ผลการใช้พรีไบโอติกของออโตไลเสตยีสต์ในหลอดทดลองจากการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียของซีกัมสุกร

จุฬาพร ศรีหนา[1] วิริยา ลุ้งใหญ่[2]

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพการเป็นพรีไบโอติกของออโตไลเสตยีสต์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในซีกัมของสุกรในหลอดทดลอง เพื่อให้ทราบถึงประโยชน์ของออโตไลเสตยีสต์ ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแอลกอฮอล์ในขั้นตอนการหมักโมลาสของอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล โดยศึกษาในสุกรหย่านมอายุ 24 วัน แบ่งตามอาหารสัตว์ที่ใช้เลี้ยงสุกรเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะโดยเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน จากนั้นเก็บของเหลวจากซีกัมสุกร นำมาจำลองสภาวะการหมักในหลอดทดลองร่วมกับการเติมออโตไลเสตยีสต์ ผลการศึกษาพบว่าค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ (Control) และกลุ่มทดลองที่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ (Autolyzed yeast: AY) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับผลต่อจำนวนประชากรแบคทีเรียในซีกัมสุกร พบว่า AY ไม่สามารถเพิ่มหรือรักษาระดับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์กลุ่ม *Lactobacillus* sp. ได้ แต่สามารถลดปริมาณแบคที่เรียก่อโรค *Clostridium difficile* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการทำงานของ AY อาจลดลงเมื่อมีการผสมยาปฏิชีวนะลงในอาหารสัตว์ เนื่องจากพบแนวโน้มปริมาณแบคทีเรีย *Escherichia coli* ในกลุ่มสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะมีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่ากลุ่มสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ จากผลการศึกษานี้ทำให้ทราบถึงประโยชน์ของออโตไลเสตยีสต์ที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก โดยสามารถลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้สุกรได้ ดังนั้นออโตไลเสตยีสต์จึงถือเป็นสารทางเลือกอาหารเสริมพรีไบโอติกสำหรับสัตว์ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้ (Gut health) และสามารถใช้ข้อมูลนี้ประกอบการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ: พรีไบโอติก ออโตไลเสตยีสต์ ซีกัม สุกร

---

1. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

2. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

The effects of prebiotic autolyzed yeasts on the bacterial population changes in the caecum of pigs *in Vitro*

Julaporn Srinha [1] Wiriya Loongyai [2]

Abstract

The potential of autolyzed yeast as a prebiotic to modulate the microbial population in the caecum of pigs was studied. The autolyzed yeast is a by-product of molasses fermentation during alcohol production in the sugar production industry. This *in Vitro* study was conducted on weaned piglets at the age of 24 days. The piglets were divided into 2 groups; the first group was fed with feed and the second group was fed with the same feed mixed with antibiotics. After piglets were raised for 42 days, caecal contents were collected and used to simulate *in Vitro* fermentation conditions with and without autolyzed yeast. The results showed that the pH of the caecal content of these two groups was not significantly different ($p>0.05$). However, the bacterial population in the caecal content with autolyzed yeasts was unable to increase or maintain the level of beneficial bacteria such as *Lactobacillus* sp. Furthermore, autolyzed yeast statistically reduced the number of pathogenic bacteria such as *Clostridium difficile* ($p<0.05$). However, the efficiency of autolyzed yeast might decrease as a result of feed mixed with antibiotics because the group of pigs fed with feed mixed with antibiotics had higher levels of *Escherichia coli* than the group of pigs fed with feed without antibiotics. This study revealed the benefits of autolyzed yeast as a prebiotic by reducing the number of pathogenic bacteria in the intestines of pigs. Therefore, autolyzed yeasts are considered an alternative prebiotic to promote the intestinal health of pigs. This result indicated the potential of autolyzed yeast to be developed as a commercial product and applied for animal production on an industrial scale.

Keywords: Prebiotic, Autolyzed yeasts, Caecum, Pigs

1. Bureau of Livestock Standards and Certification, Department of Livestock Development
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University

บทนำ

อาหารสัตว์ถือเป็นปัจจัยการผลิตสัตว์ที่จำเป็นต่อสุขภาพสัตว์ ปัจจุบันภายใต้พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 ได้มีการกำหนดวัตถุที่เติม (Feed additives) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสัตว์และสุขภาพของสัตว์ ซึ่งวัตถุที่เติมในกฎหมายอาหารสัตว์มีหลากหลายชนิด เช่น วิตามิน แร่ธาตุ สารเอนไซม์ และสารเสริมชีวนะ (โพรไบโอติก) เป็นต้น (กรมปศุสัตว์, 2563)

พรีไบโอติกส์ (Prebiotics) เป็นสารเสริมที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียดีในทางเดินอาหาร (Microbiota) ทำให้ระบบทางเดินอาหารสัตว์อยู่ในสภาวะสมดุล พรีไบโอติกส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตอุตสาหกรรมทางการเกษตร ตัวอย่างเช่น Fructo-oligosaccharides (FOS), Oligosaccharides และ Trans-galacto-oligosaccharides (TOS) เป็นต้น ซึ่งพรีไบโอติก (Prebiotic) จัดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสัตว์ โดยมีส่วนประกอบที่ร่างกายสัตว์ย่อยไม่ได้ แต่สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ (Beneficial bacteria) ในลำไส้ รวมถึงเป็นอาหารของโพรไบโอติก (Probiotic) ที่ส่งเสริมสุขภาพในลำไส้ของสัตว์ ทำให้สัตว์มีสุขภาพที่แข็งแรง ลดโอกาสการเจ็บป่วยของสัตว์ (วิริยา ลุ้งใหญ่, 2562) สำหรับออโตไลเสตยีสต์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยการย่อยสลายตัวเองตามธรรมชาติ (Autolysis) จากเอ็นไซม์ที่มีอยู่ (Autogenous enzymes) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแอลกอฮอล์ในขั้นตอนการหมักโมลาส (Molasses fermentation) ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล ประกอบด้วยสารต่าง ๆ ในเซลล์ยีสต์หลายชนิดในรูปแบบของพรีไบโอติก เช่น ผนังเซลล์ของยีสต์ (Yeast cell wall) ประกอบไปด้วย แมนโนโปรตีน (Mannoproteins) เบต้ากลูแคน (β-Glucans) ไคติน (Chitin) และส่วนประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์ เช่น Nucleotides เป็นต้น จึงเป็นแหล่งอาหาร ทำให้เซลล์ในลำไส้แข็งแรง ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ในทางเดินอาหารสัตว์ได้ (Namted et al., 2021; 2022) ดังนั้น จึงมีการศึกษาถึงคุณสมบัติของพรีไบโอติกเพื่อนำมาใช้ส่งเสริมสุขภาพสัตว์ และเพิ่มประชากรแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้สุกร

แบคทีเรียในลำไส้มีความสำคัญต่อสุขภาพสุกร โดยที่ความเครียด การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม และอาหารสัตว์คุณภาพต่ำรวมถึงมีโภชนะที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งกระทบต่อระบบภูมิกันนำไปสู่การติดเชื้อในทางเดินอาหารได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะลูกสุกรหย่านม ถือเป็นช่วงที่มีความเครียด (Weaning stress) และไวต่อการติดเชื้อ เนื่องจากมีการปรับเปลี่ยนสภาพการเลี้ยง และเปลี่ยนจากนมแม่ที่ย่อยง่ายมาเป็นการให้อาหารสุกรระยะหย่านม ทำให้ประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารมีการเปลี่ยนแปลง และอาจเกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ (Dysbiosis) ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ จึงเป็นสาเหตุให้ลูกสุกรท้องเสีย (Post-weaning diarrhea) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะ (Upadhaya & Kim, 2021; 2022) Rhouma et al. (2017) พบว่าการใช้ยาโคลิสติน (Colistin) เพื่อควบคุมอาการท้องเสียในลูกสุกรหย่านมมีการใช้อย่างแพร่หลาย ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ นอกจากนี้โคลิสตินถือเป็นยาที่ให้มีการสงวนการใช้สำหรับรักษาโรคในมนุษย์และใช้ในภาวะที่มีความจำเป็นเท่านั้น

Gresse et al. (2017) พบว่าช่วงเข้าสู่ระยะลูกสุกรหย่านม แบคทีเรียในทางเดินอาหารสุกรที่มีความสำคัญและมีการเปลี่ยนแปลง เช่น *Lactobacillus* sp. *Clostridium* sp. และ *Escherichia coli* โดย *Lactobacillus* sp. ถือเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในทางเดินอาหารสุกร ช่วยให้เกิดสมดุลของลำไส้ ช่วยในการย่อยและดูดซึมสารอาหาร ลดการอักเสบในทางเดินอาหารและลดการเกาะของเชื้อก่อโรคที่ทางเดินอาหาร จึงลดการติดเชื้อและส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกร (Valeriano et al., 2017) แบคทีเรีย *Clostridium* sp. มีการพบเพิ่มขึ้นในช่วงสุกรหย่านมซึ่งเป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนอาหารจากนมแม่มาเป็นอาหารแข็ง (Solid feed) มีทั้งสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค (Non-pathogenic) สามารถพบได้ทั่วไปในสุกรที่แข็งแรง และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic) ลำไส้อักเสบในสุกรแรกเกิด ได้แก่ *Clostridium difficile* แต่อัตราการติดเชื้อจะลดลงเมื่อสุกรเข้าสู่ระยะหย่านม ส่งผลให้ลูกสุกร

เจริญเติบโตช้าและเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ และเป็นโรคสัตว์สู่คนที่สามารถติดเชื้อซึ่งปนเปื้อนมาจากมูลสุกร โดยเชื้อจะมีความคงทนในสิ่งแวดล้อมและสามารถสร้าง Exotoxin ได้ (Uzal et al., 2023) *Escherichia coli* โดยเฉพาะ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในสุกรหลังหย่านม ซึ่งแบคทีเรียสามารถเกาะกับผนังลำไส้ของสุกรและผลิต Enterotoxin ทำให้เกิดการอักเสบ ท้องร่วงรุนแรง ลูกสุกรมีอาการขาดน้ำร่วมกับความผิดปกติของสมดุลอิเล็กโทรไลต์ อาจทำให้สุกรหลังหย่านมเสียชีวิตได้ (Dubreuil, 2017)

พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 ได้มีการประกาศกำหนดโพรไบโอติกที่เป็นสารเสริมชีวนะใช้เป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์สำเร็จรูปเพื่อส่งเสริมสุขภาพสัตว์ ในขณะที่พรีไบโอติกยังขาดข้อมูลที่เพียงพอในการกำหนดเป็นมาตรฐานอาหารสัตว์ตามกฎหมาย สาเหตุอาจมาจากยังขาดการศึกษาวิจัยให้มีข้อมูลที่เพียงพอเพื่อประกอบการกำหนดเป็นมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ เนื่องจากออโตไลเสตยีสต์มีราคาถูก หากนำไปใช้เป็นพรีไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์ จะสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มของสิ่งเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการเกษตรนี้ได้ ดังนั้น การศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพการเป็นพรีไบโอติกของออโตไลเสตยีสต์ต่อประชากรจุลินทรีย์ในซีกัมของสุกรในหลอดทดลอง เพื่อให้ทราบถึงประโยชน์ของออโตไลเสตยีสต์ในการเป็นพรีไบโอติก และใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้ (Gut health) สำหรับการเลี้ยงสุกรในอุตสาหกรรมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัตว์ทดลองและการเลี้ยง

ใช้ลูกสุกรผสมสามสายพันธุ์เพศผู้ตอน (Large White Landrace และ Duroc) หย่านมที่อายุ 24 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 7.5 กิโลกรัม จำนวนทั้งสิ้น 36 ตัว โดยแบ่งลูกสุกรออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 6 คอก คอกละ 3 ตัว (กลุ่มละ 6 ซ้ำๆ ละ 3 ตัว รวม 18 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง) ทำการเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิด (Evaporation house cooling) โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงทั้งสิ้น 42 วัน จนได้น้ำหนักตัวประมาณ 25 กิโลกรัม ตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงลูกสุกรทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยลูกสุกรกลุ่มที่ 1 จะให้อาหารสูตรไม่ผสมยาปฏิชีวนะ และลูกสุกรกลุ่มที่ 2 จะให้อาหารสูตรผสมยาปฏิชีวนะ (Antibiotics: ABO) ซึ่งจะผสมยาโคลิสติน 120 พีพีเอ็ม ในอาหาร โดยแบ่งการให้อาหารทดลองออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะ Pre-starter (1-14 วัน หลังหย่านม) และระยะ Starter (15-42 วัน หลังหย่านม) ซึ่งองค์ประกอบวัตถุดิบและคุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองทั้ง 2 สูตร ดังตารางผนวกที่ 1 และ 2

2. การเก็บตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้

เมื่อลูกสุกรทั้งสองกลุ่มได้รับอาหารทดลองทั้งสิ้น 42 วัน จะทำการสุ่มลูกสุกรที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของกลุ่มการทดลองจำนวน 1 ตัวในแต่ละซ้ำของการทดลอง (Pooled sample) เพื่อเก็บตัวอย่างสิ่งย่อยในลำไส้ส่วนซีกัม โดยทำการการุณยฆาตลูกสุกร เปิดช่องท้อง แล้วใช้เชือกที่ผ่านการฆ่าเชื้อผูกลำไส้ส่วนซีกัมให้แน่นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอก จากนั้นจะทำการตัดลำไส้ส่วนซีกัมเก็บในกระติกน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพและลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการภายในระยะเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ณ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ การทดลองในครั้งนี้ใช้ของเหลวในซีกัมจากสุกรกลุ่มที่ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ และใช้ของเหลวในซีกัมจากสุกรกลุ่มที่ผสมยาปฏิชีวนะชนิดโคลิสตินมาจำลองสภาวะการหมักในหลอดทดลองร่วมกับออโตไลเสตยีสต์

3. การจำลองสภาวะการหมักในหลอดทดลองและการตรวจวิเคราะห์ค่า pH และปริมาณแบคทีเรีย

3.1 นำซีกัมของสุกรที่เจือจางด้วยสารละลาย Anaerobic Phosphate Buffer Saline (PBS; 0.1 mol/L, pH 7.4) ในสัดส่วน 1:10 (w/w) นำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenized) ในเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 2 นาที โดยแบ่งซีกัมใส่หลอดทดลองจำนวนทั้งสิ้น 40 หลอดเพื่อจำลองสภาวะการหมักดังนี้

1) ซีกัมจากสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) จำนวน 20 หลอด แบ่งเป็น
   a. กลุ่มควบคุม (Control) หลอดทดลองไม่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ จำนวน 10 หลอด
   b. กลุ่มทดลอง (Autolyzed yeasts: AY) หลอดทดลองที่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ จำนวน 10 หลอด
2) ซีกัมจากสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Feed + ABO) จำนวน 20 หลอด แบ่งเป็น
   a. กลุ่มควบคุม (Control) หลอดทดลองไม่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ จำนวน 10 หลอด
   b. กลุ่มทดลอง (Autolyzed yeasts: AY) หลอดทดลองที่มีการเติมออโตไลเสตยีสต์ จำนวน 10 หลอด

3.2 ขั้นตอนการเตรียมออโตไลเสตยีสต์ 5% w/v ลงใน Viande Levure (VL) medium โดยมีกระบวนการผลิตออโตไลเสตยีสต์ ด้วยการหมักยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับน้ำตาลในเครื่อง Fermenter ที่อุณหภูมิ 30-34 องศาเซลเซียส เวลา 36-40 ชั่วโมง นำไปแยกครีมยีสต์ นำไปล้างและผ่านกระบวนการ Autolysis ที่ pH 5-6 อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง นำไปผ่านกระบวนการระเหยที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสและ Spray dry ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส จะได้ออโตไลเสตยีสต์ที่มีส่วนประกอบ ดังตารางที่ 1

3.3 กลุ่มทดลองใช้ออโตไลเสตยีสต์ 5% w/v ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแร่ธาตุหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (VL medium) ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ตามวิธีของ Prayoonthien et al. (2018) โดยส่วนประกอบของ VL medium ดังตารางผนวกที่ 3 และโดยกลุ่มควบคุมจะไม่ใส่ออโตไลเสตยีสต์

3.4 การหมักในหลอดทดลอง (Youssef & Kamphues, 2018) โดยการนำ Substrate มาใส่ในหลอดทดลองได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1% (w/v) ใน 50 มิลลิลิตรของ Working volume (0.5 g) และปรับให้ pH อยู่ในช่วง 5.60-5.83 จากนั้นทำการปิดฝาหลอดทดลองให้สนิทก่อนนำไปเติมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งเหมาะสมกับการดำรงชีพและกิจกรรมของแบคทีเรียในซีกัมของสุกร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.5 นำไป Inoculate ด้วย 5 มิลลิลิตรของสารละลายที่เตรียมไว้ (1/10 w/w) โดยใช้ไซริงค์ขนาด 5 มิลลิลิตรและให้มีความเข้มข้นสุดท้ายที่ 10% (w/v) นำไปบ่มที่ 42 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงใน Anerobic chamber และเก็บตัวอย่าง 3 มิลลิลิตรที่ 12 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ตามวิธีของ Alam et al. (2012)

3.6 นำมาทำการสกัด DNA ของแบคทีเรียด้วย QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen Ltd, West Sussex, UK) และนำ DNA ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแต่ละชนิดด้วย CFX ConnectTM Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad laboratories, Inc.) โดยใช้ Primer ที่จำเพาะเจาะจงกับแบคทีเรียแต่ละชนิด ดังตารางที่ 2

โดยรายละเอียดขั้นตอนการทดลองดังภาพผนวกที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของออโตไลเสตยีสต์

ลักษณะทางกายภาพและทางเคมี	
ลักษณะ	ผงสีน้ำตาลอ่อนถึงกลาง
โปรตีน (%)	ขั้นต่ำ 30
ความชื้น (%)	ไม่เกิน 8
pH	4.0-7.0
ไขมัน (%)	0.2-0.5
เถ้า (%)	ไม่เกิน 15
ความหนาแน่น (g/l)	ขั้นต่ำ 420
เส้นใหยาบ (%)	ไม่เกิน 3.0
โพลีแซคคาไรด์รวม (%)	35-55
พลังงาน (Kcal/kg)	3,700
กรดอะมิโน	
อะลานีน (%)	1.52
อาร์จินีน (%)	1.23
กรดแอสปาร์ติก (%)	4.85
ซิสตีน (%)	0.13
กรดกลูตามิก (%)	1.32
ไกลซีน (%)	1.02
ฮิสติดีน (%)	0.59
ไอโซลูซีน (%)	1.34
ลิวซีน (%)	1.91
ไลซีน (%)	2.98
เมไทโอนีน (%)	0.69
ฟีนิลอะลานีน (%)	1.07
โปรลีน (%)	1.5
เซอรีน (%)	0.92
ทรีโอนีน (%)	0.95
ทริปโตแฟน (%)	0.34
ไทโรซีน (%)	0.92
วารีน (%)	1.62
การย่อยได้โดยเอนไซน์เปปซิน (%)	85.00
ลักษณะทางจุลชีววิทยา	
จุลินทรีย์รวม (CFU/g)	ไม่เกิน 15,000
โคลิฟอร์มรวม (MPN/g)	ไม่เกิน 10
ยีสต์และรา (CFU/g)	ไม่เกิน 1,000
ซาลโมเนลล่า (ใน 25 กรัม)	ไม่พบ

ตารางที่ 2 DNA primer sequence ที่ใช้ในการวิเคราะห์ประชากรแบคทีเรีย

Bacteria	Primer (5' > 3')		Source
Lactobacillus sp.	F	AGCAGTAGGGAATCTTCCA	(Vanhoutte et al., 2004)
	R	ATTYCACCGCTACACATG	
Clostridium sp.	F	AAAGGAAGATTAATACCGCATAA	(Amit-Romach et al., 2004)
	R	ATCTTGCGACCGTACTCCCC	
Clostridium difficile	F	AAAGAAGCTACTAAGGGTACAAA	(Lemee et al., 2004)
	R	ATAATATTGGGTCTATTCCTAC	
Escherichia coli	F	TTGACCCACACTTTGCCGTAA	(Wang et al., 2007)
	R	GCGAAAACTGTGGAATTGGG	

F = Forward primer

R = Reverse primer

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแบคทีเรียแต่ละชนิดระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมออโตไลเสตยีสต์ จากซีกัมของสุกรที่ได้รับอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะและผสมยาปฏิชีวนะด้วยวิธีวิเคราะห์ T-test

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษา *in Vitro* ที่ 12 ชั่วโมง พบค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ดังแสดงในตารางที่ 3 ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) มีค่า pH เป็น 4.34±0.66 และกลุ่มที่มีการเติม AY มีค่า pH เป็น 4.54±0.16 สำหรับค่า pH ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) พบว่ากลุ่ม Control มีค่า pH เป็น 4.23±0.28 และกลุ่มที่มีการเติม AY มีค่า pH เป็น 4.30±0.11 โดยทั่วไปพรีไบโอติกที่ผ่านกระบวนการหมัก พบว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microbiome) จะผลิตกรดไขมันสายสั้นหรือ Short-Chain Fatty Acids (SCFAs) ในลำไส้ประกอบด้วยกรดแลคติก (Lactic acid) กรดบิวทิริก (Butyric acid) และกรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) ทำให้ pH ในลำไส้ลดลงซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันในลำไส้ (Davani-Davari et al., 2019) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY ทั้งสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ และสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะพบว่า pH ไม่แตกต่างกัน (p>0.05)

ตารางที่ 3 ผลการจำลองสภาวะการหมักในหลอดทดลองที่ชั่วโมงที่ 12 ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในซีกัมสุกร

รายการตรวจวิเคราะห์	**Control**	**Autolyzed yeasts (AY)**	***p*-value**
Feed			
pH	4.34 ± 0.66	4.54 ± 0.16	0.694
Feed+ABO			
pH	4.23 ± 0.28	4.30 ± 0.11	0.807

ปริมาณของแบคทีเรีย *Lactobacillus* sp. *Clostridium* sp. *Clostridium difficile* และ *Escherichia coli* ในซีกัมของสุกรกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY ซึ่งมาจากสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) และสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ที่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในซีกัมสุกร ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการจำลองสภาวะการหมักในหลอดทดลองที่ชั่วโมงที่ 12 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในซีกัมสุกร

รายการตรวจวิเคราะห์	Control	Autolyzed yeasts (AY)	*p*-value
Feed			
Lactobacillus sp. (log CFU/g)	7.30 ± 0.03	7.26 ± 0.06	0.340
Clostridium sp. (log CFU/g)	6.94 ± 0.03	7.01 ± 0.01	0.017
Clostridium difficile (log CFU/g)	4.72 ± 0.05	4.52 ± 0.00	<0.01
Escherichia coli (log CFU/g)	6.08 ± 0.02	6.00 ± 0.03	0.026
Feed + ABO			
Lactobacillus sp. (log CFU/g)	7.23 ± 0.02	7.26 ± 0.06	0.513
Clostridium sp. (log CFU/g)	6.85 ± 0.02	6.91 ± 0.01	0.082
Clostridium difficile (log CFU/g)	4.71 ± 0.00	4.50 ± 0.03	0.030
Escherichia coli (log CFU/g)	6.01 ± 0.01	6.08 ± 0.03	0.043

CFU = Colony forming unit

ปริมาณ *Lactobacillus* sp. ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 7.30±0.03 และ 7.26±0.06 ตามลำดับ สำหรับซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) ของกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 7.23±0.02 และ 7.26±0.06 ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY ทั้งสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะและสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะพบว่าไม่แตกต่างกัน (p>0.05) การศึกษานี้พบว่าการเติม AY ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ และในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะไม่ส่งผลต่อปริมาณของ *Lactobacillus* sp. ในซีกัมสุกร (p>0.05) โดยทั่วไป *Lactobacillus* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ส่งเสริมสุขภาพลำไส้ของสัตว์ควรเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมพรีไบโอติก พบว่าการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ *Lactobacillus* sp. ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น การศึกษาของ Bortoluzzi et al. (2018) ที่มีการเติม AY ในอาหารไก่เนื้อโดยพบว่าสามารถลดปริมาณของ *Escherichia coli* ในลำไส้ได้ ทำให้ไก่เนื้อมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้นส่งผลให้มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในขณะที่ *Lactobacillus* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อลำไส้กลับมีปริมาณลดลง โดยสาเหตุอาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของไก่เนื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำต่อการเพิ่มขึ้นของ *Lactobacillus* sp.

การศึกษาของ Chen et al. (2017) และการศึกษาของ Gresse et al. (2017) พบว่าในช่วงเปลี่ยนผ่านเข้าสู่ระยะลูกสุกรหย่านม ซึ่งจะมีการเปลี่ยนชนิดอาหารของสุกรทำให้ปริมาณของแบคทีเรียประเภท Facultative anaerobe ได้แก่ กลุ่ม *Enterobacteriaceae Proteobacteriaceae Clostridiaceae* และ *Prevotellaceae* families เช่น *Escherichia coli* และ *Clostridium* sp. มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณ *Clostridium* sp. ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 6.94±0.03 และ 7.01±0.01 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าปริมาณ

แบคทีเรีย *Clostridium* sp. เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) ของกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 6.85±0.02 และ 6.91±0.01 ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY ของสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เนื่องจากแบคทีเรีย *Clostridium* sp. สายพันธุ์ที่ทำให้สัตว์มีสุขภาพดี เช่น *Clostridium butyricum* ที่สามารถผลิต Butyric acid ที่สามารถช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันของลำไส้ ลดการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ช่วยเพิ่มแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* sp. และลดความรุนแรงในกรณีมีการติดเชื้อแบคทีเรีย Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) (Li et al., 2021) จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสายพันธุ์ของเชื้อ *Clostridium* sp. ที่พบต่อไป

ปริมาณ *Clostridium difficile* ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 4.72±0.05 และ 4.52±0.00 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าปริมาณ *Clostridium difficile* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกันกับในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) ของกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 4.71±0.00 และ 4.50±0.03 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะพบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Namted et al. (2022) ที่พบว่าการเสริม AY ในอาหารสุกรระยะหย่านมสามารถลดปริมาณเชื้อ *Clostridium* sp. สายพันธุ์ก่อโรค เช่น *Clostridium difficile* ที่มีการสร้าง Exotoxins A และ B ทำให้ผนังลำไส้เกิดการอักเสบและลูกสุกรท้องเสีย (Yaeger et al., 2007) ซึ่งการลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาจมาจากคุณสมบัติของคาร์โบไฮเดรตในสารสกัดของออโตไลเสตยีสต์ ได้แก่ Fructo-oligosaccharides (FOS) และ Mannan-oligosaccharides (MOS) จะช่วยจับแบคทีเรียก่อโรคไม่ให้เกาะกับผนังลำไส้ของสัตว์ปีกแต่จะขับออกทางอุจจาระ (Adhikari & Kim, 2017; Adhikari et al., 2018) นอกจากนี้การศึกษาการใช้ MOS ในลูกสุกรหย่านมพบว่าสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือก (Mucosal immunity) ในทางเดินอาหารของสุกรได้ (Davis et al., 2004)

ปริมาณ *Escherichia coli* ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณในหน่วย log CFU/g เป็น 6.08±0.02 และ 6.00±0.03 ตามลำดับ พบว่า *Escherichia coli* ในกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งการลดลงของ *Escherichia coli* ถือเป็นผลดีต่อสุขภาพลำไส้ โดยเฉพาะการลดลงของ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดท้องร่วงจากการเสียสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้สุกรหลังหย่านม (Kim et al., 2022) สอดคล้องกับการศึกษาในสัตว์ปีกที่พบว่าการใช้ AY เสริมในอาหารสัตว์สามารถลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ของสัตว์ปีกได้โดยพบว่ามีการลดลงทั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. (Sims et al., 2004; Brümmer et al., 2010; Bortoluzzi et al., 2018) อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Upadhaya et al. (2019) ที่มีการเก็บตัวอย่างอุจจาระลูกสุกรหย่านม พบว่ากลุ่มที่เสริม AY มีปริมาณ *Escherichia coli* ไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ปริมาณ *Lactobacillus* sp. เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากปัจจัยของตัวสัตว์และการจำลองสภาวะการหมักในลำไส้ซึ่งมีสภาวะที่แตกต่างกัน

สำหรับผลของปริมาณ *Escherichia coli* ในซีกัมสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO) ของกลุ่มที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มที่มีการเติม AY มีปริมาณ *Escherichia coli* ในหน่วย log CFU/g เป็น 6.01±0.01 และ 6.08±0.03 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่มที่มีการเติม AY ของสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะพบว่ามีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้หาปริมาณกลุ่มเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อโรค เช่น Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) จึงยังไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าการเสริม AY ในอาหารที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ Colistin ทำให้เชื้อก่อโรคสูงขึ้นหรือไม่

เนื่องจาก Colistin เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Polymyxins ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยทำลายผนังทั้งชั้นในและชั้นนอกของแบคทีเรีย จึงรบกวนสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ ทั้งแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และแบคทีเรียก่อโรค และทำให้เกิดการดื้อยาต้านจุลชีพได้ (Zeineldin et al., 2019) นอกจากนี้ Colistin ยังเป็นยาปฏิชีวนะที่สงวนการใช้สำหรับมนุษย์ และพบว่าการให้ยาปฏิชีวนะทางการกินสัมพันธ์กับอุบัติการเกิดการดื้อยาต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร (Zhang et al., 2013) ดังนั้น จึงควรใช้ยาปฏิชีวนะอย่างสมเหตุผลรวมทั้งผลของการใช้ยา Colistin ร่วมกับ AY จึงต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติม AY (Control) และกลุ่มทดลองที่มีการเติม AY ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับผลต่อจำนวนประชากรแบคทีเรียในซีกัมสุกร พบว่า AY ไม่สามารถเพิ่มหรือรักษาระดับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์กลุ่ม *Lactobacillus* sp. ได้ แต่สามารถลดปริมาณแบคที่เรียก่อโรค *Clostridium difficile* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการทำงานของ AY อาจลดลงเมื่อมีการผสมยาปฏิชีวนะลงในอาหารสัตว์ เนื่องจากพบแนวโน้มปริมาณแบคทีเรีย *Escherichia coli* ในกลุ่มสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ จากการศึกษานี้ทำให้ทราบถึงประโยชน์ของออโตไลเสตยีสต์ที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตแอลกอฮอล์ในอุตสาหกรรมน้ำตาล โดยสามารถนำมาใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งของอาหารเสริมพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้ (Gut health) ของสุกรได้ และใช้เป็นข้อมูลประกอบเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับสัตว์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป เนื่องจากแบคทีเรียในลำไส้สุกรมีความหลากหลายโดยแต่ละกลุ่มมีทั้งแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และแบคทีเรียก่อโรค ดังนั้น ในครั้งถัดไปจึงควรมีการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียที่ทำการศึกษาทุกชนิด เพื่อให้ทราบถึงชนิดและปริมาณของเชื้อทั้งที่ก่อให้เกิดโรคและเชื้อที่เป็นประโยชน์เพื่อความชัดเจนโดยละเอียดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ศ.ดร.ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ และ ผศ.ดร.เชาว์วิทย์ ระฆังทอง ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาและสนับสนุนในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ผศ.ดร.ศิริพร นามเทศ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ และ สพ.ญ.สุชนา สุขกลัด นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ที่ให้ข้อมูลและข้อเสนอแนะทางวิชาการสำหรับการวิจัย สพ.ญ. ธนิดา หรินทรานนท์ ข้าราชการบำนาญอดีตผู้เชี่ยวชาญด้านมาตรฐานการปศุสัตว์ระหว่างประเทศ และ สพ.ญ. บุณิกา จุลละโพธิ ผู้อำนวยการกองควบคุมอาหารและยาสัตว์ ที่ให้ข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการเขียนงานวิจัยทำให้ผลงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์. (2563). *รวมกฎหมาย ประกาศ ระเบียบ และข้อบังคับต่างๆ ที่เกี่ยวข้องตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 แก้ไขเพิ่มเติม ครั้งที่ 2*. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด สาขา 4.

วิริยา ลุ้งใหญ่. (2562). *Gut microbiota กับการผลิตสัตว์ปีกและสุกร*. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adhikari, P. A., & Kim, W. K. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: Focus on Performance, Gut Health and immunity – A Review. *Annals of Animal Science*, *17*(4), 949–966. https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0092

Adhikari, P., Cosby, D. E., Cox, N. A., Franca, M. S., Williams, S. M., Gogal, R. M., Ritz, C. W., & Kim, W. K. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharide supplementation on internal organs salmonella colonization, immune response, ileal morphology, and ileal immunohistochemistry in laying hens challenged with *Salmonella enteritidis*. *Poultry Science*, *97*(7), 2525–2533. https://doi.org/10.3382/ps/pey101

Alam, Md. J., Jeong, C. D., Mamuad, L. L., Sung, H. G., Kim, D. W., Cho, S. B., Lee, K., Jeon, C. O., & Lee, S. S. (2012). Bacterial community dynamics during swine in vitro fermentation using starch as a substrate with different feed additives for odor reduction. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*(5), 690–700. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11451

Amit-Romach, E., Sklan, D., & Uni, Z. (2004). Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry Science*, *83*(7), 1093–1098. https://doi.org/10.1093/ps/ 83.7.1093

Bortoluzzi, C., Barbosa, J. G., Pereira, R., Fagundes, N. S., Rafael, J. M., & Menten, J. F. (2018). Autolyzed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation improves performance while modulating the intestinal immune-system and microbiology of Broiler Chickens. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *2*. https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00085

Brümmer, M., Jansen van Rensburg, C., & Moran, C. (2010). *Saccharomyces cerevisiae* cell wall products: The effects on gut morphology and performance of Broiler Chickens. *South African Journal of Animal Science*, *40*(1). https://doi.org/10.4314/sajas.v40i1.54125

Chen, L., Xu, Y., Chen, X., Fang, C., Zhao, L., & Chen, F. (2017). The maturing development of gut microbiota in commercial piglets during the weaning transition. *Frontiers in Microbiology*, *8*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01688

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, *8*(3), 92. https://doi.org/10.3390/foods8030092

Davis, M. E., Maxwell, C. V., Erf, G. F., Brown, D. C., & Wistuba, T. J. (2004). Dietary supplementation with phosphorylated Mannans improves growth response and modulates immune function of weanling PIGS1. *Journal of Animal Science*, *82*(6), 1882–1891. https://doi.org/10.2527/2004.8261882x

Dubreuil, J. D. (2017). Enterotoxigenic *Escherichia coli* and probiotics in swine: What the bleep do we know? *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, *36*(3), 75–90. https://doi.org/10.12938/bmfh.16-030

Gresse, R., Chaucheyras-Durand, F., Fleury, M. A., Van de Wiele, T., Forano, E., & Blanquet-Diot, S. (2017). Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: Understanding the keys to health. *Trends in Microbiology*, *25*(10), 851–873. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.004

Kim, K., Song, M., Liu, Y., & Ji, P. (2022). Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection of weaned pigs: Intestinal challenges and nutritional intervention to enhance disease resistance. *Frontiers in Immunology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.885253

Lemee, L., Dhalluin, A., Testelin, S., Mattrat, M.-A., Maillard, K., Lemeland, J.-F., & Pons, J.-L. (2004). Multiplex PCR targeting *tpi* (triose phosphate isomerase), *tcda* (toxin a), and *tcdb* (toxin B) genes for toxigenic culture of *Clostridium difficile*. *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(12), 5710–5714. https://doi.org/10.1128/jcm.42.12.5710-5714.2004

Li, H., Liu, X., Shang, Z., & Qiao, J. (2021). *Clostridium butyricum* helps to alleviate inflammation in weaned piglets challenged with Enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.683863

Namted, S., Poungpong, K., Loongyai, W., Rakangthong, C., & Bunchasak, C. (2021). Improving growth performance and blood profile by feeding autolyzed yeast to improve pork carcass and meat quality. *Animal Science Journal*, *92*(1). https://doi.org/ 10.1111/asj.13666

Namted, S., Poungpong, K., Loongyai, W., Rakangthong, C., & Bunchasak, C. (2022). A review: Using yeast extract as feed additive in pig diets. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *10*(11). https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.11.2384.2395

Prayoonthien, P., Nitisinprasert, S., & Keawsompong, S. (2017). In vitro fermentation of copra meal hydrolysate by chicken microbiota. *3 Biotech*, *8*(1). https://doi.org/10.1007/s13205-017-1058-1

Rhouma, M., Fairbrother, J. M., Beaudry, F., & Letellier, A. (2017). Post weaning diarrhea in pigs: Risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *59*(1). https://doi.org/10.1186/s13028-017-0299-7

Sims, M. D., Dawson, K. A., Newman, K. E., Spring, P., & Hoogell, D. M. (2004). Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poultry Science*, *83*(7), 1148–1154. https://doi.org/ 10.1093/ps/83.7.1148

Upadhaya, S. D., Bravo de Laguna, F., Bertaud, B., & Kim, I. (2019). Multi-strain yeast fraction product supplementation can alleviate weaning stress and improve performance and health of piglets raised under low sanitary conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(13), 6076–6083. https://doi.org/10.1002/jsfa.9885

Upadhaya, S.-D., & Kim, I.-H. (2021). The impact of weaning stress on gut health and the mechanistic aspects of several feed additives contributing to improved gut health function in weanling piglets—a review. *Animals*, *11*(8), 2418. https://doi.org/ 10.3390/ani11082418

Upadhaya, Santi Devi, & Kim, I. H. (2022). Maintenance of gut microbiome stability for optimum intestinal health in pigs – A Review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *13*(1). https://doi.org/10.1186/s40104-022-00790-4

Uzal, F. A., Navarro, M. A., Asin, J., Boix, O., Ballarà-Rodriguez, I., & Gibert, X. (2023). Clostridial diarrheas in piglets: A Review. *Veterinary Microbiology*, *280*, 109691. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109691

Valeriano, V. D. V., Balolong, M. P., & Kang, D.-K. (2017). Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: Insights from gut microbiota. *Journal of Applied Microbiology*, *122*(3), 554–567. https://doi.org/10.1111/jam.13364

Vanhoutte, T. (2004). Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers. *FEMS Microbiology Ecology*, *48*(3), 437–446. https://doi.org/10.1016/s0168-6496(04)00075-3

Wang, X., Smith, D. R., Jones, J. W., & Chapman, M. R. (2007). In vitro polymerization of a functional *Escherichia coli* amyloid protein. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(6), 3713–3719. https://doi.org/10.1074/jbc.m609228200

Yaeger, M. J., Kinyon, J. M., & Songer, J. G. (2007). A prospective, case control study evaluating the association between *Clostridium difficile* toxins in the colon of neonatal swine and gross and microscopic lesions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *19*(1), 52–59. https://doi.org/10.1177/104063870701900108

Youssef, I. M. I., & Kamphues, J. (2018). Fermentation of lignocellulose ingredients in vivo and in vitro via using fecal and caecal inoculums of monogastric animals (swine/turkeys). *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *7*(4), 407–413. https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.05.006

Zeineldin, M., Aldridge, B., & Lowe, J. (2019). Antimicrobial effects on swine gastrointestinal microbiota and their accompanying antibiotic resistome. *Frontiers in Microbiology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01035

Zhang, L., Huang, Y., Zhou, Y., Buckley, T., & Wang, H. H. (2013). Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *57*(8), 3659–3666. https://doi.org/10.1128/aac.00670-13

Zommiti, M., & Ferchichi, M. (2021). Probiotics and prebiotics in animal feed. *Probiotics and Prebiotics in Foods*, 233–261. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819662-5.00011-2

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณวัตถุดิบและองค์ประกอบทางโภชนะในอาหารลูกสุกรระยะ Pre-starter

กลุ่มสุกรและองค์ประกอบโภชนะในอาหาร	อาหารลูกสุกรระยะ Pre-starter	
	ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed)	ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO)
องค์ประกอบวัตถุดิบ (กิโลกรัม)		
ปลายข้าว	45.38	45.38
น้ำมันรำข้าว	1.45	1.45
กากถั่วเหลือง (โปรตีน 48%)	5.00	5.00
ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	24.51	24.51
ปลาป่น (โปรตีน 63.5%)	4.00	4.00
รำสกัดน้ำมัน	6.86	6.86
หางนม	10.00	10.00
แอล-ไลซีน	0.55	0.55
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.22	0.22
แอล-ทรีโอนีน	0.21	0.21
แอล-ทริปโตฟาน	0.02	0.02
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต-22	0.19	0.19
หินฝุ่น	0.64	0.64
เกลือ	0.25	0.25
พรีมิกซ์	0.25	0.25
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.17	0.17
สารกันหืน และสารจับสารพิษ	0.25	0.25
สารเติมเต็ม	0.05	0.038
โคลิสติน	-	0.012
รวมปริมาณวัตถุดิบ (กิโลกรัม)	**100.00**	**100.00**
ค่าปริมาณโภชนะ		
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (kcal/kg)	3400.00	3400.00
โปรตีน (%)	19.50	19.50
เยื่อใย (%)	2.72	2.72
ไขมัน (%)	7.24	7.24
เมทไธโอนีน (%)	0.56	0.56
เมทไธโอนีน+ซีสตีน (%)	0.87	0.87
ไลซีน (%)	1.53	1.53
ทรีโอนีน (%)	0.95	0.95
ทริปโตฟาน (%)	0.25	0.25
แคลเซียม (%)	0.80	0.80
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.65	0.65
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.36	0.36
โซเดียม (%)	0.30	0.30
คลอรีน (%)	0.47	0.47

กลุ่มสุกรและองค์ประกอบโภชนะในอาหาร	อาหารลูกสุกรระยะ Pre-starter	
	ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed)	ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO)
ค่าปริมาณโภชนะ (ต่อ)		
แลคโตส (%)	6.80	6.80
สมดุลอิเล็กโทรไลต์ในอาหาร Dietary Electrolyte Balance:DEB (mEq/kg)	240.03	240.03

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณวัตถุดิบและองค์ประกอบทางโภชนะในอาหารลูกสุกรระยะ Starter

องค์ประกอบโภชนะในอาหาร	อาหารลูกสุกรระยะ Starter	
	ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed)	ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO)
องค์ประกอบวัตถุดิบ (กิโลกรัม)		
ปลายข้าว	50.34	50.34
น้ำมันรำข้าว	1.01	1.01
กากถั่วเหลือง (โปรตีน 48%)	5.00	5.00
ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	25.09	25.09
ปลาป่น (โปรตีน 63.5%)	2.00	2.00
รำสกัดน้ำมัน	8.46	8.46
หางนม	5.00	5.00
แอล-ไลซีน	0.50	0.50
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.16	0.16
แอล-ทรีโอนีน	0.18	0.18
แอล-ทริปโตฟาน	0.01	0.01
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต-22	0.29	0.29
หินฝุ่น	0.83	0.83
เกลือ	0.35	0.35
พรีมิกซ์	0.25	0.25
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.23	0.23
สารกันหืน และสารจับสารพิษ	0.25	0.25
สารเติมเต็ม	0.05	0.038
โคลิสติน	-	0.012
รวมปริมาณวัตถุดิบ (กิโลกรัม)	**100.00**	**100.00**
ค่าปริมาณโภชนะ		
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (kcal/kg)	3350.00	3350.00
โปรตีน (%)	18.50	18.50
เยื่อใย (%)	2.95	2.95
ไขมัน (%)	6.73	6.73
เมทไธโอนีน (%)	0.48	0.48
เมทไธโอนีน+ซีสตีน (%)	0.79	0.79
ไลซีน (%)	1.40	1.40
ทรีโอนีน (%)	0.87	0.87
ทริปโตฟาน (%)	0.23	0.23

องค์ประกอบโภชนะในอาหาร	อาหารลูกสุกรระยะ Starter	
	ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed)	ผสมยาปฏิชีวนะ (Feed+ABO)
ค่าปริมาณโภชนะ (ต่อ)		
แคลเซียม (%)	0.70	0.70
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.60	0.60
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.29	0.29
โซเดียม (%)	0.30	0.30
คลอรีน (%)	0.39	0.39
แลคโตส (%)	3.40	3.40
สมดุลอิเล็กโทรไลต์ในอาหาร Dietary Electrolyte Balance:DEB (mEq/kg)	239.38	239.38

ตารางผนวกที่ 3 ส่วนประกอบของ VL medium

ส่วนประกอบของ Viande Levure (VL) medium	45 ml
1. สารสกัดจากเนื้อวัว (g/L)	2.4
2. สารสกัดยีสต์ (g)	5.0
3. กลูโคส (g/L)	2.5
4. ทริปโตส (g/L)	10
5. แอล-ไลซีน ไฮโดรคลอไรด์ (g/L)	0.6
6. โซดียมคลอไรด์ (g/L)	5.0
7. เฮมิน	0.05
8. วิตามินเค (µl)	10
9. สารละลายรีซาซูริน (ml/L)	4
10. แร่ธาตุรอง (ml)	10

ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการทดลอง