg ซึ่งเป็น resistant starch 542 g/kg ซึ่งพบว่า 84% ของ α-glucan ไม่ถูกย่อย และถูก ferment เกือบทั้งหมดในส่วนของลำไส้ใหญ่ แสดงให้เห็นถึงการส่งเสริมสุขภาพที่ดีของทางเดินอาหารส่วนปลาย

Kayisu et.al. (1981) ศึกษาการสกัดแป้งจากกล้วยดิบด้วยน้ำ พบว่าสามารถสกัดแป้งให้บริสุทธิประมาณ 99.5% Whistler (1998) ได้พัฒนาเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ ในการผลิตแป้งจากกล้วยที่คัดทิ้งโดยใช้สารเคมีน้อยที่สุด โดยการแช่กล้วยในสารละลาย sodium bisulfide ที่ pH 3.5-5.5 เป็นเวลา 2-8 ชั่วโมง ซึ่งเวลาที่ดีที่สุดคือ 4 ชั่วโมง ในช่วงที่แช่สารละลาย เอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้วย เช่น pectinase และ polygalacturonase ทำให้ผนังเซลล์ แตกออก ทำให้เม็ดแป้งถูกปล่อยออกมาอยู่ในสารละลาย หลังจากนั้น กรอง ด้วยตะแกรงลวด เพื่อแยกเอาส่วนที่ไม่ใช่แป้งออก แล้วทำการปั่นแยกอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะได้ผลผลิตแป้งจากกล้วยดิบ 20-60% ขึ้นอยู่กับความดิบของกล้วย นอกจากนี้ กล้วย มีมากมายหลายชนิด ปริมาณของแป้งย่อมมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของผลที่แตกต่างกัน ทำให้สัดส่วนของเปลือกมีปริมาณแตกต่างกันไปด้วย Chiang et.al.(1987) รายงานการผลิตแป้งจากกล้วยน้ำว้า (*M. sapientum*) ในระดับโรงงานต้นแบบ โดยใช้กล้วยดิบทั้งหวี พบว่ากล้วยทั้งหวีมีของแข็ง 30% ประกอบด้วยแป้งประมาณ 80% โปรตีน 6.4% เยื่อใย 8.5% และ pectin 2.5% ส่วนกล้วยที่ปอกเปลือกนำมาหั่นและบดในสารละลาย 0.5 M NaOH หลังจากนั้นนำมาล้าง ปั่นแยกเอาส่วนตะกอน มาทำให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิ 50 $^{\circ}$C ได้แป้ง 70% ความบริสุทธิประมาณ 94% ส่วน Fichtali et.al. (1999) ได้พัฒนาการสกัดแป้งจากกล้วยดิบทั้งเปลือก โดยบดกล้วย ในสารละลาย 0.5 M NaOH แล้วนำมาทำการกรองผ่านตะแกลงขนาด 60, 80 และ 200 mesh เพื่อร่อนเอาเยื่อใยและกากจากเปลือกออก หลังจากนั้นนำแป้งมาล้างด้วยน้ำอีกครั้ง จะได้แป้งออกสีน้ำตาล หลังจากนั้นน้ำมาล้างด้วยน้ำอีกครั้งและทำการปั่นแยก แล้วทำให้แห้งจนมีความชื้น 9.2% จะได้แป้งที่บริสุทธิ 95% มีโปรตีนต่ำกว่า 1%

ในส่วนของเปลือกกล้วย ซึ่งมีประมาณ 20% เป็นแหล่งของเยื่อใยที่มีราคาถูก ประกอบด้วย hemicellulose และ pectin ตามที่ Chiang et.al.(1987) รายงานว่า เปลือกกล้วยน้ำว้ามี เยื่อใย 21% และ pectin 5% ซึ่ง hemicellulose จากเปลือกกล้วยสามรถกระตุ้น macrophage cell ซึ่งเป็นตัวชี้วัดถึงสุขภาพที่ดี ดังนั้น จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นสารเสริมสุขภาพได้ (Zhang et.al., 2004)

da Mota et.al., (2000) รายงานองค์ประกอบของแป้งกล้วยดิบ จากหลายๆ สายพันธุ์ พบว่าอุณหภูมิสูงสุดของการ gelatinization คือ 68-72°C ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ พบว่าได้แป้งเป็นองค์ประกอบ 61-76.5%, amylose 19-23%, protein 2.5-3.3%, moisture 0.3-0.8%, lipids 2.6-3.5% และ total

fiber 6-15% สำหรับรายงานของ L'Homme et.al.(2003) พบว่าในกล้วยบด (banana puree) มี fructan 16% ซึ่ง oligosaccharides ในกล้วย มีความคงทน เมื่อใช้ความร้อน 80-100 ^{o}C นาน 30 นาที

Fructooligosaccharide (FOS) หมายถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล 3 ชนิด ได้แก่ 1-kestose (β-D-Fru-(2$\rightarrow$1)$_2$-α-D-glucopyranoside, GF2), nystose (β-D-Fru- (2$\rightarrow$1)$_2$-α-D-glucopyranoside, GF3) และ fructofuranosylnystose (β-D-Fru-(2$\rightarrow$1)$_4$ -α-D--glucopyranoside GF4) ซึ่งหน่วยของ fructosyl (F) จับที่ตำแหน่ง β (2$\rightarrow$1) ของ sucrose (GF) (L'homme, 2003) ซึ่งพบมากในพืชผัก และผลไม้หลายชนิด เช่น กล้วย พลัม หอมหัวใหญ่ (onion) หอมหัวเล็ก (shallot) chicory และ artichoke (Chambell et.al.,1997; Hogarth et.al, 2000)

ดังนั้นจากรายงานต่างๆ จะเห็นได้ว่า ในกล้วยดิบ นอกจากจะมีส่วนของ FOS เป็นองค์ประกอบแล้ว ยังมีส่วนของ RS ที่มีคุณสมบัติเป็น พรีไบโอติคได้อีกด้วย ซึ่งในการทดสอบในคน พบว่าช่วยในการเพิ่ม bifidobateria ในระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย (Gibson et.al., 1995) สำหรับการทดสอบการเสริม FOSในอาหารลูกสุกรหย่านม Klein et.al.(2001) พบว่า มีการเพิ่มของ Bifidobacteria และลดปริมาณของ *Escherichia coli* ในลำไส้ใหญ่ของลูกสุกร เช่นเดียวกับรายงานของ Buddington (2001) ซึ่งได้รวบรวมผลการวิจัยการใช้ NDO (nondigestible oligosaccharides) สามารถเพิ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติคในระบบทางเดินอาหาร ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคที่ดีขึ้น รวมทั้งการใช้ประโยชน์ของพลังงาน และสารอาหารดีขึ้น Sghir et.al. (1998) รายงานไว้ว่า Lactobacilli สามารถใช้ประโยชน์ FOS ได้ดีกว่า กลุ่ม bifidobacteria นอกจากนี้ Mikkelson and Jensen (2004) พบว่า FOS มีผลต่อรูปแบบการหมักย่อยในทางเดินอาหารส่วนปลายของสุกร ช่วยเพิ่มปริมาณของกรด butyric และลดปริมาณกรด acetic รวมถึงเพิ่มปริมาณของยีสต์ อีกด้วย นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่ม saccharolytic activity ทำให้การย่อยได้ของ NFE, NDF และ hemicellulose ในทางเดินอาหารสุกรเพิ่มขึ้น (Mountzouris et.al., 2006)

ในการนำกล้วยน้ำว้ามาใช้ประโยชน์ในทางยาหรือสมุนไพรในคน มีรายงานว่าผลกล้วยห่าม ฝานตากแดดให้แห้ง บดเป็นผง ใช้ป้องกันหรือบำบัดโรคแผลในกระเพาะอาหาร การที่ผงกล้วยดิบ สามารถป้องกัน การเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ได้ เพราะในกล้วย จะมีสาร ไปกระตุ้น ให้เซลล์ใน เยื่อบุกระเพาะหลั่งสาร mucin ออกมา ช่วยเคลือบกระเพาะ - รักษา อาการ ท้องเสีย การที่ กล้วยห่าม สามารถ แก้อาการ ท้องเสีย ได้ เพราะมี สารแทนนิน โดยขนาดและวิธีใช้ คือ ใช้ผลกล้วยห่าม 3 - 4 ช้อนชา หรือ 5 - 7 กรัม ผสมน้ำหรือน้ำผึ้ง หนึ่ง ถึง สองช้อนโต๊ะ ดื่มวันละ 4 ครั้ง ก่อนอาหาร และ ก่อนนอน (http:/www.phuketjettuor.com/herbs/banana.htm)

2.4 โพรไบโอติค (Probiotic)

ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ มีความซับซ้อนของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ ที่เกี่ยวข้องซึ่งกันและกัน และเกี่ยวข้องกับตัวสัตว์ด้วย ซึ่งเมื่อแบ่งแยกชนิดที่แตกต่างได้โดยประมาณ 400 ชนิด และมี

จำนวนเซลล์ทั้งหมดประมาณ 10^{14} เซลล์ ซึ่งจำนวนดังกล่าวใกล้เคียงกับในคน ซึ่งจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงได้มากน้อยขึ้นอยู่กับ หลายๆ ปัจจัย (Fuller, 2007) ได้แก่

1. อายุของสัตว์ : ลูกสัตว์ที่ยังดูดนมแม่ แตกต่างจากสัตว์ที่เต็มวัยแล้ว
2. อาหาร : ในสัตว์โตแล้ว กินอาหารที่มีความแตกต่างกัน มีผลต่อประชากรจุลลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร
3. สิ่งแวดล้อม : สภาพการเลี้ยงแบบธรรมชาติ กับสภาพการเลี้ยงที่มีการปรับสภาพแวดล้อม ทำให้มีความแตกต่างของจุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบในระบบทางเดินอาหาร
4. ความเครียด : การเลี้ยงสัตว์ในสภาพที่เกิดความเครียด ทำให้สัตว์มีการหลั่งฮอร์โมนที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ มีการหลั่งสารเยื่อเมือก และส่งผลต่อของจุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบในระบบทางเดินอาหาร
5. การใช้ยา : การใช้ยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีเพื่อต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิด ทั้งในกรณีเพื่อป้องกัน หรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ ส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร รวมไปถึงจุลินทรีย์ ที่ก่อโรคด้วย

จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน เนื่องมาจากการคัดเลือกตามธรรมชาติ และความสามารถที่จะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Rolfe, 1996) ซึ่งมีปัจจัยมากมายดังได้กล่าวไปแล้ว เป็นปัจจัยควบคุม ซึ่งเป็นปัจจัยจุลินทรีย์เอง และปัจจัยจากตัวสัตว์ รวมทั้งการแข่งขันกันของชนิดของจุลินทรีย์ สรีรวิทยาของสัตว์ และที่สำคัญคือสารอาหารที่สัตว์กินเข้าไป (Kelly et.al.,1994; Conway, 1996) ในลูกสุกรหย่านม อายุเมื่ออย่านม มีผลต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหาร สุกรที่หย่านมอายุ 21 วัน มีความแปรปรวนของปริมาณจุลินทรีย์ ระดับ pH และวัตถุแห้ง ในระบบทางเดินอาหารมากกว่า สุกรที่หย่านมอายุ 28 วัน (Mathew et.al., 1996) การเจริญของแบคทีเรีย ต้องการอาหารทั้งแหล่งพลังงาน และโภชนะอื่นๆ ที่ได้รับจากอาหารที่สัตว์กินเข้าไป หรือเซลล์ที่หลุดลอกออกมาจากเซลล์เยื่อบุของระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งสารเยื่อเมือกที่คัดหลั่งจากพื้นที่ผิวภายในทางเดินอาหาร (Stewart et.al. 1993)

การแข่งขันกันเพื่อแย่งสารอาหารภายในระบบทางเดินอาหาร จัดเป็นปัจจัยตัวชี้วัดหลัก ถึงองค์ประกอบของจุลิทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร อาหารที่เหลือจากการย่อยและดูดซึมของสัตว์ มีอิทธิพลต่อกิจกรรมเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ (Gibson and McCartney, 1998) จุลินทรีย์ชนิดก่อโรค จะปราศจากอันตราย หรือส่งผลร้ายต่อสัตว์ มีการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา จากปัจจัยภายนอก เช่น ความเครียด การเปลี่ยนชนิดของอาหารอย่างทันทีทันใด ส่งผลถึงความสมดุลของจุลินทรีย์เสียไป ความแปรปรวนในลำไส้ ทำให้มีอาหารเหลือสำหรับจุลินทรีย์ก่อโรค อาการแรกที่พบคือ สุกรท้องเสีย และกระทบถึงการเจริญเติบโต (Kurti, 2007)

ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิตของสุกร ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารหรือการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว สามารถเพิ่มได้ประมาณ 5% จากการใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต ทั้งนี้ผลจากการใช้สารปฏิชีวนะ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และปฏิกิริยาร่วมระหว่างจุลินทรีย์ กับตัวสัตว์ (Simon, 2005) การย่อยอาหารอย่างมีประสิทธิภาพของสัตว์ ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติในระบบทางเดินอาหาร การใช้สารปฏิชีวนะเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ในขนาดเพื่อการป้องกันโรค มีผลทำให้สัตว์มีสุขภาพดี ส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตดีตามไปด้วย ซึ่งมีการใช้ในลักษณะนี้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีก และสุกร อย่างไรก็ตาม การเสริมสารปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพื่อ ส่งผลทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารขาดความสมดุล และจุลินทรีย์ที่เป็นโทษก็จะมีการพัฒนาปรับตัวเพื่อต้านฤทธิ์สารปฏิชีวนะนั้นๆ ซึ่งก็จะส่งผลต่อตัวสัตว์และคน ทำให้การรักษาอาการเจ็บป่วยจากการติดเชื้อที่จะเกิดขึ้นต่อไป ยากลำบากมากยิ่งขึ้น (Abe et.al., 1995; Pascual et. al, 1999) นอกจากนี้ การตกค้างของสารปฏิชีวนะในผลผลิตจากสัตว์ ก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยทางอาหารต่อผู้บริโภค ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการห้ามใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์ ในวัตถุประสงค์เพื่อการป้องกันโรคหรือเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth promotor) ซึ่งก็มีการห้ามทั้งในและต่างประเทศ

แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติค (Lactic Acid Bacteria; LAB) มีการใช้เป็นโพรไบโอติคในอาหารหมักสำหรับมนุษย์ มาตั้งแต่สมัยโบราณ วัตถุประสงค์เพื่อการถนอมอาหาร และให้ประโยชน์ต่อสุขภาพรวมทั้งมีการผลิตในทางการค้ามานับพันปีแล้ว Metchnikoff (1907) ได้รายงานถึงประโยชน์ต่อสุขภาพที่เชื่อมโยงถึงการบริโภคน้ำนมหมัก ซึ่งเขาได้ทำการวิจัยแล้ว โดยให้ชื่อว่า “Bulgarian bacillus” ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ ที่หมายถึง *Lactobacillus delbreuckii* ssp. *bulgaricus* ซึ่งเป็นหัวเชื้อหมักเริ่มต้นที่เป็น LAB ของโยเกิร์ต หลังจากนั้นมา ก็มีการนำ Lactobacilli มาใช้เป็นจุลินทรีย์ โพรไบโอติค อย่างต่อเนื่องตลอดมา และในปัจจุบันมีการนำจุลินทรีย์อีกหลายชนิด มาใช้เป็นโพรไบติค สำหรับอาหารคน เช่น *L. delbreuckii ssp. bulgaricus, L. acidophilus, L. casei, L. fermentum, L. plantarum, L. brevis, L. lactis* และ *L. reuteri* (Naidu and Clemens, 2000)

จากความรู้เรื่องสุขภาพในคน จากการใช้โพรไบโอติค ในเวลาต่อมา นักวิชาการอาหารสัตว์จึงหันมาให้ความสนใจการใช้จุลินทรีย์มีชีวิต เสริมในอาหารสัตว์ หรือที่เรียกกันว่า โพรไบโอติค เช่นเดียวกับที่ใช้กับอาหารคน เพื่อที่จะนำมาใช้ทดแทนสารปฏิชีวนะ เพื่อความปลอดภัยในการผลิตสัตว์และความปลอดภัยของเนื้อสัตว์ที่ผลิตดังนั้น โพรไบโอติค (probiotic) ในความหมายทางด้านอาหารสัตว์หมายถึง จุลินทรีย์มีชีวิตที่เสริมในอาหารสัตว์ เพื่อหวังผลทางด้านปรับปรุงสมดุลจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ การคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ เพื่อนำมาเป็นตัวช่วยในการปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญ (Kurti, 2007) ตัวอย่างจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวที่มีการนำมาใช้ เช่น *Lactobacillus spp., Bifidobacteria spp*, หรือ *Enterococcus faecium* ที่สามารถสร้างโคโลนีในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ เช่น ในสุกร เป็นต้น และสามารถแข่งขัน และลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Escherichia coli.* นอกจากนี้ยังมี yeasts, streptococci, และ *E.coli* ที่ไม่ก่อโรค ซึ่งชนิดที่มีการนำมาใช้มากที่สุดคือ lactobacilli และสามารถแยกได้อย่างน้อย 7 ชนิด ที่ให้ผลดีต่อระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากสามารถผลิตกรดแลคติคได้ในปริมาณมาก ทำให้สภาพแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารมีสภาพเป็นกรด มีส่วนในการป้องกันการเกิด *E.coli* ชนิดที่ก่อโรค โดย ในสภาวะปกติของระบบทางเดินอาหาร

สุกร จะมีจุลินทรีย์ มากกว่า 400 ชนิดที่ทำหน้าที่ในการป้องกันโรค และจุลินทรีย์ที่มีความจำเพาะบางชนิด มีหน้าที่จำเพาะต่อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด ดังนั้นจึงเชื่อกันว่า โพรไบโอติค ทำหน้าที่หลักๆ ดังต่อไปนี้คือ

1) เจือจางสารพิษที่เกิดขึ้นในระบบทางเดินอาหาร
2) ป้องกันการจับตัวของจุลินทรีย์ก่อโรคกับเซลล์ผนังลำไส้เล็ก ในลักษณะการแข่งขันกัน
3) กระตุ้นภูมิคุ้มกันเฉพาะส่วน
4) ลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคในลักษณะการแข่งขันกัน

ประโยชน์ของโพรไบโอติค ทางด้านการเพิ่มภูมิต้านทานโรค Fuller (2007) สรุปไว้เป็น 3 แนวทางหลัก คือ

1) เพิ่มการทำงานของ macrophage โดยแสดงให้เห็นในลักษณะของ สามารถเพิ่มศักยภาพในการเข้าทำลายเชื้อโรค
2) การเพิ่มผลผลิตของระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่การเพิ่มขึ้นของ อิมมิวโนกอร์บบิวลิน ในกลุ่ม IgG และ IgM และ Interferon (สารต่อต้านไวรัสแบบไม่จำเพาะเจาะจง)
3) เพิ่ม แอนติบอดี้ เฉพาะส่วน บริเวณเยื่อบุผนังลำไส้เล็ก ซึ่งมักจะเป็น IgA

รายงานจากผลการวิจัยของ Fuller (2007) ที่ทดสอบในหนู จุลินทรีย์ที่มีผลในการเพิ่มภูมิต้านทานได้ดีที่สุด ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* โดยชนิดที่ดีสุดคือ *Lactobacillus casei* ซึ่งดีกว่า *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophillus* ซึ่งสองชนิดหลังเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการทำโยเกิร์ต ซึ่งมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารค่อนข้างลำบาก ไม่เหมือนจุลินทรีย์ที่มาจากลำไส้ อย่าง *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* นอกจากนี้ยังพบว่า การให้จุลินทรีย์ผสมของ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* ให้ผลดีกว่าการให้แบบชนิดเดียว นอกจากนี้จากการทดสอบผลของการใช้จุลินทรีย์ผสม 5 ชนิด ในกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติค ได้แก่ *Lactobacillus murinus* 2 สายพันธุ์ และ *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius*, *Lactobacillus pentosus* และ *Pediococcus pentosaceous* โดยการให้กินโดยตรง และทดสอบการให้เชื้อ *Samonella enterica* serova Typhimurium พบว่า ส่วนผสมของโพรไบโอติค สามารถช่วยลดผลกระทบ ทางด้านคลินิก จากการติดเชื้อซัลโมเนลลา รวมทั้งน้ำหนักเพิ่มของสุกรดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมโพรไบโอติค (Casey et.al., 2007)

ในยุโรป มีโพรไบโอติคจดทะเบียนใน EU13 เพื่อใช้เสริมในอาหารสัตว์ และพิสูจน์แล้วว่าใช้ในลูกสุกรได้ ซึ่งมี 7 ชนิด ที่คัดเลือกมาจาก *Enterococcus faecium* (พบในธรรมชาติ ในระบบทางเดินอาหาร) 2 ชนิดเป็นสปอร์ของแบคทีเรียในจีนัส Bacillus (พบในธรรมชาติ ในดิน) และอีก 2 strains ของ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ yeast (พบในธรรมชาติ ในผลไม้) และมีหนึ่งผลิตภัณฑ์ ที่ประกอบด้วย *Lactobacillus farciminis* และ *Pediococcus acidilactici* ซึ่งพบในระบบทางเดินอาหารและผลิตภัณฑ์นม และปริมาณที่แนะนำให้ใช้โพรไบโอติค เสริมในอาหารสัตว์ คือประมาณ 10^9

cfu/อาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในลูกสุกร จะเป็น *Enterococcus faecium* (Simon, 2005) เหตุผลที่ lactobacilli และ Bifidobacteria มีการนำมาใช้เป็นอันดับรองลงมา เนื่องจาก มีความคงตัวต่ำ ในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บอาหารสัตว์ ชนิดที่มีความคงตัวมากที่สุดได้แก่สปอร์ของ Bacillus เนื่องจากมีความคงทนต่อความร้อน และคงตัวอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน จากรายงานของ Kurti (2007) การใช้ Bacillus เสริมในอาหารสุกร ได้แก่ *Bacillus subtilis* ร่วมกับ *Bacillus licheniformis* ช่วยในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ การใช้ประโยชน์โภชนะดีขึ้น และปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโต

ในทางปฏิบัติ การให้จุลินทรีย์มีชีวิตหรือสารเมตาโบไลซ์ของจุลินทรีย์ พบว่าให้ผลดีในการกระตุ้นการเพิ่มน้ำหนักและประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Abe et. al., 1995; Denli et.al, 1999) แต่ราคาที่ค่อนข้างสูงของสารโพรไบโอติคกับปริมาณการใช้ในสุกร ทำให้ไม่เหมาะสมทางเศรษฐกิจ จึงมีการพัฒนาการผลิตในรูปแบบนำไปใช้ผสมในอาหาร โดยใช้สารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูก (Guerra and Pastrana, 2003; Guerra et.al., 2005) จากการทดสอบโดยใช้ lactic acid bacteria 4 ชนิด ได้แก่ *Pediococcus acidilactici* NRRL B-5627, *Lactococcus lactis* subsp. *actis* CECT539, *Lactobacillus casei* subsp. casei CECT 4043 และ *Enterococcus faecium* CECT 410 ทดแทนสารปฏิชีวนะในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด สามารถมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารของสุกร ถ้าเก็บจุลินทรีย์เหล่านี้ร่วมกับหางนมผงไว้ที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C สามารถเก็บไว้ได้นานกว่า 3 เดือน และเมื่อผสมในอาหารสุกรแล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง เก็บไว้ได้ 8 วัน และจากการประเมินประสิทธิภาพการผลิตของสุกรเมื่อเสริมโพรไบโอติค 10^{9} cfu/อาหาร 1 กรัม/วัน พบว่าช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและลดปริมาณ coliform ในมูลสุกร (Guerra et.al., 2007)

ความซับซ้อนภายในระบบทางเดินอาหารของสุกรแต่ละตัวที่แตกต่างกัน อาจส่งผลให้ชนิดของโพรไบโอติคที่ใช้ แล้วเห็นผล มีความแตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้ การใช้โพรไบโอติคที่มีจุลินทรีย์หลายๆ ชนิดรวมกันอยู่จึงให้ผลดีในทางปฏิบัติสำหรับการผลิตสุกรในระดับฟาร์ม (Gardiner et.al., 2004) จากรายงานของ Angellis et.al. (2006) ได้ทำการแยกจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactobacilli จำนวน 35 ชนิด จากมูลของสุกร แล้วนำมาทดสอบ ในสภาพของการผลิตอาหารอัดเม็ด พบว่า *L. reuteri* 3S7 และ *L. plantarum* ซึ่งปรากฏในสภาพธรรมชาติในระบบทางเดินอาหารในปริมาณมาก สามารถทนทานต่อกระบวนการอัดเม็ดอาหาร ทนต่อกรดและน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหาร และมีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

Tortuero et.al. (1995) พบว่าการเสริม *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus casei* ช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวของสุกร อายุมากกว่า 21 วัน ในขณะที่การเสริม *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* ซึ่งเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ผลิตโยเกิร์ต สุกรให้ผลตอบสนองเฉพาะในช่วงอายุ 12 ถึง 21 วัน Estienne et.al. (2005) พบว่าการเสริมโพรไบโอติค (lactobacillus และ streptococcus) มีแนวโน้มในการเพิ่มศักยภาพการเจริญเติบโตต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินได้ ในลูกสุกรหลังหย่านมต่างครอกที่นำมาขังรวมกัน Kim et.al. (2007)

ทดสอบเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดของ จุลินทรีย์ในกลุ่ม lactobacilli เพื่อนำมาใช้เสริมเป็นโพรไบโอติคในอาหารสุกร พบว่า *Lactobacillus* sp. PSC101 มีความเหมาะสมที่สุด เพราะสามารถทนสภาพกรดและน้ำดีได้อย่างดี การเสริม *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 และ *Bacillus cereus* var *toyoi* ช่วยลดอัตราการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ *Bacillus cereus* var *toyoi* ยังช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตสุกรหลังหย่านม 11% อย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น 8% อย่างมีนัยสำคัญ (Taras et.al., 2007)

พรีไบโอติค (Prebiotic) ทำหน้าที่ในการเป็นแหล่งพลังงานสำหรับโพรไบโอติค ในการนำโพรไบโอติคและพรีไบโอติคมาใช้ร่วมกัน เรียกว่า ซินไบโอติค (Synbiotics) อาจช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของโพรไบโอติคในระบบทางเดินอาหาร ทำให้โพรไบโอติคสามารถแสดงศักยภาพได้อย่างเต็มที่ (Mosenthin and Simmermann, 2000) ผลที่ได้หลักๆ ของพรีไบโอติคบางชนิด คืออาจส่งผลเปลี่ยน กลุ่ม (strain-) และ ชนิด (species) ของ bifidobacterial community มากกว่าเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria ซึ่งทำให้จุลินทรีย์กลุ่มอื่นลดจำนวนลง (Maxwell et.al., 2003) พรีไบโอติคบางชนิดก็ไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ที่ต้องการได้ การเลือกชนิดของโพรไบโอติคที่เหมาะสมสามารถเจริญได้ดีในพรีไบโอติคที่เลือกใช้ ก็อาจไม่พบเมื่อตรวจที่บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ซึ่งชนิดของอาหารที่ให้สุกรกินก็มีผล ทำให้ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ดังนั้นการเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ แล้วทำการเสริม โพรไบโอติคให้เหมาะสมกับพรีไบโอติค จึงจะเป็นการช่วยให้จำนวนของ bifidobacteria มีจำนวนมากที่สุด (Maxwell et.al., 2003) พอสรุปได้ว่า ลักษณะของโพรไบโอติคที่เหมาะสมที่สุด ควรมีลักษณะดังต่อไปนี้ (Fuller, 2007)

1. ไม่ก่อให้เกิดโรค และไม่เป็นพิษ
2. ให้ประโยชน์ต่อสัตว์ ในลักษณะใดลักษณะหนึ่ง
3. มีชีวิตอยู่ได้นาน
4. คงตัวในสภาพการเก็บรักษา
5. สามารถมีชีวิตหรือสร้างโคโลนีได้ในระบบทางเดินอาหาร
6. สามารถนำไปผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม

การศึกษาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของโพรไบโอติค SCAN (2000) ได้ตกลงกันในรายละเอียดว่าเพื่อประเมินประสิทธิภาพ การศึกษา 3 ส่วนที่มีนัยสำคัญที่ $P<0.05$ นั้นมีความจำเป็น และควรเป็นการทดสอบที่มีการใช้ในปริมาณต่ำสุด และทดสอบใน 3 พื้นที่ ที่มีความแตกต่างกัน และการทดสอบใช้วิธีการที่เหมาะสมตามหลักการปฏิบัติที่ดีที่สุด (best practice) โดยใช้จำนวนสัตว์ที่เพียงพอ รวมทั้งจำนวนซ้ำที่เหมาะสม เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการผลิต ยกตัวอย่างเช่น ในลูกสุกร ควรทดสอบตั้งแรกเกิดจนกระทั่งหย่านม (creep feed) อีกช่วงคือ หลังหย่านมจนกระทั่ง น้ำหนักตัว 25 กิโลกรัม (หรือตามระยะที่เลี้ยงในระยะอนุบาล) และสุดท้ายคือช่วงรุ่น-ขุน จนกระทั่งส่งโรงฆ่าสัตว์

การใช้โพรไบโอติค เพื่อเสริมความแข็งแรงของระบบทางเดินอาหาร โดยการทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารมีความสมดุล ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้การควบคุมโดยสัตวแพทย์ (SCAN, 2000)

เนื่องจากผลจากการเสริม ให้ผลได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม รวมทั้งบางสิ่งบางอย่างที่เกิดกับเนื้อเยื่อของสัตว์ เช่น ก่อให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Matsuzaki, 1998) การควบคุมเชื้อโรคบางชนิด (Tortuero, 1995)

2.4.1 ชนิดของโพรไบโอติคที่เลือกใช้ในการศึกษาในครั้งนี้

กลุ่ม Lactic Acid Bacteria (LAB) ได้แก่ *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus*

9.4.1 *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium สามารถคงตัวที่ pH สูง มากกว่า *Lactobacillus acidophilus* และสามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ก่อโรค (bacteriocins) ได้เป็นอย่างดี จึงนิยมใช้เป็นโพรไบโอติคในคน (Shah, 2007) จากรายงานของ Jin et.al. (2000) มากกว่า 60% ของโพรไบโอติคในท้องตลาดประกอบด้วย ชนิดของ Enterococci จึงได้ศึกษาความสามารถของ *Enterococcus faecium* 18C23 ในการยับยั้งการเข้าจับตัวกับผนังเยื่อเมือกของลำไส้ลูกสุกรของ *Escherichia coli* K88ac และ K88MB พบว่า การยับยั้งมากกว่า 90% เกิดขึ้น เมื่อใช้ *E. faecium* 18C23 มากกว่าตั้งแต่ 10^9 CFU ซึ่ง *Enterococcus faecium* สามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติค มีชีวิตอยู่ได้ในสภาพ pH 3.0 มากกว่า 3 ชั่วโมง ในน้ำดี 1% มากกว่า 24 ชั่วโมง และให้ผลดีในการต้านจุลินทรีย์ Pollman et.al. (2005) พบว่า *E. faecium* สามารถลดอัตราการติดเชื้อของสุกรถึงระดับภายในเซลล์ และการเสริมในแม่และลูกสุกร ยังไม่เห็นผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน แต่ช่วยลดจุลินทรีย์ก่อโรค *E.coli* (Scharek et.al., 2005) Strompfova et.al. (2006) ทดสอบ *Enterococcus faecium* EK13 ในลูกสุกร ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักของลูกสุกร แต่พบปริมาณ lactic acid และ propionic acid เข้มข้นมากขึ้นในส่วน colon ระดับ pH ในลำไส้เล็กต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม รวมทั้งตรวจพบ *E.coli* ลดลง นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Strompfova and Laukova (2007) พบว่า *Enterococcus faecium* EF55 คัดแยกจาก crop ของไก่ สามารถคงตัวในความร้อน 100 C° นาน 10 นาที และคงตัวในการเก็บรักษาที่ -20 C° นาน 12 เดือน และมีความสามารถสูงสุดในการยับยั้งเชื้อก่อโรค (gram-positive bacteria) จากการเพาะเลี้ยงใน MRS ที่ pH ระหว่าง 7 – 9 การเสริม *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 ในแม่สุกรก่อนคลอดระยะให้นม และเสริมในลูกสุกร รวมทั้งเสริม อีก 6 สัปดาห์ Simon (2005) สรุปได้ว่า ประสิทธิภาพการผลิตของแม่และลูกสุกรไม่แตกต่างกันทางสถิติ อัตราการเกิดท้องเสียลูกสุกรหลังหย่านมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ การย่อยได้ของกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Taras et.al., (2006) พบว่าช่วยลดอัตราการตายของลูกสุกร และอัตราการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังคลอด และลดการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านม ได้ถึง 40% การเสริม *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 และ *Bacillus cereus* var *toyoi* ช่วยลดอัตราการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านมอย่างมีนัยสำคัญ (Taras et.al., 2007)

2.4.2 *Lactobacillus acidophilus*

ในปัจจุบัน มีจุลินทรีย์ในจีนัส *Lacctobacillus* มากกว่า 56 species ซึ่ง *Lactobacillus acidophilus* เป็นชนิดที่มีการแนะนำให้ใช้ในอาหารคนมากที่สุด *Lactobacillus acidophilus* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงได้ถึง 45 C° แต่เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35-40 C° ในสภาพกรดอ่อนๆ 6.4-4.5 การเจริญเติบโตหยุดลงเมื่อ pH 4.0-3.6 ความทนทานต่อสภาพกรดที่ 0.3-1.9% pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ 5.5-6.0 (Curry and Crow, 2003; Shah, 2003) Lacctobacilli เป็นชนิดของจุลินทรีย์ที่มักมีการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติคในอาหารลูกสุกรหย่านมเนื่องจากสมมติฐานที่ว่า จุลินทรีย์กลุ่มนี้ สามารถให้ประโยชน์อย่างยิ่งกับสัตว์ที่มันอาศัยอยู่ (Tannock, 1991) ปริมาณของ lactobacilli ตามธรรมชาติ ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่สุกรกิน (Krause et.al, 1995) การทดสอบการใช้ *Lactobacillus* ที่มีคุณสมบัติช่วยในการหมักได้ดี โดยยังไม่มีการคัดแยกชนิดในอาหารลูกสุกรหย่านม พบว่า ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดการเกิดท้องเสีย การย่อยได้ของเยื่อใยดีขึ้น แต่ไม่เห็นผลในสุกรขุน (Hale and Newton, 1979) สำหรับ *Lactobacillus acidophilus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถปรับตัวได้ดีในสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อน สามารถคัดแยกได้จากระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ และจากการใช้ *Lactobacillus acidophilus* ที่คัดแยกจากมูลของพ่อสุกรเต็มวัย แล้วเสริมในสุกร พบว่าช่วยลดโคเลสเตอรอลในเลือดและไขมันประเภท low density lipoprotein หรือ LDL (Danielson et.al. 1989) ในการเสริม *Lactobacillus acidophilus*ในอาหารสุกรหย่านม ที่มีแลคโตสให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด (Pollmann et.al., 1980) จากรายงานของ Fuller (2007) จากผลการวิจัยทดสอบในหนู จุลินทรีย์ที่มีผลในการเพิ่มภูมิต้านทานได้ดีที่สุด ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* การให้จุลินทรีย์ผสมของ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* ให้ผลดีกว่าการให้แบบชนิดเดี่ยว จากการทดสอบ *Lactobacillus casei* strain *Shirota* ซึ่งเป็นหัวเชื้อทางการค้าที่ใช้สำหรับการหมักนมในระบบทางเดินอาหารของสุกร พบว่าการให้กินทุก 6 ชั่วโมง ช่วยให้สามารถปริมาณคงความเข้มข้นจนถึงไส้ติ่ง (Ohashi et. al., 2004) จากรายงานของเยาวพา (2550) *Lactobacillus acidophilus* จัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีการใช้เป็นสารเสริมชีวนะมากที่สุด ในอาหารสัตว์ จากการทดสอบ *Lactobacillus casei* ต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรที่ได้รับวัคซีน PRRS พบว่าไม่มีผลทำให้ภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น แต่ส่งผลให้น้ำหนักเพิ่มของสุกรดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมโพรไบโอติค (Kritas and Morrison, 2007) แต่จากรายงานก่อนหน้านี้ พบว่าสามารถกระตุ้น innate immunity ในหนู (Galdonado and Perdigon, 2006)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

ผลิตภัณฑ์ขั้นต้นที่ได้จากน้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ และพรีไบโอติค (Primary Product from Essential Oil, Organic Acids and Prebiotic; EOP) ที่ทราบสัดส่วนและระดับการใช้ที่เหมาะสม จากผลการวิจัย ของแผนการวิจัย การพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพของผลิตภัณฑ์ขั้นต้นสารเสริมอาหารสัตว์จากธรรมชาติ (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2551) ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วนผสมหลัก

1. น้ำมันหอมระเหย (Essential oil; E) ได้แก่ส่วนผสมของน้ำมันกานพลู น้ำมันผิวส้ม และน้ำมันสะระแหน่ อย่างละ 0.6 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม (Tartrakoon et.al., 2010) นำน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิดมาทำการห่อหุ้มอนุภาคโดยใช้เทคนิค Encapsulation เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมัน ซึ่งการห่อหุ้มจะทำโดยการผสมสารน้ำมันหอมระเหยกับแป้งดัดแปรง แล้วนำมาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spary drier) สารน้ำมันหอมระเหยจะถูกห่อหุ้มไว้ภายใน ทำให้ลดการระเหย รักษาคุณภาพการกระจายในอาหารให้ดีขึ้น และยังเพิ่มอายุการเก็บรักษา (Murúa-Pagola et al. 2009)

1) กรดอินทรีย์ (Organic acids; O) ได้แก่กรดฟิวมาริค กรดซิตริค และกรดแลคติค อย่างละ 1.1 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม (Wandee Tartrakoon et.al., 2010)
2) พรีไบโอติค (Prebiotic; P) ซึ่งเป็นชนิด Fructo-oligosaccharide (FOS) ที่เตรียมได้จากแป้งกล้วย 5 กรัม/อาหารสัตว์ 1 กิโลกรัม (ผลการวิจัยแล้วเสร็จปี 2553 รอการตีพิมพ์)

3.1.1 การทดลองที่ 1 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

สารเสริมที่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (Eessential oil mixture; EOM) จากกานพลู สะระแหน่ และผิวส้ม อย่างละ 0.06 % และกรดอินทรีย์ (Organic acid mixture; OAM) ที่ประกอบด้วย กรดฟิวมาลิค กรดแลคติค และกรดซิตริค อย่างละ 0.11 % (Tartrakoon et al., 2010) นำพรีไบโอติคจากกล้วยดิบ (Pre) ผสม EOM+OAM:Pre (EOP) อัตราส่วน 1:1 เสริมในอาหารทดลอง 0.5 และ 1 % เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริม สูตรอาหารใช้วัตถุดิบหลัก คือ ข้าวโพด กากถั่วเหลือง และหางนม ปรับระดับโภชนะไม่ต่ำกว่าคำแนะนำของ NRC (1998) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในสุกรหย่านม ดูรอค x (ลาร์จไวท์ xแลนด์เรซ) อายุ 21 วันจำนวน 36 ตัว สุ่มสุกรแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม มีเพศผู้และเพศเมียในแต่ละกลุ่มจำนวนเท่าๆ กัน เลี้ยงสุกรบน

กรงตับขังเดี่ยวเป็นเวลา 42 วัน ให้อาหารและน้ำเต็มที่ บันทึกน้ำหนักสุกร ปริมาณอาหารที่สุกรกินทุกสัปดาห์ เพื่อคำนวณหาสมรรถภาพการผลิตต่างๆ นอกจากนี้ยังบันทึกสุขภาพของลูกสุกร เพื่อคำนวณอัตราการเกิดท้องเสียของสุกร จากลักษณะรูปร่าง และสีของมูลสุกร วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple range Test (Steel and Torrie, 1980)

3.1.2 การทดลองที่ 2 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

นำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด (EOP) มาผสมกับโพรไบโอติค ซึ่งเป็นชนิดจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพตรวจสอบจากรายงานการวิจัย แล้วคัดเลือกมาใช้ 2 ชนิด คือ *E. faecium* และ *และ L. acidophilus* ทั้งนี้ในการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกนั้นจะเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 2 เชื้อจากอาหารแข็ง deMan Rogosa Sharpe Medium (MRS, Difco) 1 ลูป ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วย phosphate buffer saline (pH 7.0) จากนั้นนำมาตรวจสอบหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก วิเคราะห์ปริมาณเซลล์โดยวิธีมาตรฐาน plate count ด้วยอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งนี้ในงานทดลองจะใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดมาทำการห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโดยใช้เทคนิค Encapsulation ตามวิธีการของ Chandramouli et al. (2004)

ดังนั้น อาหารทดสอบซึ่งเป็นอาหารฐาน โดยใช้แหล่งวัตถุดิบอาหารหลัก คือ ข้าวโพด และถั่วเหลือง และหางนม เป็นหลัก ปรับให้มีระดับโภชนะตามคำแนะนำของ NRC (1998) ซึ่งกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหาร ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ได้รับอาหารฐานเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 – 5 ได้รับอาหารฐานเสริมด้วย ผลิตภัณฑ์ EOP ในระดับการใช้ 1% ร่วมกับชนิดของโพรไบโอติค ชนิดใดชนิดหนึ่งดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 (Control) กลุ่มควบคุมสุกรได้รับอาหารฐาน
กลุ่มที่ 2 (A) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP
กลุ่มที่ 3 (B) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF)
กลุ่มที่ 4 (C) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA)
กลุ่มที่ 5 (D) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + EF +LA

การผสมส่วนผสมของสารเสริมที่จะใช้ทดสอบ จะทำให้การผสมสารแต่ละชนิดเข้ากับสารสื่อ ได้แก่ ถั่วเหลืองบดละเอียดก่อน เพื่อให้สารเสริมแต่ละชนิดกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างสารเสริม หลังจากนั้นนำมาผสมในอาหารทดลอง

Table 3.1 Composition of experimental diets (as fed basis)

Ingredients	%
Full fat soybean	20.00
Soybean meal	28.90
Corn	38
Fine rice bran	5
Skim milk powder	5
Dicalcium Phosphate (P 18%)	2
Limestone	0.5
Normal salt	0.35
Mineral and Vitamin Mixes*	0.25
Total	100
Chemical composition (%) from calculation	
Crude Protein	23.93
Crude Fiber	3.64
Ether Extract	5.73
Lysine	1.46
Methionine	0.36
Threonine	0.96
Tryptophane	0.52
Calcium	0.85
Phosphorus	0.89
Avialable Phosphorus	0.50
Gross Energy (Kcal/Kg)	3,299
Feed Cost (Baht/kg)	18.50

<u>การทดลองที่ 1:</u> **ศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร**

ทำการทดลองในลูก ลูกผสมหลังหย่านม ดูรอค x (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) หย่านมอายุ 21 วันน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 5-6 กิโลกรัม จำนวน 50 ตัว สุ่มสุกรแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว โดยมีเพศผู้และเพศเมียในแต่ละกลุ่มจำนวนเท่าๆ กันทุกกลุ่มการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูณ์ (Completely Randomized Design) เลี้ยงสุกรบนกรงตับขังเดี่ยว 50 x 100 เซนติเมตร เป็นเวลา 42 วัน หรือ 6 สัปดาห์ สุกรจะได้รับอาหารและน้ำเต็มที่ กลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับ

อาหาร ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ได้รับอาหารฐานเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 – 5 ได้รับอาหารชนิดที่ 2-5 ตามลำดับ โดยอาหารที่ผสมไว้ให้สุกรกินจะผสมไว้ไม่เกิน 7 วัน ถ้าสุกรกินไม่หมดต้องทำการผสมใหม่ สุ่มสุกรแต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารทดลอง 1 ใน 5 ชนิด บันทึกน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นทดลอง น้ำหนักเพิ่มทุกๆ สัปดาห์และน้ำหนักสุดท้ายของการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่สุกรกินแต่ละวัน เพื่อทำการคำนวณหาสมรรถภาพการผลิตต่างๆ รวมทั้ง ข้อมูลทางเศรษกิจ เช่น ต้นทุนค่าอาหารรวมสารเสริมต่อน้ำหนักสุกรที่เพิ่มขึ้น 1 กก. นอกจากนี้ยังบันทึกสุขภาพของลูกสุกร เพื่อวัดอัตราการเกิดท้องเสียของสุกร โดยดูจากลักษณะรูปร่าง และสีของมูลสุกร สุ่มตัวอย่างมูลสุกรเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ เชื้อ *Salmonella spp.* และ *Escherichia coli* และ Coliform bacteria ทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple range Test (Steel and Torrie, 1980)

<u>การทดลองที่ 2</u> : ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของสุกร

อาหารทุกชนิดจากการทดลองที่ 1 จะผสม titanium dioxide 0.5% เพื่อเป็น indigestible marker สำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นเพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะต่อไป เลี้ยงสุกรบนกรงศึกษาการย่อยได้ โดยใช้สุกรจำนวน 25 ตัว วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD) สุ่มให้สุกรแต่ละตัว กินอาหารที่ต้องการทดสอบ 1 ใน 5 ชนิด ดังกล่าวเป็นเวลา 5 วัน โดย 3 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวของสุกรกับอาหารทดสอบ และ 2 วันสุดท้ายเป็นช่วงเก็บมูลทั้งหมด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ทันที เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน เยื่อใย วัตถุแห้ง และโภชนะอื่น ในตัวอย่างอาหาร ตัวอย่างมูล ในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ AOAC (2000) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ค่าการย่อยได้ของโภชนะโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (Steel and Torrie, 1980)

3.2 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ศึกษาทดลองในสุกร ณ หน่วยวิจัยและทดสอบอาหารสัตว์ สถานีวิจัยและฝึกอบรมบึงราชนก คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร วิเคราะห์ทางเคมี และจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เขตพื้นที่พิษณุโลก

บทที่ 4
ผลการดำเนินการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1 การทดลองที่ 1 ทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

สารเสริมที่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (Eessential oil mixture; EOM) จากกานพลู สะระแหน่ และผิวส้ม อย่างละ 0.06 % และกรดอินทรีย์ (Organic acid mixture; OAM) ที่ประกอบด้วย กรดฟิวมาลิค กรดแลคติค และกรดซิตริค อย่างละ 0.11 % (Tartrakoon et al., 2010) นำพรีไบโอติคจากกล้วยดิบ (Pre) ผสม EOM+OAM:Pre (EOP) อัตราส่วน 1:1 เสริมในอาหารทดลอง 0.5 และ 1 % เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริม ทดสอบเลี้ยงสุกรหย่านม ดูรอค x (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) อายุ 21 วัน จำนวน 36 ตัว เป็นเวลา 42 วัน ผลการทดลองดังแสดงใน Table 4.1

Table 4.1 Productive performances of weaning pigs fed experimental diets for 42 days.

Items	Control	EOP 0.5%	EOP 1%	P-value	SEM
Number of Pigs	12	12	12		
Initial body weight (kg.)	5.58	5.56	5.55	0.98	0.06
Final body weight (kg.)	14.21[c]	15.43[b]	16.19[a]	0.02	0.19
Weight gain (kg.)	8.63[c]	9.87[b]	10.64[a]	0.02	0.18
Average Daily gain (kg./d)	0.21[a]	0.23[b]	0.25[a]	0.02	0.01
Feed conversion ratio (FCR)	2.02[a]	1.87[b]	1.79[b]	0.04	0.03
Daily feed intake (kg./d)	0.41[c]	0.43[b]	0.45[a]	0.02	0.04
*Fecal shape score	3.44[a]	2.40[b]	2.18[b]	0.03	0.11
*Fecal color score	3.46[a]	2.34[b]	2.16[b]	0.04	0.11
** Diarrhea (%)	12.86[a]	10.16[b]	8.10[b]	0.04	0.54

[a,b,c] different letters in the same line indicates statistical significant difference ($P<0.05$)

* index of fecal's shape and color is: shape 1= solid form and shape 5 =liquid form color 1= black and color 5= yellow

** Diarrhea (%) = (Day of pigs had fecal shape = 4, 5 and fecal color = 4, 5 in the same day x 100)/ 42

จากผลการทดลอง (Table 4.1) สุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม EOP 0.5 และ 1% ให้ผลด้านประสิทธิภาพการผลิต ลักษณะมูลสุกร รวมทั้งการถ่ายเหลว ดีกว่า ($P<0.05$) กลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่เสริม EOP 1% ให้ผลดีกว่าการเสริมที่ 0.5% ด้านน้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน แสดงให้เห็นว่า พรีไบโอติคจากกล้วยดิบซึ่งเป็นส่วนผสมที่มากที่สุดของสารเสริม ซึ่งมีองค์ประกอบของ fructo-oligosacharide (FOS) 68 % ช่วยให้ประสิทธิภาพการผลิตดีขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Mikkelson and Jensen (2004) ที่พบว่า FOS มีผลต่อรูปแบบการหมักย่อยในทางเดินอาหารส่วนปลายของสุกร ช่วยเพิ่มปริมาณของกรด butyric และลดปริมาณกรด acetic รวมถึงเพิ่มปริมาณของยีสต์ อีกด้วย นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่ม saccharolytic activity ทำให้การย่อยได้ของ NFE, NDF และ hemicellulose ในทางเดินอาหารสุกรเพิ่มขึ้น (Mountzouris et al., 2006)

4.2 การทดลองที่ 2 : การทดสอบส่วนผสมสารเสริมที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติค

นำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด (EOP) ในระดับการใช้จากผลการทดลองที่ 1 คือ 1% ของอาหาร มาผสมกับโพรไบโอติค ซึ่งเป็นชนิดจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ตรวจสอบจากรายงานการวิจัย แล้วคัดเลือกมาใช้ 2 ชนิด คือ *E. faecium* และ *และ L. acidophilus* กลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหาร ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ได้รับอาหารฐานเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 – 5 ได้รับอาหารฐานเสริมด้วย ผลิตภัณฑ์ EOP ในระดับการใช้ 1% (ผลจากการทดลองที่ 1) ร่วมกับชนิดของโพรไบโอติค ชนิดใดชนิดหนึ่งดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 (Control) กลุ่มควบคุมสุกรได้รับอาหารฐาน

กลุ่มที่ 2 (A) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP

กลุ่มที่ 3 (B) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF)

กลุ่มที่ 4 (C) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA)

กลุ่มที่ 5 (D) สุกรได้รับอาหารฐาน+ EOP + EF +LA

การทดลองในสุกรลูกผสมหลังหย่านม ดูรอค x (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) หย่านมอายุ 21 วัน น้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 5-6 กิโลกรัม จำนวน 50 ตัว สุ่มสุกรแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว โดยมีเพศผู้และเพศเมียในแต่ละกลุ่มจำนวนเท่าๆ เลี้ยงสุกรเป็นเวลา 42 วัน โดยผลการทดลองที่มีต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของลูกสุกรหลังหย่านม ดังแสดงใน Table 4.2 ผลต่อการย่อยและใช้ประโยชน์ได้ของอาหารทดสอบ ดังแสดงใน Table 4.3

Table 4.2 Growth performance and faecal score index of weaned pigs fed with experimental diets for 42 days and in each week.

Items	Treatments*					SEM
	control	A	B	C	D	
Number of Pigs	10	10	10	10	10	
Initial body weight, kg pig^{-1}	5.54	5.50	5.70	5.92	5.46	0.95
Final Body weight, kg pig^{-1}	13.80	12.50	13.58	13.70	12.80	1.11
Total body weight gain, kg pig^{-1}	8.26	6.67	7.86	7.78	7.34	0.20
Average daily gain (ADG), kg d^{-1}	0.20	0.16	0.19	0.19	0.17	0.03
Average daily feed intake (ADFI), kg pig^{-1}	0.38	0.32	0.35	0.36	0.32	0.08
Total feed intake (TFI), kg pig^{-1}	16.04	13.32	14.72	15.24	13.52	0.38
Feed conversion ratio (FCR)	1.94	2.00	1.84	1.89	1.88	0.25
Faecal score index**						
Shape	2.65	2.37	2.57	2.65	2.32	0.13
Color	3.05^{a}	2.98^{ab}	3.01^{ab}	3.02^{ab}	2.96^{b}	0.02
*** Diarrhea (%)	42.86^{a}	21.43^{ab}	21.43^{ab}	16.07^{b}	0.00	9.71
1st week						
ADG, g d^{-1}	50^{b}	51^{b}	90^{a}	92^{a}	91^{a}	0.01
ADFI, g pig^{-1}	131	130	132	133	132	0.02
FCR	2.62^{a}	2.55^{a}	1.47^{b}	1.45^{b}	1.45^{b}	0.14
Faecal score index**						
Shape	2.96	2.76	3.04	3.06	2.49	0.19
Color	3.04	2.96	2.94	3.11	2.96	0.07
2st week						
ADG, g d^{-1}	159	143	160	161	142	0.02
ADFI, g pig^{-1}	242	235	252	271	230	0.02
FCR	1.52	1.64	1.58	1.68	1.62	0.26
Faecal score index**						
Shape	2.72	2.60	2.56	2.37	2.42	0.22
Color	2.99	2.96	2.99	2.93	2.91	0.13
3st week						
ADG, g d^{-1}	200	260	160	175	200	0.02
ADFI, g pig^{-1}	360	310	330	345	340	0.08
FCR	1.81	1.18	2.09	1.97	1.72	0.19
Faecal score index**						
Shape	3.29^{a}	2.47^{b}	2.99^{ab}	3.03^{a}	2.50^{b}	0.17
Color	3.19^{a}	3.01^{bc}	3.14^{ab}	3.00^{bc}	2.97^{c}	0.04

สำนักหอสมุด
๘ - มิ.ค. ๒๕๕๘
1.6688822 c.2
ว SF 98 .A2 ว4295 2557

Table 4.2 (continue)

Items	Treatments*					SEM
	control	A	B	C	D	
<u>4^{st} week</u>						
ADG, g d^{-1}	221	193	184	203	201	0.02
ADFI, g pig^{-1}	392	345	362	355	360	0.03
FCR	1.77	1.79	1.97	1.75	1.79	0.13
Faecal score index**						
Shape	2.51	2.29	2.26	2.50	2.26	0.10
Color	3.06^{a}	2.99^{ab}	3.00^{ab}	3.00^{ab}	2.94^{b}	0.11
<u>5^{st} week</u>						
ADG, g d^{-1}	250	220	260	214	185	0.08
ADFI, g pig^{-1}	520^{a}	400^{c}	500^{abc}	460^{abc}	420^{bc}	0.24
FCR	2.08	1.80	1.92	2.15	2.27	0.27
Faecal score index**						
Shape	2.17^{ab}	2.04^{b}	2.29^{ab}	2.47^{a}	2.11^{b}	0.11
Color	3.00^{ab}	2.99^{a}	3.00^{ab}	3.02^{a}	2.99^{b}	0.05
<u>6^{st} week</u>						
ADG, g d^{-1}	250	220	260	215	180	0.03
ADFI, g pig^{-1}	650^{a}	500^{ab}	530^{ab}	590^{ab}	460^{ab}	0.05
FCR	2.58^{ab}	2.27^{b}	2.06^{ab}	2.74^{a}	2.56^{ab}	0.27
Faecal score index**						
Shape	2.17^{ab}	2.04^{b}	2.29^{ab}	2.47^{a}	2.11^{b}	0.10
Color	3.00^{ab}	2.99^{b}	3.00^{ab}	3.03^{a}	2.99^{b}	0.01

* Treatment: control, Basal diet A, Basal diet plus EOP

B, Basal diet plus EOP + *Enterococcus faecium* 10^{9} CFU/ml (EF)

C, Basal diet plus EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^{9} CFU/ml (LA)

D, Basal diet plus EOP + EF +LA

** index of fecal's shape and color is: shape 1= solid form and shape 5 =liquid form color 1= black and color 5= yellow

*** Diarrhea (%) = (Day of pigs had fecal shape = 4, 5 and fecal color = 4, 5 in the same day x 100)/ 42

4.2.1 ผลด้านประสิทธิภาพการผลิตของสุกร

จากผลการทดลองด้านประสิทธิภาพการผลิตของสุกรหลังหย่านมที่อายุ 21 วัน ที่เสริมในอาหารด้วยสารเสริมต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ผลการทดลองจากตารางที่ 4.2 พบว่า ประสิทธิภาพการผลิตเฉลี่ยทั้ง 6 สัปดาห์ ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราแลกน้ำหนัก ทั้งนี้เนื่องมาจาก จะเห็นความแปรปรวนของข้อมูลประสิทธิภาพการผลิตในแต่ละสัปดาห์ได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1, 5 และ 6 ที่ประสิทธิภาพการผลิตบางค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับดัชนีคะแนนมูลสุกรเฉลี่ยทางด้านรูปร่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่คะแนนสีมูลสุกร กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม EOP ร่วมกับโพรไบโอติค 2 ชนิดจะมีลักษณะสีของมูลดีกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมสารใดๆ ($P<0.05$) ผลต่อการเกิดการถ่ายเหลวจะเห็นได้ชัดว่ากลุ่มที่ เสริม EOP ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml และกลุ่มที่เสริม EOP ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml + *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml อัตราการเกิดถ่ายเหลวลดต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) โดยเฉพาะกลุ่มสุดท้าย ไม่มีสุกรที่มีการถ่ายเหลวเลยตลอดการทดลอง 42 วัน ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการเสริม *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 ในแม่สุกรก่อนคลอด ระยะให้นมและเสริมในลูกสุกร รวมทั้งเสริม อีก 6 สัปดาห์ของ Simon (2005) ที่สรุปได้ว่า ประสิทธิภาพการผลิตของแม่และลูกสุกรไม่แตกต่างกันทางสถิติ อัตราการเกิดท้องเสียลูกสุกรหลังหย่านมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับ Taras et.al., (2006) พบว่าช่วยลดอัตราการตายของลูกสุกร และอัตราการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังคลอด และลดการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านม ได้ถึง 40% นอกจากนี้ การเสริม *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 และ *Bacillus cereus* var *toyoi* ช่วยลดอัตราการเกิดท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านมอย่างมีนัยสำคัญ (Taras et.al., 2007)

ในสัปดาห์ที่ 1 หลังหย่านมใหม่ ซึ่งถือว่าเป็นช่วงวิกฤติสำหรับลูกสุกร เป็นระยะของสุกรที่ความไวต่อการสูญเสียได้การแก่ระยะหลังหย่านม อันเนื่องมาจากหลายๆ สาเหตุ ส่วนใหญ่ได้แก่เกิดจากความเครียดอันเนื่องมาจาก การถูกพรากจากแม่ การต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมใหม่ เพื่อนใหม่ การที่ต้องกินอาหารข้นแทนที่น้ำนมจากแม่ กอรปกับในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ระบบภูมิต้านทานโรคยังพัฒนาได้ไม่เต็มที่ จะเห็นได้ว่าการเสริมสารเสริม ในกลุ่ม B, C และ D ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราแลกน้ำหนักดีกว่า ($P<0.05$) กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP เพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตาม ดัชนีคะแนนมูลสุกรเฉลี่ยทางด้านรูปร่างและสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Pollmann et.al. (1980) ที่ทดลองเสริม *Lactobacillus acidophilus*ในอาหารสุกรหย่านม ที่มีแลคโตส ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด

สำหรับในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราแลกน้ำหนัก แต่ความแตกต่างที่พบ ในสัปดาห์ที่ 5 คือการกินอาหารที่ลดลง ($P<0.05$) ของสุกรกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP และปริมาณอาหารที่กินได้ของกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมสารเสริมใดๆ มีปริมาณการกินได้มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณการกินได้ดังกล่าว ไม่ส่งผล

อย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการเจริญเติบโต และอัตราแลกน้ำหนักแต่อย่างใด และการเสริมโพรไบโอติคทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มสุดท้าย ช่วยให้คะแนนมูลสุกรด้านสีและรูปร่างดีกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) รวมทั้งกลุ่มที่เสริม EOP ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* คะแนนมูลสุกรด้านสีดีกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) เช่นเดียวกัน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มอื่นๆ (P>0.05) และให้ผลเช่นเดียวกันในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ด้านคะแนนสีของมูลกลุ่มที่เสริม EOP ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* และกลุ่มที่การเสริมโพรไบโอติคทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มสุดท้าย คะแนนมูลสุกรด้านสีดีกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) แต่เมื่อถึงระยะสัปดาห์ที่ 5 และ 6 คะแนนคะแนนมูลสุกรทั้งด้านสีและรูปร่างของกลุ่มสุดท้ายที่เสริมโพรไบโอติคทั้ง 2 ชนิดดีกว่ากลุ่มที่เสริม *Lactobacillus acidophilus* เพียงอย่างเดียว และในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง การกินอาหารของสุกรลดลง ของกลุ่มที่เสริมโพรไบโอติคสองชนิดคือ *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* ร่วมกับพรีไบโอติค น้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมสารเสริมใดๆ (P<0.05) โดยกลุ่มควบคุมมีปริมาณอาหารที่กินได้มากที่สุด (P<0.05) รองลงมาคือกลุ่มที่เสริม *Lactobacillus acidophilus* ร่วมกับพรีไบโอติค น้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ แต่ค่าไมแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ทั้งอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ และอัตราแลกน้ำหนัก

Table 4.3 Average nutrient digestibility coefficient of the weaned pigs fed experimental diets

Treatment*	Nutrient digestibility coefficient					
	Dry Matter	Crude Protein	Crude Fiber	Ether Extract	Ash	Energy
control	0.954[a]	0.969	0.862[b]	0.928[b]	0.876[a]	0.956
A	0.952[b]	0.971	0.868[b]	0.943[a]	0.857[ab]	0.958
B	0.954[a]	0.968	0.856[b]	0.944[a]	0.861[ab]	0.956
C	0.955[a]	0.970	0.856[b]	0.943[a]	0.858[ab]	0.957
D	0.954[a]	0.971	0.887[a]	0.935[ab]	0.847[b]	0.957
SEM	0.001	0.001	0.004	0.003	0.005	0.001

[a, ab, b] Means within columns with different superscripts differ *(P<0.05)*

*control, Basal diet

A, Basal diet plus EOP

B, Basal diet plus EOP + *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml (EF)

C, Basal diet plus EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml (LA)

D, Basal diet plus EOP + EF +LA

4.2.2 ผลทางด้านการย่อยได้ของโภชนะของสุกร

จากผลการทดลองด้านการย่อยได้ของโภชนะ ตาราง 4.3 พบว่าการย่อยได้ของโปรตีนและพลังงานของสุกรที่ได้รับอาหารทดลองกลุ่มต่าง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับการย่อยได้ของวัตถุแห้งต่ำสุดในกลุ่มสุกรที่เสริม EOP 1% ($P<0.005$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ และการย่อยได้ของเยื่อใยสูงสุด ($P<0.05$) เมื่อสุกรได้รับสารเสริมที่ประกอบด้วย EOP 1% ร่วมกับพรีไบโอติค 2 ชนิดทั้ง *Lactobacillus acidophilus* และ *Enterococcus faecium* เช่นเดียวกับที่เคยทดลอง Hale and Newton (1979) ทดสอบการใช้ *Lactobacillus* ที่มีคุณสมบัติช่วยในการหมักได้ดี โดยยังไม่มีการคัดแยกชนิดในอาหารลูกสุกรหย่านม พบว่า ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดการเกิดท้องเสีย การย่อยได้ของเยื่อใยดีขึ้น

แต่การย่อยไขมันในกลุ่มที่ได้รับสารเสริมทุกกลุ่ม ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับสารเสริมที่ประกอบด้วย EOP 1% ร่วมกับพรีไบโอติค 2 ชนิด การย่อยได้ของไขมันดีกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมใดๆเลย แต่ในทางกลับกันกลุ่มที่ได้รับสารเสริมที่ประกอบด้วย EOP 1% ร่วมกับพรีไบโอติค 2 ชนิด กลับสามารถย่อยเถ้าได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

4.2.3 ผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย

จากการเก็บตัวอย่างจากทวารหนักสุกร โดยการสวอป (swap) ในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดสอบอาหาร หรือเมื่อสุกรอายุได้ 7 สัปดาห์ เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ เชื้อ *Salmonella spp.* และ *Escherichia coli* และ *Coliform bacteria* ผลการทดลองดังแสดงใน Table 4.4

Table 4.4 Effects of treatment diets on coliform bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in caecum of piglets on the 7^{th} week of age.

Item	Treatment*					SEM	P value
	Control	A	B	C	D		
Coliform bacteria	5.32^{b}	5.46^{b}	6.09^{a}	4.75^{c}	4.04^{d}	0.14	0.001
E.coli	3.72^{b}	3.57^{bc}	3.75^{b}	3.41^{c}	4.04^{a}	0.06	0.002
Salmonella spp.	4.92^{bc}	5.25^{b}	5.35^{b}	4.40^{c}	6.33^{a}	0.15	0.001

Bacterial number is express as $\log_{10}$ CFU/ml.

$^{a,b,c,d\ a,\ ab,\ b}$ Means within rows with different superscripts differ *($P<0.05$)*

*control, Basal diet

A, Basal diet plus EOP

B, Basal diet plus EOP + *Enterococcus faecium* 10^{9} CFU/ml (EF)

C, Basal diet plus EOP + *Lactobacillus acidophilus* 10^{9} CFU/ml (LA)

D, Basal diet plus EOP + EF +LA

จากผลการทดลอง ตารางที่ 4.4 ปริมาณ *Coliform bacteria* ในส่วนทวารหนักของลูกสุกรลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยกลุ่มที่มี *Coliform bacteria* ต่ำสุดคือกลุ่มที่เสริมโพรไบโอติคสองชนิดคือ *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* ร่วมกับพรีไบโอติค น้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ กลุ่มที่มี *Coliform bacteria* ต่ำรองลงมาคือกลุ่มที่เสริม *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml แต่กลุ่มที่เสริม *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml เพียงชนิดเดียวกลับส่งผลให้ *Coliform bacteria* สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP กลับมีผลต่อปริมาณ *Coliform bacteria* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

สำหรับปริมาณ *E.coli* ในส่วนทวารหนักของลูกสุกรลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยกลุ่มที่มี *E.coli* ต่ำสุดคือกลุ่มที่เสริม *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml แต่กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติคสองชนิดคือ *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* ร่วมกับพรีไบโอติค น้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์กลับส่งผลทำให้ปริมาณ *E.coli* สูงสุด ($P<0.002$) กลุ่มที่มี *E.coli* ต่ำรองลงมาคือกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมสารเสริมใดๆเลย แต่กลุ่มที่เสริม *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml เพียงชนิดเดียว และกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP พบปริมาณ *E.coli* ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ซึ่งให้ผลแตกต่างจาก Pollman et.al. (2005) ที่พบว่า *E. faecium* สามารถลดอัตราการติดเชื้อของสุกรถึงระดับภายในเซลล์ และการเสริมในแม่และลูกสุกร ยังไม่เห็นผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน แต่ช่วยลดจุลินทรีย์ก่อโรค *E.coli* (Scharek et.al., 2005) ทั้งนี้อาจเนื่องจากตำแหน่งของการเก็บตัวอย่างและสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงที่แตกต่างกัน

สำหรับปริมาณ *Salmonella spp.* ในส่วนทวารหนักของลูกสุกรลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยกลุ่มที่มี *Salmonella spp.* ต่ำสุดคือกลุ่มที่เสริม *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml แต่กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติคสองชนิดคือ *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* ร่วมกับพรีไบโอติค น้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์กลับส่งผลทำให้ปริมาณ *Salmonella spp.* สูงสุด ($P<0.001$) กลุ่มที่มี *Salmonella spp.* ต่ำรองลงมาคือกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมสารเสริมใดๆเลย แต่กลุ่มที่เสริม *Enterococcus faecium* 10^9 CFU/ml เพียงชนิดเดียว และกลุ่มที่เสริมเฉพาะ EOP พบปริมาณ *Salmonella spp.* ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลอง ตารางที่ 4.4 ในภาพรวมของผลของสารเสริมที่ใช้ ต่อปริมาณเชื้อที่เก็บได้จากทวารหนักลูกสุกร คือ *Coliform bacteria, E.coli* และ *Salmonella spp.* ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่มที่อาจเป็นสาเหตุก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสุกร ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย พบว่าสารเสริมในกลุ่มที่ C คือ น้ำมันหอมระเหยผสม+กรดอินทรีย์ผสม+พรีไบโอติคจากแป้งกล้วย ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml ส่งผลช่วยลดปริมาณเชื้อดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญ

บทที่ 5
สรุป และข้อเสนอแนะ

สรุป

ส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย (E) ที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู น้ำมันสะระแหน่ และน้ำมัน ผิวส้ม อย่างละ 0.06% และส่วนผสมของกรดอินทรีย์ (O) ที่ประกอบด้วย กรดฟิวมาลิค กรดแลคติค และกรดซิตริค อย่างละ 0.11% เมื่อผสมกับพรีไบโอติค (P) ที่ผลิตจากกล้วยดิบ ในอัตราส่วน EO:P คือ1:1 ในระดับการใช้เสริม EOP ในอาหาร 1% มีศักยภาพในการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสุกรหลังหย่านม โดยเสริมร่วมกับโพรไบโอติค สรุปได้ว่า สารเสริมในลูกสุกรหลังหย่านมที่เหมาะสม ควรประกอบด้วย EOP 1% และ *Lactobacillus acidophilus* 10^9 CFU/ml โดยระยะเวลาที่เสริมคือสัปดาห์แรกหลังหย่านม

ข้อเสนอแนะ

1) ควรมีการศึกษาทดลองในระดับฟาร์ม ที่มีการเลี้ยงสุกรแบบขังรวม จะสามารถยืนยันผลให้ชัดเจนขึ้น
2) ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ชนิดของโพรไบโอติคอื่นๆ ที่อาจมีผลร่วมในเชิงบวก เช่น *Bacillus spp.* หรือYeast

เอกสารอ้างอิง

กรรณิกา เล็กประเสริฐ กุลสุดา ชมวิศรุต สุรภี ทองหลอม และ วันดี ทาตระกูล. 2546. ผลของการเสริมกรดซิตริคและฟิวมาริค ต่อการย่อยได้ของโภชนะและสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรหย่านม. ประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตว์แพทย์ ครั้งที่ 4. บทบาทและทิศทางปศุสัตว์ไทยกับการเป็นครัวของโลก, 18-19 ธันวาคม 2546, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ น. 330-339.

เกษมสุข สุขเกษม วันดี ทาตระกูล สุรภี ทองหลอม และนุชา สิมะสาธิตกุล. 2546. การใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศแหล่งต่างๆ เป็นสารเสริมในอาหารสุกรหย่านม. วารสารเกษตร ฉบับพิเศษ (2)) สัมมนาวิชาการครั้งที่ 1 "เกษตรก้าวไกล วิจัยเพื่อชุมชน": 99-108.

โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง. 2529. ยาจากพฤกษ์พืชสุมนไพรที่น่ารู้จัก. จุลสารอันดับที่ 10. 80 น.

เยาวพา บุญปู่. 2550. Animal Probiotic. http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/probiotic.html

ณครินทร์ รอดพุฒ. 2545. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรว่านน้ำ และกานพลูในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. 2538. ผักพื้นบ้าน : ความหมายและภูมิปัญญาของสามัญชนไทย. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพมหานคร. 261 น.

สนั่น ศุภธีรสกุล.2540. สมุนไพรจากผลิตภัณฑ์ของพืช. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 152 น.

สมพร หิรัญรามเดช. 2536. ตำราการตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร เล่ม 5 ว่าด้วยการตรวจเอกลักษณ์ของพืชสมุนไพร. กรุงสยามการพิมพ์ ; กรุงเทพมหานคร. 312 น.

สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. พืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 317 น.

นิจศิริ เรืองรังษี และพยอม ตันติวัฒน์. 2534. พืชสมุนไพร. โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส ์, กรุงเทพมหานคร, 243 น.

วันดี ทาตระกูล จารุวรรณ อ่านพานิชย์ และขวัญชาติ อุดมศรี. 2546. การใช้น้ำมันกานพลูเสริมในอาหารสุกรหย่านม. ประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตว์แพทย์ ครั้งที่ 4. บทบาทและทิศทางปศุสัตว์ไทยกับการเป็นครัวของโลก, 18-19 ธันวาคม 2546, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ น. 341-349.

วรนาฎ คงตระกูล. 2544. ประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของสารจากกานพลูและสารภีต่อแมลงวันบ้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 62 น.

สมชาย สังข์ศรี. 2529. การเตรียมเมทิลยูจินอล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาการสอนเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 49 น.

Abe, F. Ishibashi, N., Shimamura, S. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newnorn calves and piglets. J. Dairy Sci., 78: 2838-2846.

Angelis, M.D., S.Siragusa, M. Berloco, L. Caputo, L. Settanni, G. Alfonsi, M. Amerio, A. Grandi, A. Ragni and M. Gobbetti. Selection of potential probiotic lactobacilli from pig feces to be used as additives in pelleted feeding. Research in Microbiology 157: 792-801.

Arora, D.S., and J. Kaur. 1999. Antimicribial activity of spices. Int. J. of Antimicrobial Agent 12 : 257-262.

Bauer, K., D. Gaebe and H. Surburg. 2001. Common fragrance and flavor materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley-VCH, Weinheim, p. 293.

Bernet, M.F., D. Brassart, J.R. Neesar and A.L.Servin. 1993. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epiterial cells and inhibition of enteropathogen-cell interaction. Applied Environmental Microbiology 59:4121-4128.

Buddington, R.K. 2001. The use of nondigestible oligosaccharides to manage the gastrointestinal ecosystem. Pp: 133-147. In A.Piva, K.E.B. Knudsen, and J.E. Lindberg (Eds). Gut Environment of Pigs. Nottingham University Press, UK.

Burnell, T.W., G.L. Cromwell and T.S. Stahly. 1988. Effect of dried whey and copper sulfate on the growth response to organic acid in diets for weaning pigs. J. Anim. Sci. 66 : 110-1108.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. In. J. of Food Microbiology 94: 223-253.

Caccioni, D. R.L., M. Guizzardi, D.M.Biondi, A. Renda and G. Ruberto. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on Penicillium digitatum and Pennicillium italicum. Int. J. of Food Micro. Biol. 43:73-79.

Casey, P.G., G.E. Gardiner, G. Casey, B. Bradshaw, P.G. Lawlor, P.B. Lynch, F.C. Leonard, C. Stanton, R.P. Ross, G.F. Fitzgerald and C. Hill. 2007. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding with *Samonella enterica* serova Typhimurium. Appl. And Env. Microbiol, Mar.2007, p. 1858-1863.

Conway, P.L. 1996. Development of microbiota. Gastrointestinal microbes and host interactions. *In* Gastrointestinal Microbiology Vol 2 Gastrointestinal microbes and host interactions, pp 3-39, R.I. Macki, B.A. Whyte, R.E. Isaacson (Eds). Chapman & Hall, London.

Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris and M. Jones. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions. Journal of Microbiological Methods 56: 27– 35

Chiang, B.H., W.Chu and C.L.Chu. 1987. A pilot scale study for banana starch production. Starch-Staeker.39: 5-8.

Cosentino, S., C.I.G.Tuberoso, B. Pisano, M. Satta, V. Mascia, E. Arzedi and F. Palmas. 1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology. 88: 170-175.

Curry, B. and V. Crow. 2003. *Lactobacillus* spp. General characteristics. Encyclopedia of dairy sciences, 3: 1479-1484.

da Mota, R.V., F.M. Lajolo, B.R. Coedenunsi and C. Ciacco. 2000. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. Strach-Straerke. 52(2-3): 63-68.

Danielson, A.D., E.R. Peo, Jr., K.M. Shahani, A.J. Lewis, P.J. Whalen and M.A. Amer. 1989. Anticholesteremic property of *Lactobacillus acidophilus* yogurt fed to mature boars. J. Anim. Sci. 67: 966-974.

Denli, M., F. Okan and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. Pakistan J. Nutr. 2: 89-91.

Edmonds, M.S., O.A. Izquierdo and D.H. Baker. 1985. Feed additive with newly weaned pigs: efficiency of supplemental copper, antibiotics and organic acids. J. Anim.Sci.60: 462-467.

Englyst, H.N. and J.H.Cumming. 1986. Digestion of carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. American Journal of Clinical Nutrition. 44:121-128.

Eerlingen, R.C. and J.A. Delcour, 1995. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. J. Cereal Sc. 22: 129-137.

Englyst, H.N., S.M. Kingman and J.H.Cumming. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur. J.Clin.Nutr. 46 suppl.2 (S33-S50).

Estienne, M.J., T.G. Harsock and A.F. Harper. 2005. Effects of antibiotics and probiotics on suckling pig and weaned pig performance. Intern. J. Appl. Res. Vet.Med. 3 (4): 303-308.

Faisant, N., A. Buleon, P. Colonna, C. Moris, C. Lartigue, J.P. Galmiche and M. C. Champ. 1995a. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resident starch. British J. of Nutrition. 73:111-113.

Faisant, N.,D.J. Gallant, B. Bouchet and M. Champ. 1995b. Banana starch breakdown in the human small intestine study by electron microscopy. European J. of Clinical Nutrition. 49:98-104.

Falkwoski, J.F. and F.X. Aherne. 1984. Fumariacid and citric acid as feed additive in starter pig nutrition. J. Anim.Sci.58: 935-938.

Fenten, J.P., K.L. Roehing, D.C. Mahan and J.R. Corley. 1985. Effect of swine weanling age on body fat and lipogenic activity in the liver and adipose tissue. J. Anim. Sci., 70 (supl 1): 428.

Fichtali, J., Y.J. Owusu-Ansha and P. Chang. 1999. Manufacture of starch from green, unpeeled bananas. US Patent 5855688 *cited by* P.Zhang, R.L. Whistler, J.N. BeMiller and B.R. Hamaker. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. Carbohydrate Polymers. 59: 443-458.

Fuller, R. 2007. History and development of probiotics. http://www.albertaclassic.net/probitics.php

Galdonado, C.M. and G. Perdigon .2006. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. Clinical and Vaccine Immunology, 13: 219-226.

Gardiner, G.E., P.G. Casey, G. Casey, P.B. Lync, P.G. Lawlor, C.Hill, G.F. Fitzgerald, C. Stanton and R.P.Ross. 2004. Relative ability of orally administered *Lactobacillus murinus* to predominate and persist in the porcine gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 70: 1895-1906.

Gibson, G.R. and E.R. Beatty, X. Wang and J.H. Cumming.1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gartroenterogy.108:975-982

Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora : introducing the concept of prebiotic. J. Nutr. 125: 1401-1412.

Gibson, G.R. and R. Fuller. 2000. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. J. of Nutrition, 130 (2S Supl.): 391S-395S.

Giesting, W.M. and R.A. Easter. 1985. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. J. Anim.Sci.60: 1288-1294.

Guerra, N.P. and L. Pastrana .2003. Enhancement of finishing production by *Lactococcus lactis* in periodically re-alkalized cultures. Biotechnol. Appl. Biochem. 38: 157-167.

Guerra, N.P., A. Torrado, C. Lopez and L. Pastrana .2005. Modelling the fed-batch production of pediocin using mussel-processing waste. Proc. Biochem. 40: 1071-1083.

Guerra, N.P., P.F.Bernardez, J.P. Cachaldora and L.P.Castro. 2007. Production of four potentially lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets. Anim. Feed Sci. and Technol. 134: 89 -107.

Gowda, N.K.W., V. Malathi and R.U. Suganthi. 2004. Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. Anim. Feed Sci. and Technol. 116: 281-291.

Hale, O.M. and G.L. Newton. 1979. Effects of a nonviable *Lactobacillus* species fermentation product on performance of pigs. J. Anim. Sci. 48: 770-775.

Hogarth, A.J. C.L., D.E. Hunter, W.A. Jacobs, K.A. Garleb and B.W. Wolf. 2000. Ion chromatographic determination of three fructooligosaccharide oligomers in prepared and preserved food. J. of Agricultural and Food Chemistry. 48: 5326-5330.

Jin, L.Z., R.R. Marquardt, X. Zhao. 2000. A strain of *Enterococcus faecium* (18C23) inhibits adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli K88 to porcine small intestine mucus. Applied and Envronmental Microbiology, 66 (10): 4200-4204.

Jonsson, E., and P.Conway. 1992. Probiotics for pigs. Pp 260-316. In R. Fuller (Ed). Probiotics, the scientific basis. Chapman & Hall, London.

Kelly, D., R. Begbie and T.P. King. 1994. Nutritional influences on interactions between bacteria and small intestinal mucosa. Nutrition Reseanrch Reviews, 7: 233-257.

Kim, E.Y., Y.H. Kim, M.H. Rhee, J.C. Song, K.W. Lee, K.S. Kim, S.P. Lee, I.S. Lee and S.C. Park. 2007. Selection of *Lactobacillus* sp. PSC101 that produces active dietary enzymes such as amylase, lipase, phytase and protease in pigs. J. of General and Appl. Microbiol. 53: 111-117.

Kirchgessner, M. and F.X. Roth. 1988. Effekte durch organische sseren in der ferkelaufzucht und schweinemast. Ubersicht Tierernaehrung, 16: 93-108.

Klein, G.A.R., A.L.Sutton, B.A. Williams, J.A. Patterson, B.T.Richert, D.T.Kelly and M.W.A. Verstegen. 2001. Effect of oligosaccharides in weanling pig diets on performance, microflora and intestinal health. pp: 269-271.*In* J.E. Linberg and B. Ogle (Eds). Digestive physiology of pigs, Proceeding of the 8th Symposium, CABI publishing, UK.

Knarreborg, A., N. Miquel, T. Granli and B.B. Jensen. 2002. Establishment and application of an *in vitro* methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of gastro intestinal tract of piglets. Anim. Feed Sci. and Technol. 99: 131-140.

Krause, D.O., R.A. Easter, B. A. White, R.I. Mackickie. 1995. Effect of weaning diet on the ecology of adherent lactobacilli in the gastrointestinal tract of the pig. J. Anim. Sci. 73: 2347-2354.

Kritas, S.K. and R.B. Morrison. 2007. Effect of orally administered *Lactobacillus casei* on porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus vaccination in pigs. Vet. Microbiol. 119: 248-255.

Kurti, P. and C. Hansen. 2007. Microbial balance and optimal digestion in pigs. http://www.thepigsite.com/article/3/feed-nutrition-and-water/1603/microbial-balance-and-optimal-digestion-in-pigs. 5 p.

Lee, K.G., and T. Shibamoto, 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds (*Syzygium aromaticum* (L) Merr.et Perry). Food Chemistry, 39(12): 443-448.

Lehmann, U., G. Jacobasch and D. Schmiedl. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*musa acminata*). J. Agri. Food Chem. 50:5236-5240.

L'homme, C., A. Puigserver and A. Biagini. 2003. Effect of food-processing on the degradation of Fructooligosaccharides in fruit. Food Chemistry 82: 533-537.

Letelier, A., S. Messier, L. Lessard and S. Quessy. 2000. Assessment of various treatments to reduce carriage of Salmonella in swine. Can. J. Vet. Res. 64: 27-31.

Mathew, A.G., M.A. Franklin, W.G. Upchurch and S.E. Chattin. 1996. Influence of weaning age on ileal microfloa and fermentation acids in young pigs. Nutr. Research 16 (5): 817-827.

Matsuzaki, P. 1998. Immuno modulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain *shirota*. International J. of Food Microbiology, 41, 133-140.

Maxwell, F.J., S.H. Duncan, G. Hold and C.S. Stewart. 2003. Isolation, growth on prebiotic and prebiotic potential of novel bifidobacteria from pigs. Doi:10.1016/J. anaerobe 2003.11.005, 11p.

Metchnikoff, E. 1907. The Prolongation of life. London: Heinemann.

Mikkelsen, L.L. and B.B. Jensen. 2004. Effect of fructo-oligosaccharides and trans-galacto-oligosaccharides on microbial populations and microbial activity in the gastrointestinal tract of piglets post-weaning. Anim. Feed Sci. and Technol. 117: 107-119.

Moreira, M.R., A.G. Ponce, C.E. del Valle and S.I. Roura. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT 38: 565-570.

Mosenthin, R. and B. Zimmermann. 2000. Probiotics and prebioics in pig nutrition-alternatives for antibiotics? *In* Selected Topics in Animal Nutrition, Biochemistry and Physiology. H.Sauer and W.J. HE (eds), Winnipeg, Canada. Pp: 29-50.

Moutzouris, K.C., I. Xypoleas, I., Kouser and K.Fegeros. 2006. Nutrient digestibility, faecal physiochemical characteristics and bacterial glycolytic activity of growing pigs fed a diet supplemented with oligofructose *or trans*-galactooligosaccharides. Livestock Science. 105: 168-175.

Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C.I. and Martínez-Bustos, F. 2009. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. J. Food Eng. 91: 380-386.

Naidu, A.S. and R.A. Clemens. 2000. Probiotics. Pp 431-462. *In* Natural food antimicrobial systems, A.S. Naidu (ed). CRC Press LLC, 2000 N.W. Corporate Blvd., Boca Ration, Florida, USA.

Partanen, K. 2001. Organic acids-their efficacy and modes of action in pigs. pp: 201-218. *In* A. Pive, K.E.B. Knudsen and J.E. Lindberg (Eds). Gut Environment of Pigs. Nottingham University Press, UK. 260 p.

Pascual, M., Hugas, M., Babiola, J.J., Monfort, J.M. and M. Garriga, 1999. *Lactobacillus salivacius* CTC197 prevents *Samonella enteritidis* colonization in chickens. Appl.Environ.Microbiol.65: 4981-4986.

Pollmann, D.S., D.M. Danielson and E.R. Peo, Jr. 1980. Effect of *Lactobacillus acidophilus* on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. J. Anim. Sci. 53: 638-644.

Pollmann, M., M. Nordhoff, A. Pospischil, K. Tedin and L.H. Wieler. 2005. Effect of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on the rate of natural Chlamydia infection in swine. Infection and Imunity, July 2005: 4346-4353.

Radecki, S.V., M.R. Juhl and E.R. Miller. 1988. Fumaric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. J. Anim.Sci.66: 2598-2605.

Ravindran, V. and E. T. Kornegay. 1993. Acidification of weaner pig diets : A review. J. Sci.

Food Agric., 62 : 313-322.

Rolfe, R.D. 1996. Colonisation resistance. pp 501-536. R.I. Mackie, B.A. Whyte and R.E. Issacson (Eds). In Gastrointestinal Microbiology Vol.2 , Chapman & Hall, London.

Roth, F.X. and M. Kirchgessner. 1995. Zum einsatz von ameisensauren in der tierernaehrung. Ludwigshafen, Geramny: BASF AG,: 5-20.

Russo, M., G.C. Galletti, P. Bocchini and A. Carnacini. 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. Hirtum (Link) Ietswaart: a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis: 1. Inflorescences. J. of Agricultural and food chemistry. 46: 3741-3746

Sajilata, M.G., R.S. Singhal and P.R. Kulkarni.2006. Resistant starch -A review. Comprehensive Reviews in Food and Food Safety.5: 1-17.

SCAN.2000. Report on how to assess the efficacy of probiotics: February, 18.

Scharek, L., J. Guth, K. Reiter, K.D. Weyrauch, D. Taras, P. Schwerk, P. Schierack, M.F.G. Schmidt, L.H. Wieler and K. Tedin. 2005. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. Vet. Immunol. and Immunopathol.. 105: 151-161.

Scharek, L., B.J. Altherr, C. Toelke and M.F.G. Schmidt. 2007. Influence of the probiotic *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the intestinal immunity of piglets. Vet. Veterinary Immunology and Immunopathology 120: 136–147.

Schmiedl, D., M. Baeurlein, H. Bengs and G. Jacobasch. 2000. Production of heat-stable, butyrogenic resistant starch. CARBOHDR. Polym.43: 183-193.

Scipioni, R., G. Zagini, and A Biavati. 1978. Acidified diets in early weaning piglets. Zootecnica e Nutitizione Animale 4, 210-218.

Senatore, F. 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of essential oil of thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). J. of Agricultural and food chemistry. 44: 1327-1332.

Shah, N.P. 2007. Review: Functional cultures and health benefits. Int. Dairy J. 17: 1262-1277.

Simon, O. 2005. Micro-Organisms as feed additives-Probiotics. Advances in pork production. Vol. 16, pg 161, 5p.

Sghir, A., J.M. Chow, and R.I. Mackie. 1998. Continuous culture selection of bifidobacteria and lactobacilli from human faecal samples using fructooligosaccharides as selective substrate. J.of Applied Microbiology. 85; 769-777.

Short , F.J., Gorton , P., Wiseman , J., Boorman K.N. (1996). Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. Animal Feed Science Technology 59, (2) 15-221

Steuer, B., H. Schulz and E. Laeger. 2001. Classification and analysis of citrus oils by NIR spectroscopy. Food Chemistry 72: 113-117.

Stewart, C., K. Hillman, F. Maxwell, D. Kelly, T.P. King. 1993. Recent advances in probiotics in pigs: observations on the microbiology of the pig gut. *In* Recent Advances in Animal Nutrition-1993, pp: 197-219, P.C. Garnsworthy and D.J.A. Cole, Nottingham University Press, Nothingham.

Strompfova, V., M. Marcinakova, M. Simonnova, S. Gancarcikova, Z. Jonecova, L. Scirankova, J. Koscova, V. Buleca, K. Cobanova and A. Laukova. 2006. Entercoccus faecium EK13-an enterocin A-producing strain with probiotic character and its effect in piglets. Anaeroboe, 12: 242-248.

Strompfova, V. and A. Laukova. 2007. In vitro study on bacteriocin production of Enterococci associated with chicken. Anarobe (2007), doi: 10.1016/J.anaerobe.2007.07.002.

Sutton, A.L., A.G. Mathew, A.B. Scheidt, J.A. Patterson and D.T. Kelly. 1991. Effect of carbohydrate sources and organic acids on intestinal microflora and performance of the weanling pig. In: Verstegen, M.W.A. Huisman, J., den Hartog, L.A. (Eds), Proceeding the 5th international Symposium on Digestive Physiology in the Pigs, Wagenegen, The Netherlands, pp. 422-427.

Tannock, G.W. 1991. The microecology of lacctobacilli inhibiting the gastrointestinal tract. In K.C. Marshall (Ed). Advances in microbial ecology, Vol. 11, p. 147, Pederson Press, New York.

Taras, D., W. Vahjen, M. Macha and O. Simon. 2006. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of Escherichia coli virulence genes during long-term administratio of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. J. Anim. Sci. 84: 608-617.

Taras, D., W. Vahjen and O. Simon. 2007. Probiotics in pigs-modulation of their intestinal distribution and of their impact on health and performance. Livestock Science, 108: 229-231.

Tartrakoon, W., K. Sukkasem, U. ter Meulen and T. Vearasilp. 2003. Use of essential oil extracted from citronella, cloves and peppermint as supplement in weaner pig diets. Proceeding of Deutscher Tropentag 2003, Technological and Institutional Innovation for Sustainable Rural Development, October 8-10, Goettingen, Germany. P 169.

Tartrakoon, W., Sangdeun Juipetch and Surapee Thonglom. 2004. Use of citric and clove oil supplement in weanling pig diets. Proceeding Deutscher Tropentag 2004 : Rural Poverty Reduction through Research for Develop

Tortuero, F., J. Rioperez, E. Fernandez and M.L. Rodriguez. 1995. Response of piglets to oral administration of lactic acid bacteria. J. Fd. Prot. 58: 1369-1374.

Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T. and S. Thubthimthed. 2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medical plants. Fitoterapia. 76: 233-236.

\Weiss, E.A. 1997. Essential oil crops. CAB International, UK.

Whisttler, R.L. 1998. Banana starch production. US Patent 5797985, 2p. *cited by* P.Zhang, R.L. Whistler, J.N. BeMiller, and B.R. Hamaker. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. Carbohydrate Polymers. 59: 443-458.

Zhang, P., J.L. Wampler, A.K. Bhunia, K.M. Burkholder and J.A. Patterson. 2004. Effects of arabinoxylans on activayion of murine macrophages and growth performances of broiler chicks. Cereal Chimistry. 81: 511-514.

http://www.agmassmedia.com/Charcoal/Charcoal_03.htm

http:/www.phuketjettuor.com/herbs/banana.htm

http://www.doae.go.th/data/fruit/7.pdf

ภาคผนวก

1. การคำนวณการใช้สารเสริมชนิดต่างๆ

EOP มาจาก E = Essential oil mixture

O = Organic acid mixture

P = Prebiotic

1. E มาจากน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ในปริมาณ 1.8 g/kg อาหาร ประกอบด้วย
   1) น้ำมันกานพลู (Clove Oil) 0.06 g/kg อาหาร
   2) น้ำมันผิวส้ม (Orange Peel Oil) 0.06 g/kg อาหาร
   3) น้ำมันสะระแหน่ (Pepermint Oil) 0.06 g/kg อาหาร
2. O มาจากกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ในปริมาณ 3.3 g/kg อาหาร ประกอบด้วย
   1) กรดฟิวมาริค (Fumaric acid) 1.1 g/kg อาหาร
   2) กรดซิตริค (Citric acid) 1.1 g/kg อาหาร
   3) กรดแลคติค (Lactic acid) 1.1 g/kg อาหาร
3. P มาจากพรีไบโอติคที่ผลิตจากกล้วยดิบ ปริมาณการใช้ 5 g/kg อาหาร

ปริมาณการเสริม E+O:P = 1:1 ระดับที่เสริม 1% หรือ 10 g/kg อาหาร

ฉะนั้นจะมีปริมาณ E+O = 5 g; P = 5 g หรือ ให้ E+O = 1.8+3.3 = 5.1 g โดยอนุโลม

2. **การเตรียมพรีไบโอติคจากกล้วยดิบ (วันดีและคณะ, 2553)**

1) เตรียม starch จากกล้วยน้ำว้า ด้วยวิธีโม่เปียก (Wet milling)

ปอกเปลือกกล้วยและหั่นกล้วยดิบเป็นลูกเต๋าขนาด 1×1 cm

⇓

แช่ในสารละลายเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.7 % (W/V) เป็นเวลา 1 นาที

⇓

นำไปปั่นให้ละเอียดเป็นเวลา 2 นาทีในอัตราส่วน กล้วย:น้ำ คือ 1:2

⇓

กรองด้วย sieve ขนาด 50 mesh 1 ครั้ง

⇓

กรองด้วย sieve ขนาด 100 mesh 1 ครั้ง

⇓

นำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C ที่ 20,000 g เป็นเวลา 15 นาที

⇓

นำตะกอนแป้งที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 40 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

⇓

นำแป้งที่ได้บดเป็นผงและกรองผ่าน sieve ขนาด 100 mesh และนำไปชั่งน้ำหนัก

ภาพภาคผนวกที่ 1 แผนภาพแสดงการเตรียมสตาร์ชกล้วยน้ำว้า

2) การเตรียมพรีไบโอติกจากสตาร์ชกล้วย

หลังจากได้สตาร์ชกล้วยน้ำว้า ทำการ pregelatinize โดยเรียมตัวอย่างสารละลายแป้งกล้วย 5% (w/v) ในน้ำปราศจากไอออน (Deionize Water) จากนั้นนำมาต้มในน้ำเดือดจนน้ำแป้งใสขึ้น แล้วจึงใส่เอนไซม์เทอมามิล (Termamyl 120L) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างมาทำการ gelatinize ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมกับเขย่าอย่างสม่ำเสมอ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากตัวอย่างเย็น นำมาอบให้แห้งที่ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างจะแห้ง จากนั้นทำการบดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ต่อไป

สตาร์ชจากกล้วยน้ำว้า

⇓

pregelatinize
ชั่งตัวอย่างแป้งกล้วยอย่างละ 5% (5 กรัม)
ในน้ำปราศจากไอออน (Deionize Water) 100 มิลลิลิตร

⇓

ต้มในน้ำเดือดจนใส

⇓

ใส่ Termamyl 120L ปริมาณ 10 ไมโครลิตร

⇓

ทำการ gelatinize ใน Water Bath
ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมกับเขย่า

⇓

ทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการ Autoclave
ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

⇓

อบแห้งที่ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven)
อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

⇓

บดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh

⇓

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ (%Oligosaccharide) ต่อไป

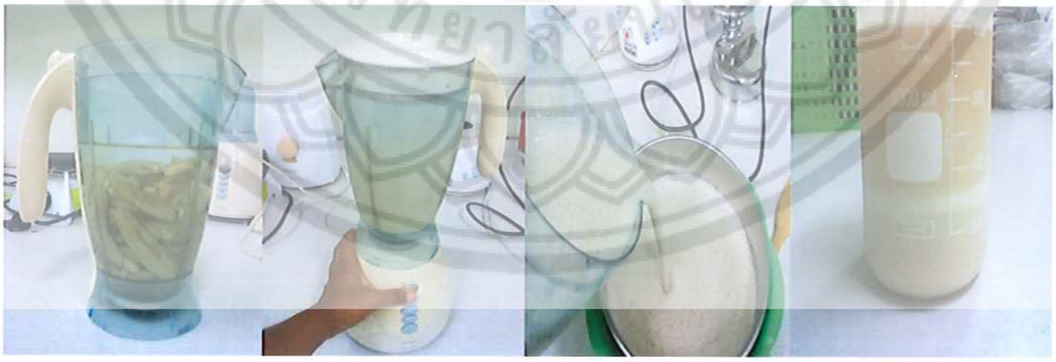
ภาพภาคผนวกที่ 2 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมพรีไบโอติกจากสตาร์ชจากกล้วยน้ำว้า

<u>ขั้นตอนการทำแป้งกล้วย</u>

1. ปลอกเปลือกกล้วยน้ำว้า หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟล์ 0.7% นาน 1 นาที

ภาพภาคผนวกที่ 3 การเตรียมกล้วยน้ำว้าเพื่อผลิตพรีไบโอติค

2. ปั่นกล้วยในอัตราส่วน กล้วย:น้ำ 1:2 นาน 2 นาที กรองด้วย mash ขนาด 150 จำนวน 1 ครั้ง กรองซ้ำด้วย mash ขนาด 100 อีก 1 ครั้ง รอให้แป้งตกตะกอน



ภาพภาคผนวกที่ 4 การปั่นกล้วยให้ละเอียดและการกรองแป้ง

3. นำแป้งที่ตกตะกอนไปอบที่ 50 องศา นาน 12 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะแห้ง เมื่ออบเสร็จแล้วนำมาบดร่อนด้วย mash ขนาด 150 จะได้แป้งที่มีเนื้อละเอียด

ภาพภาคผนวกที่ 5 ลักษณะแป้งกล้วย

<u>ขั้นตอนการทำพรีไบโอติคจากแป้งกล้วย</u>

4. นำแป้งกล้วยมาตัดเอนไซม์ a-Amylase โดยทำในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 85 องศา เขย่าตลอดเวลาจนน้ำแป้งเป็นสีน้ำตาล นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศา นาน 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะแห้ง

ภาพภาคผนวกที่ 6 ภาพการเตรียมพรีไบโอติค

5. เมื่อแห้งแล้วนำมาบดละเอียด ร่อนด้วย mash ขนาด 150 จะได้พรีไบโอติคที่ผลิตจากแป้งกล้วย

ภาพภาคผนวกที่ 7 พรีไบโอติคจากแป้งกล้วย

การหาค่า standard curve จุลินทรีย์โพรไบโอติค ได้แก่ *E. faecium* และ *L. acidophilus* ที่ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml

1. นำเชื้อจุลินทรีย์มาเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา นาน 48 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อ

ภาพภาคผนวกที่ 8 การเตรียมโคโลนีเชื้อโพรไบโอติค

2. นำโคโลนีเดี่ยว มาใส่ใน MRS broth 5 ml. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศา นาน 24 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อ

ภาพภาคผนวกที่ 9 การนำโคโลนีเดี่ยว มาใส่ใน MRS broth และบ่มเชื้อ

3. นำเชื้อที่บ่มมา centrifugation 5000 รอบ 10 นาที ล้าง เซลล์จุลินทรีย์ด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ

ภาพภาคผนวกที่ 10 การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อแยกเชื้อ

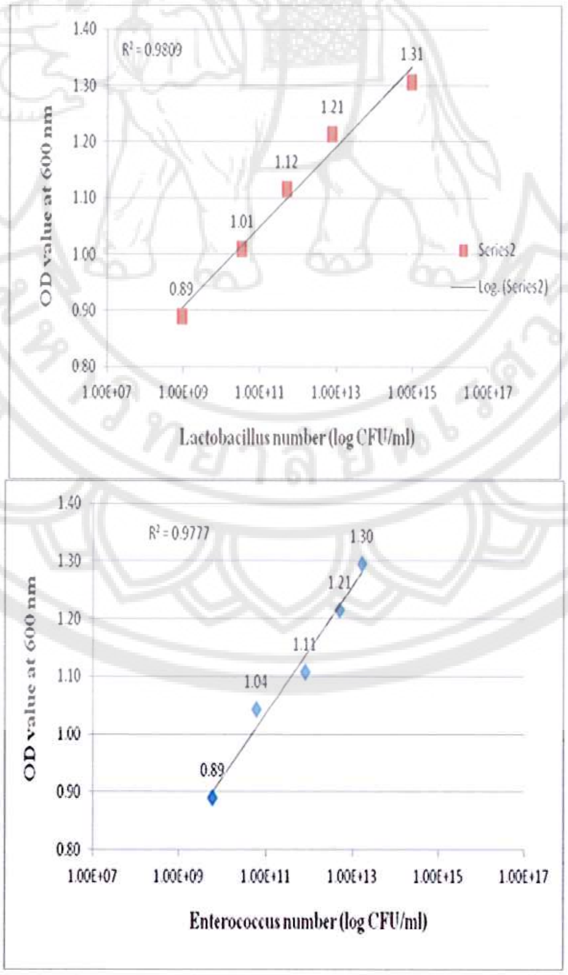
4. นำเซลล์จุลินทรีย์มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และนำมาวัดค่า OD 600 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ค่า 0.9, 1.0, 1.1, 1.2 และ 1.3

ภาพภาคผนวกที่ 11 วัดค่า OD 600 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer

5. นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการวัดค่า OD มาเลี้ยงเชื้อด้วย MRS agar เพื่อหา standard curve ของเชื้อจุลินทรีย์

ภาพภาคผนวกที่ 12 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการวัดค่า OD มาเลี้ยงเชื้อด้วย MRS agar เพื่อหา standard curve ของเชื้อจุลินทรีย์

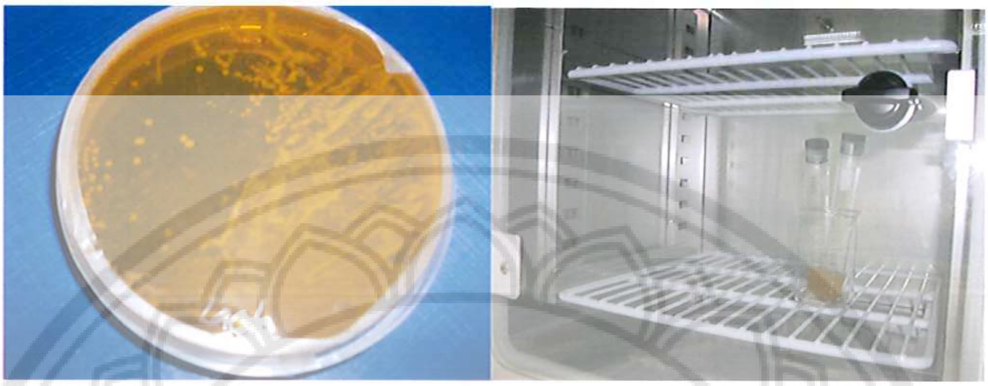
6. ค่ากราฟมาตรฐาน (standard curve) จุลินทรีย์ *E. faecium และ L. acidophilus* ที่ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml



ภาพภาคผนวกที่ 13 กราฟมาตรฐานของจุลินทรีย์ *E. faecium* *และ L. acidophilus*

การตรึงเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชั่น

1. การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติค และการตรึงเซลล์ (Chandramouli et al., 2004) เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ เชื้อจากอาหาร MRS agar 1 ลูป ลงในอาหาร MRS broth ปริมาตร 5 ml. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

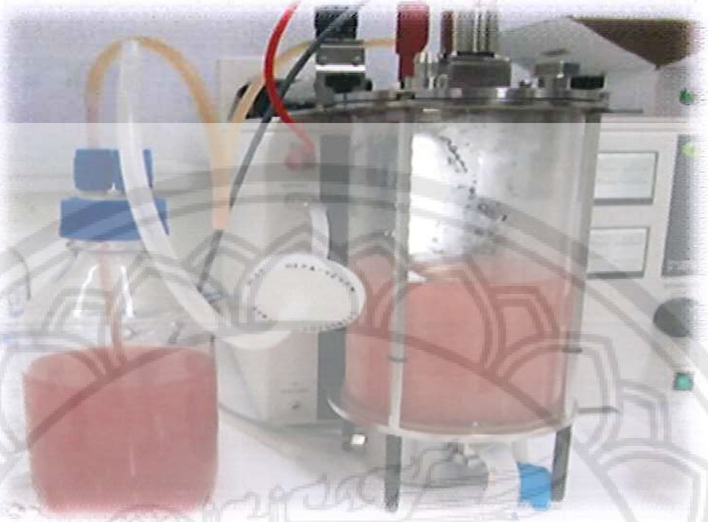


ภาพภาคผนวกที่ 14 การเตรียมเชื้อโพรไบโอติคเพื่อตรึงเซลล์

2. นำมาปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วย phosphate buffer saline (pH 7.4) และเติม Sodium chloride 0.85% เพื่อทำเป็นสารแขวนลอย

ภาพภาคผนวกที่ 15 การล้างเซลล์เชื้อโพรไบโอติค

3. ทำการตรึงเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติก ด้วยเครื่อง Encapsulator B-395 Pro ระบบ **Pressure Bottle** ใช้เทคนิค Encapsulation ตามวิธีการของ Chandramouli et al. (2004) ใช้โซเดียมอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์นำเซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์ มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



ภาพภาคผนวกที่ 16 การห่อหุ้มเซลล์ด้วยเครื่อ micro-encapsulator

การห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหย

การห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหย ได้แก่น้ำมันกานพลู น้ำมันผิวส้ม และน้ำมันสะระแหน่ด้วยเครื่อง Encapsulator B-395 Pro ระบบ **Pressure Bottle** ใช้เทคนิค Encapsulation ตามวิธีการของ Chandramouli et al. (2004) ใช้โซเดียมอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ภาพภาคผนวกที่ 17 การห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง micro-encapsulator

การวิเคราะห์ตัวอย่างมูลและตัวอย่างอาหาร

การวิเคราะห์ตัวอย่างมูลและตัวอย่างอาหาร เพื่อทดสอบการย่อยได้ของสุกรตามวิธีของ Short et al. (1996)

1. นำตัวอย่างมูล อบที่อุณหภูมิ 75 องศา ด้วยตูอบ hot air oven นาน 72 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ภาพภาคผนวกที่ 18 การอบตัวอย่างมูลสุกร

2. บดตัวอย่างมูล และอาหาร ให้มีขนาด 2 mm.
3. วิเคราะห์หา Dry matter อบที่ 103 องศา นาน 4 ชั่วโมง
4. วิเคราะห์ Gross energy ด้วยเครื่อง bomb calorimeter

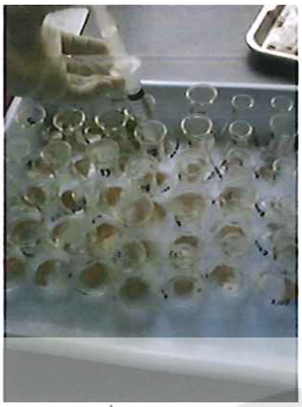
วิเคราะห์หาปริมาณ TiO_2 ตามวิธีการของ Short et al. (1996)

1. นำตัวอย่างมูลและอาหารที่ผสม TiO_2 เผาที่อุณหภูมิ 580 องศา นาน 13 ชั่วโมง

ภาพภาคผนวกที่ 19 การเผาตัวอย่างมูลสุกร

2. นำมาย่อยด้วย Sulphuric acid

3. วัดปริมาณ TiO_2 ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 400+ nm.
   1) ชั่งตัวอย่าง 0.1 g ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 580 องศา นาน 13 ชั่วโมง
   2) เติม H_2SO_4 7.4 M. 10 ml.

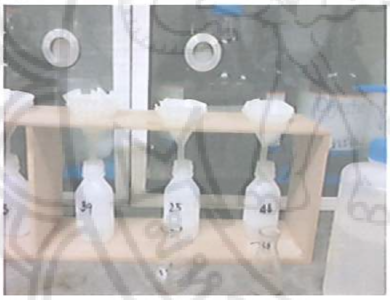


ภาพภาคผนวกที่ 20 การย่อยด้วยกรดซัลฟุริค

3) ต้มที่อุณหภูมิปานกลาง ประมาณ 60 นาที จนใส

ภาพภาคผนวกที่ 21 การต้มเพื่อเร่งกระบวนการย่อย

4) เมื่อเย็นลงเทลงใน small beaker ทีมีน้ำกลั่น 25 ml.
5) กรองด้วยกระดาษ Whatman 541 ลงใน volumetric flasks 100 ml.



ภาพภาคผนวกที่ 22 การกรองตัวอย่างที่ผ่านการย่อย

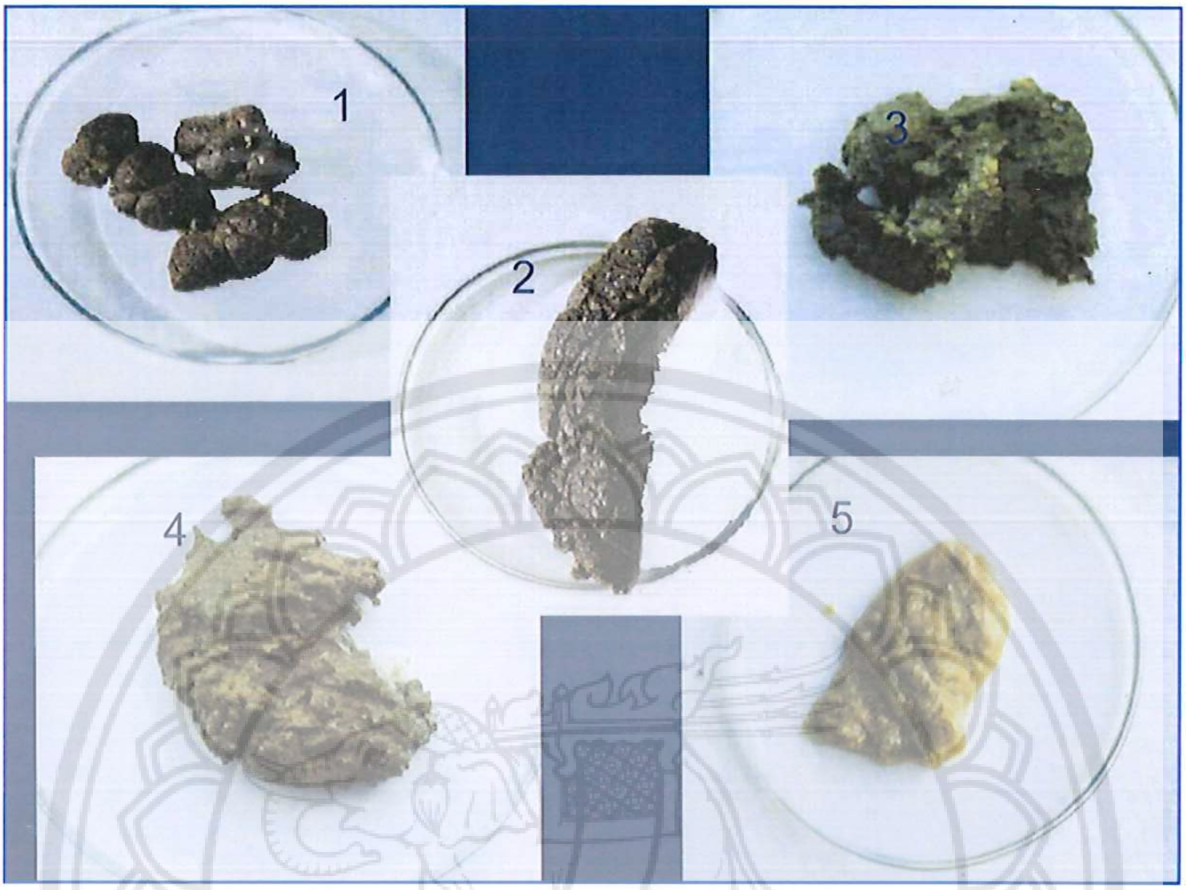
6) เติม hydrogen peroxide (H_2O_2 30%) 20 ml.
7) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 ml.
8) นำไปวัดปริมาณ TiO_2 ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 410 nm.

<u>การหา Standard titanium</u>

1) ชั่ง TiO_2 0.25 g.
2) เติม H_2SO_4 100 ml. และ catalyst 10 g. ต้มใน beaker ให้เดือนแค่ด้านล่างของ beaker
3) เมื่อต้มจนใสเทใส่ volumetric flasks 500 ml. ล้าง beaker ด้วยน้ำกลั่น 200 ml. แล้วเทลงในvolumetric flasks 500 ml.
4) เติม H_2SO_4 100 ml. ลงใน volumetric flasks 500 ml.
5) ปรับปริมาตรจนครบ 500 ml.
6) ดูดตัวอย่าง 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ml. ลงใน volumetric flasks 100 ml.
7) เติม H_2SO_4 7.4 M. 10 ml. และ hydrogen peroxide (H_2O_2 30%) 20 ml.
8) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 ml.

ภาพภาคผนวกที่ 23 ลักษณะสีของ Standard Titanium

9. นำไปวัดปริมาณ TiO_2 ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 410 nm.
10. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 0, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบเส้นกราฟ 3 เส้น



ภาพภาคผนวก 24 ลักษณะและสีของมูลลูกสุกร ในการให้คะแนน เพื่อประเมินสุขภาพทางเดินอาหารของลูกสุกร ในทางอ้อม

คะแนนลักษณะมูล

รูปร่างมูล: 1= แข็ง คงรูป เป็นพวง 2= คงรูปดี 3= คงรูปปานกลาง ค่อนข้างอ่อนตัว 4= คงรูปไม่ดี ค่อนข้างเหลว 5= เหลวเป็นน้ำ

สีมูล : 1= ดำ 2= ดำปนเขียว 3= เขียวเหลืองเทา 4= เขียวเหลืองเทาปนเหลือง 5= เหลือง

เปอร์เซ็นต์การเกิดท้องเสียคำนวณจาก = (จำนวนวันที่สุกรมีการถ่ายมูล มี คะแนนมูล รูปร่างมูล = 4, 5 และ สีมูล = 4, 5 ในวันเดียวกัน x 42 วัน) / 100