สัญญาเลขที่ IUG5280006

**รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์**

# โครงการ : การพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ “อินนูลินไหลผ่านจากแก่นตะวัน” เพื่อผสมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

New products development “by-pass inulin” from Kaentawan for ruminant diets


**ผู้วิจัย**

**รองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ**

**สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร**

**มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**



**สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)**

**2563**

# กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ ได้รับงบประมาณสนับสนุนจาก โครงการการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ประจำปีงบประมาณ 2553 คณะนักวิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการอำนวยความสะดวก สถานที่วิจัย ห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้ทางคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณบุคคล และหน่วยงานความร่วมมือต่างๆ โดยเฉพาะกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ-แกะนครราชสีมา ที่ให้ความร่วมมือการทำงานในพื้นที่ และ การจัดการการเรียนรู้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาอาชีพ การเลี้ยงแพะ-แกะให้มีความยั่งยืนในอนาคต ตลอดจนเครือข่ายผู้เลี้ยงแพะแกะ มทส นักศึกษาบัณฑิตศึกษา นักวิจัย ผู้ช่วยวิจัย และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการจัดกิจกรรมต่างๆ ในครั้งนี้ ทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ทำให้การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

รองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ

พฤษภาคม 2563

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| **กิตติกรรมประกาศ** | ก |
| **สารบัญ** | ข |
| **สารบัญตาราง** | ค |
| **สารบัญรูป** | ง |
| **บทคัดย่อ** (ภาษาไทย) | จ |
| **บทคัดย่อ** (ภาษาอังกฤษ) | ช |
| **บทที่ 1 บทนำ** | 1 |
| **บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** | 3 |
| **บทที่ 3 การศึกษาเพื่อหาวิธีป้องกันการย่อยได้ของอินูลิน** | 25 |
| **บทที่ 4 การทดสอบอินูลินไหลผ่าน ต่อความเป็นพรีไบโอติก โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์** | 28 |
| **บทที่ 5 ผลของอินูลินไหลผ่านจากแก่นตะวัน ต่อระดับภูมิคุ้มกันของแพะ** | 45 |
| **บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ** | 61 |
| **บรรณานุกรม** | 63 |
| **ประวัตินักวิจัย** | 76 |
| **ผลงานจากการวิจัย** | 80 |

# สารบัญตาราง

หน้า

**ตารางที่ 4.1** Primer ใช้สำหรับการหาปริมาณ PCR แบบเรียลไทม์ 31

**ตารางที่ 4.2** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อปริมาณแก๊สและค่าความเป็นกรดเป็นด่างใน อาหารเลี้ยงเชื้ออุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง 36

**ตารางที่ 4.3** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อความเข้มข้น VFA ในหลอดทดลองอุจจาระ ในเวลา 24 ชั่วโมง 39

**ตารางที่ 4.4** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อความเข้มข้นของ VFA ในหลอดทดลองอุจจาระ เวลา 48 ชั่วโมง 40

**ตารางที่ 4.5** ผลของอินูลินไหลผ่าน จากการหมักอุจจาระที่ 24 ชั่วโมงต่อแบคทีเรียทั้งหมด *E. coli*, Clostridium, Bifidobacterium และ Lactobacillus โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์ 41

**ตารางที่ 4.6** ผลของอินูลินไหลผ่านจากการหมักอุจจาระที่ 48 ชั่วโมงต่อจำนวนแบคทีเรีย ทั้งหมด, *E. coli*, Clostridium, Bifidobacterium และ Lactobacillus โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์ 42

**ตารางที่ 5.1** การจัดการการให้อาหารในช่วงทดลอง 46

**ตารางที่ 5.2** องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง 47

**ตารางที่ 5.3** ระบบการให้คะแนนอุจจาระ 48

**ตารางที่ 5.4** The effects of by-pass inulin supplementation on fecal score of kids 50

**ตารางที่ 5.5** ผลของการเสริมอินูลินต่อน้ำหนักตัวของลูกแพะ 53

**ตารางที่ 5.6** ผลของการเสริมอินูลินต่อลักษณะทางโลหิตวิทยาของลูกแพะ 55

**ตารางที่ 5.7** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านต่อของเหลวในกระเพาะรูเมนและค่า ความเป็นกรดเป็นด่างของแพะ 57

**ตารางที่ 5.8** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านต่อความยาวของลำไส้เล็กและสัณฐาน วิทยาของลูกแพะ 58

**ตารางที่ 5.9** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านของประชากรแบคทีเรียในอุจจาระของลูกแพะ 59

# สารบัญรูป


| | หน้า |
|---|---|
| **รูปที่ 2.1** (a) แก่นตะวัน flower (b). แก่นตะวัน tuber | 7 |
| **รูปที่ 2.2** โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบอินูลิน | 8 |
| **รูปที่ 2.3** แผนผังไดอะแกรมที่มีผลต่อการบริโภคพรีไบโอติกใน non-ruminants | 11 |
| **รูปที่ 2.4** แผนผังแผนผังผลของการบริโภคพรีไบโอติกในสัตว์เคี้ยวเอื้อง | 12 |
| **รูปที่ 2.5** ประโยชน์ของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ | 14 |
| **รูปที่ 2.6** กลไกการทำงานของพรีไบโอติก | 17 |
| **รูปที่ 2.7** การพัฒนากระเพาะของแพะ | 22 |
| **รูปที่ 2.8** การทำงานของพรีไบโอติกในลำไส้ใหญ่ ในการส่งเสริมบโปรไบโอติกที่ผลิตกรดไขมันสายสั้น (SCFAs) เพื่อปรับปรุงสุขภาพของสัตว์ | 24 |
| **รูปที่ 4.1** ผลของอินูลินไหลผ่านค่าความเป็นกรดเป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้ออุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง | 35 |
| **รูปที่ 4.2** ผลกระทบของอินูลินไหลผ่านต่อแก๊สทั้งหมดในหลอดทดลองของอุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง | 37 |
| **รูปที่ 5.1** แสดงผลของการเสริมอินูลินต่อน้ำหนักตัวของแพะ | 52 |

# บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้จึงมีเป้าหมายหลักเพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass innulin from Kaentawan) เพื่อให้ไปออกฤทธิ์ที่ระบบลำไส้และทางเดินอาหารส่วนล่าง โดยจะทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ในตัวสัตว์ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูล

การศึกษาที่ 1 เป็นการศึกษาเพื่อหาวิธีป้องกันการย่อยได้ของอินูลินโดยวิธีที่แตกต่างกัน เพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน ผลการศึกษาพบว่า ค่าการละลายในน้ำ และการละลายได้ในกระเพาะหมักในโคนมเจาะกระเพาะ พบว่าวิธีการที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ให้ค่าดีที่สุด คือละลายได้ต่ำที่สุด ซึ่งหมายถึงการไหลผ่านออกจากกระเพาะหมักไปลำไส้เล็กได้มากกว่า คณะนักวิจัยจึงเลือกวิธีนี้ในการทำผลิตภัณฑ์อินุลินไหลผ่าน

การศึกษาที่ 2 การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอินูลินไหลผ่านที่ระดับต่างๆ ต่อเชื้อแบคทีเรีย และการหมักโดยใช้ตัวอย่างจากมูลของโคนม ในหลอดทดลอง มีการใช้แป้ง 2 ระดับและอินูลินไหลผ่าน 4 ระดับ จัดแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์โดยกลุ่มทดลองแบบ 2 x 4 แฟคทอเรียล ซึ่งมีปัจจัยที่มีผลต่อระดับแป้ง (แป้ง 0% และแป้ง 1% ตามลำดับ) และปัจจัยจากระดับของอินูลินไหลผ่าน (0%, 1%, 2% และ 4% ตามลำดับ) โดยเก็บตัวอย่างมูลสดจากลูกโคสายพันธุ์เจอซี่จำนวน 3 ตัว หลังจากให้กินนม (อายุประมาณ 32 วันหลังคลอด) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ จะมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อปานกลาง + สารละลายจากมูลสด + อินูลินไหลผ่านระดับต่างๆ เพาะเลี้ยงหลอดทดลอง และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24, 48 ชั่วโมง ในตู้บ่มที่มีการเขย่าตลอดเวลา ซึ่งการหาปริมาณของ Total bacteria, Bifidobacterium, Clostridium difficile, *E. coli*, Lactobacillus และ Salmonella โดยใช้วิธี real-time PCR ที่เฉพาะเจาะจงการศึกษา พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของผลผลิตก๊าซทั้งหมดจากการหมักด้วยมูลกับอินูลินที่ 24 ชั่วโมงมีอัตราการเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง ในขณะเดียวกันเมื่อเพิ่มเปอร์เซนต์ของอินูลินไหลผ่านก็ส่งผลทำให้ปริมาณผลผลิตก๊าซสูงขึ้นตามไปด้วย และผลผลิตก๊าซเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น (ตั้งแต่ 0 ถึง 24 ชั่วโมง) ในทางตรงกันข้ามค่าพีเอชของการหมักมูลโคที่ 24 ชั่วโมงลดลงเป็นเส้นตรง ($P < 0.001$) เมื่อเพิ่มเปอร์เซนต์ของอินูลินไหลผ่าน ความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 24 และ 48 ชั่วโมง มีอิทธิพลต่อระดับอินูลิน สัดส่วนของอะซิเตทต่อโพรไพโอเนต (A / P) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงของการบ่ม การเสริมแป้ง (แป้ง 0% และแป้ง 1%) มีผลต่อค่า acetate, butyrate และ acetate to propionate ratio (A / P) ($P <0.001$) เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 24 ชั่วโมง แต่ที่ 48 ชั่วโมงไม่มีอิทธิพลต่อ butyrate, valerate และ iso-butyrate ปริมาณของ *E. coli*, Clostridium ที่บ่ม 24 ชม. และ *E. coli* ที่บ่ม 48 ชั่วโมง ปริมาณของ total bacteria, Bifidobacterium และ Lactobacillus เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรงเมื่อระดับอินูลินไหลผ่านเพิ่มขึ้น แต่ในทางกลับกันปริมาณเชื้อ *E. coli*, Clostridium ลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อระดับอินูลินไหลผ่านเพิ่มขึ้น การเสริมอาหารด้วยอินูลินทำให้ pH ลดลง อินูลินไม่ได้ระงับเชื้อ *E. coli* และ *C. difficile* ซึ่งเป็น

จุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายทำให้เกิดอาการท้องร่วง แต่ช่วยทำให้ปริมาณของ bifidobacterial และ lactobacillus เพิ่ม ขึ้นเมื่อระดับอินูลินไหลผ่านสูงขึ้น

การศึกษาที่ 3 เป็นการศึกษาผลของพรีไบโอติกของอินูลินไหลผ่านจากแก่นตะวันในแพะนม ใช้แพะเกิดใหม่สายพันธุ์ซาเนนจำนวน 22 ตัว (แฝดสองหรือแฝดสาม) และแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (มี 5 กลุ่มคือ กลุ่มที่1: นมแพะ, กลุ่มที่ 2: อินูลินไหลผ่าน 0% ในนมผงทดแทน, กลุ่มที่ 3: 0.1% อินูลินไหลผ่าน ในนมทดแทน กลุ่มที่ 4: 0.2% อินูลินไหลผ่านในนมทดแทน และกลุ่มที่ 5: อินูลินไหลผ่าน 0.3% ในนมผงทดแทน) แต่ละกลุ่มมี 4 ซ้ำ ลูกแพะทุกตัวจะได้รับนมน้ำเหลืองใน 7 วันแรกหลังคลอด และลูกแพะในกลุ่มที่ 3, 4, 5 ได้รับการเสริมด้วย 0.1%, 0.2% และ 0.3 ของอินูลินในนมผงทดแทน เมื่อลูกแพะอายุได้ 8 ถึง 90 วัน ตามลำดับ ผลคะแนนของมูลแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ในกลุ่ม พบความแตกต่างของคะแนนของมูลในลูกแพะที่อายุ 7 ถึง 56 วัน ($p < 0.05$) ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างของคะแนนของมูลในลูกแพะที่อายุ 70 ถึง 90 ($P > 0.05$) แพะในกลุ่มที่ได้รับนมแพะ 0.2 และ 0.3% อินูลินไหลผ่านในนมผงทดแทน มีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มที่ได้รับ 0 และ 0.1% อินูลินในนมผงทดแทน ที่ลูกแพะอายุ 35-90 วัน ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และค่าฮีมาโตคริต มีความคล้ายคลึงกันในทุกๆกลุ่ม พบว่า อินูลินไหลผ่าน มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ความยาวของลำไส้เล็กและลักษณะทางเดินอาหารของลูกแพะ ของการทดลองในทุกกลุ่ม ความยาวของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมและดูโอดีนัม มีแนวโน้มลดลงในลูกแพะที่เลี้ยงด้วยอินูลิน 0% (นมผงทดแทน) และมีค่าเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับนมแพะ 0.1, 0.2 และ 0.3% อินูลินไหลผ่านที่ผสมในนมผงทดแทน เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ($P < 0.05$)

**คำสำคัญ**: อินูลินไหลผ่าน แก่นตะวัน พรีไบโอติก โคนม แพะ

## Abstract

The purposes of the present study were to investigate the potential of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as an alternative prebiotic rumen by-pass inulin including methodology study. The objectives of this study are to investigate the effects of feeding by-pass inulin in milk replacer on selected health parameters and the incidence of diarrhea and immunology systems.

Experiment I. This study was to find ways to prevent the digestion of inulin by different methods. To find a way to prevent inulin digestion from rumen. The results showed that solubility in water and the solubility in the rumen of fistula dairy cows. It was found that the method that gave the best value was in the form of soap (saponification). Is the least soluble which means that it flows more from the stomach to the small intestine. The researchers then chose this method for making inulin products flowing through.

Experiment II. The objective of this study was to the effect of by-pass inulin from Jerusalem artichoke level on the abundance of bacteria and their fermentation using *in vitro* of calve fecal samples. Two levels of starch and 4 levels of by-pass inulin were a completely randomized design with a 2 x 4 factorial arrangement of treatments. Factors consisted of starch levels (0% starch and 1% starch respectively) and by-pass inulin levels (0%, 1%, 2% and 4% respectively). Fresh fecal samples were collected from 3 Jersey calves after feeding the milk. (approximately 32 days after birth). In the culture, sterile medium + fecal slurry + treatment these culture tubes were carried out in triplicate and incubated 37 $^{o}$C for 24, 48 h in a shaking incubator. Total bacteria, *Bifidobacterium*, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *Lactobacillus* and *Salmonell*a were quantified using respective specific real-time PCR assays. Volatile fatty acid (VFA) concentrations were analysis using gas chromatography. The pH values were recorded using a pH meter. Gas pressure was measured using a manometer. By-pass inulin, at present mainly from Kaentawan used in this study was increased the total gas production of fecal fermentation with by-pass inulin at the end of the 24 hr was increased linearly when increasing percent of by-pass inulin which is simultaneously reflected by the large increase in gas production at high percent of by-pass inulin and gas production when the time of incubation increase (from 0 to 24 hr). In contrast, the pH values of the fecal fermentation at 24 hr was decreased linearly ($P < 0.001$) with increasing percent of by-pass inulin. The VFA concentrations at the end of the 24 and 48 hr of incubation were influence the levels of by-pass inulin. The proportion of acetate to propionate ratio (A/P) was significantly at 24 and 48 hr of incubation. The addition of starch (0% starch and 1% starch) have influence acetate, butyrate and acetate to propionate ratio (A/P) ($P<0.001$) at the end of the 24 hr but at the 48 hr did not influence butyrate, valerate and iso-butyrate. The addition of 0% starch or 1% starch did not differ the abundance of *E. coli*, *Clostridium* at 24 hr and *E. coli*

at 48 hr incubation. The abundance of Total bacteria, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* abundance were increased linearly with increasing levels of by-pass inulin but abundance of *E. coli*, Clostridium were decreased linearly with increasing levels of by-pass inulin. In general, the reduction of intestinal pH is a positive outcome, as a more acidic environment might protect against undesirable and pathogenic bacteria. *In vitro* fermentation and animal studies have demonstrated that supplementing the diet with by-pass inulin decreased the pH. By-pass inulin did not suppress *E. coli* and *C. difficile* which are harmful microbes cause of diarrhea in the ruminant animals. But supported *bifidobacterial* and *lactobacillus* abundance comparable with high levels of inulin.

Experiment III. This study supplementation the prebiotic effects of dietary by-pass inulin from Jerusalem artichoke on young dairy goats. Twenty newborn Saanen kids were sorted by parity of their dams and multiple birth (twin or triplet) and assigned to the five groups (There are five dietary treatments as follows: Treatment 1: Goat milk, Treatment 2: 0% by-pass inulin in milk replacer, Treatment 3: 0.1% by-pass inulin in milk replacer, Treatment 4: 0.2% by-pass inulin in milk replacer and Treatment 5: 0.3% by-pass inulin in milk replacer) at birth. Each group in 4 replicates. All kids were fed colostrum for the first 7 days after birth, and then each kid in treatment 3, 4, 5 were supplemented with 0.1 %, 0.2 % and 0.3 inulin on day 8 to 90, respectively. Fecal score was different ($P < 0.05$) in groups. There were differences in fecal score on days 7 to 56 ($P < 0.05$), whereas no difference in fecal score on days 70 to 90 ($P > 0.05$) was detected in groups. During the current experiment general animal performance data also were collected. Animals fed on goat milk, 0.2 and 0.3% inulin in milk replacer had ( $P < 0.05$) higher body weight than animals fed on 0 and 0.1% inulin in milk replacer while the control treatment led to intermediate values at 35-90 days of age. Total Red Blood Cell, total White Blood Cell and haematocrit value were similar for all treatment. There were no differences ($P > 0.05$) in total Red Blood Cell, total White Blood Cell and haematocrit value in groups. To evaluate whether inulin influence intestinal morphology, these Length of small intestine and intestinal morphology of goat kids in intestines of experimental in all groups were measured. In jejunum and duodenum length of small intestine showed an overall tendency to be decreased in 0% inulin treated goat kid and to be increased in goat milk, 0.1, 0.2 and 0.3% inulin in milk replacer treated animals when compared to the another group ($P<0.05$). In the current study, Goat kids in 0% inulin in milk replacer had significantly higher CFU of fecal suspension for total clostridium, *E. coli*, *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* than kids in another treatment. The results of our study suggested that daily dose (0.3 %) of inulin might not be enough to observe effects of it.

**Keywords**: By-pass inulin, Jerusalem artichoke, prebiotic, dairy cow, goat

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในหัวแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) มีสารกลุ่มพรีไบโอติค (prebiotic) โดยเฉพาะอินูลิน (inulin) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสมีโมเลกุลยาว เป็นผงสีขาว ไม่มีรูปร่าง ซึ่งอินูลินในแก่นตะวันเป็นสารเยื่อใยที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่สัตว์เคี้ยวเอื้องมีความสามารถในการย่อยได้สูงกว่าร้อยละ 90 โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก บทบาทของอินูลินในระบบทางเดินอาหารคือทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacillus เจริญได้ดีและมีผลให้แบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารลดลง (Younes et al., 1995; Kaur and Gupta, 2002)

ดังนั้นแนวทางในการนำสารอินูลินจากแก่นตะวัน มาใช้ในส่วนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อให้ทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติคจึงมีความจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้มีการย่อยโดยจุลินทรีย์ในรูเมน (by-pass) ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีการพัฒนาเทคนิคดังกล่าว โดยหากสามารถป้องกันการย่อยในรูเมนได้ อินูลินจะสามารถออกฤทธิ์ที่ลำไส้และระบบทางเดินอาหารได้เช่นเดียวกับในสัตว์กระเพาะเดี่ยว แก่นตะวันมีถิ่นกำเนิดในเขตหนาวของประเทศสหรัฐอเมริกา แต่สามารถปลูก และปรับตัวได้ดีในสภาพเพาะปลูกของประเทศไทย การใช้ประโยชน์โดยใช้หัวเป็นอาหารคน และอาหารสัตว์ รวมทั้งการใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ จากรายงานการวิจัยของต่างประเทศ พบว่า การบริโภค แก่นตะวันจะไม่ถูกย่อยในกระเพาะ เป็นสารเยื่อใยอาหารที่ให้แคลลอรี่ต่ำ ช่วยลดความอ้วน ไม่เพิ่มปริมาณน้ำตาลในเลือด จึงไม่เป็นปัญหากับผู้เป็นโรคเบาหวาน ช่วยลด Cholesterol Triglyceride และ LDL ในร่ายกาย จึงลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นประโยชน์ต่อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น Bifidobacteria และ Lactobacilli แต่ลดกิจกรรมของแบคทีเรียก่อโรค เช่น Coliforms และ *E. Coli* จึงเป็นที่ยอมรับกันว่าแก่นตะวันเป็น Prebiotic ทำให้ภูมิคุ้มกันร่างกายดีขึ้น

การวิจัยในครั้งนี้จึงมีเป้าหมายหลักเพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass innulin from Kaentawan) เพื่อให้ไปออกฤทธิ์ที่ระบบลำไส้และทางเดินอาหารส่วนล่าง โดยจะทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ในตัวสัตว์ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูล และขยายระบบการผลิตโดยบริษัทที่มีเครื่องมือทันสมัย ต่อไป

**1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย**

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

1.2.1 เพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass inulin from Kaentawan)

1.2.2 เพื่อทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ได้แก่ โคนม และแพะนม ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูลที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย และประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

1.2.3 เพื่อขยายระบบการผลิตขนาดใหญ่โดยบริษัทที่มีเครื่องมือพร้อม

**1.3 สมมติฐานของการวิจัย**

การเสริมอินูลินไหลผ่านในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ในแพะ สามารถปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูลที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย และประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

**1.4 ขอบเขตของการวิจัย**

เสริมอินูลินไหลผ่านในอาหารแพะ พันธุ์ลูกผสมซาเนน ที่เลี้ยงภายใต้สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศในจังหวัดนครราชสีมา

**1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1.5.1 ได้วิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass inulin from Kaentawan)

1.5.2 ได้ผลการทดสอบเพื่อทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ได้แก่ โคนม และแพะนม ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูลที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย และประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

1.5.3 สามารถขยายระบบการผลิตขนาดใหญ่โดยบริษัทที่มีเครื่องมือพร้อม

# บทที่ 2

# ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 การเลี้ยงแพะนมในประเทศไทย

การเลี้ยงแพะนั้นสัมพันธ์กับชุมชนมุสลิมไทยมายาวนาน การกระจายของประชากรแพะมีความสัมพันธ์กับพื้นที่ที่ชาวไทยมุสลิมอาศัยอยู่ ภาคใต้และปริมณฑลของกรุงเทพฯ ภาคนมแพะนั้นค่อนข้างใหม่และเล็กเมื่อเทียบกับแพะเนื้อสัตว์สายพันธุ์อื่น การกระจายของแพะนั้นสัมพันธ์กับประชากรมากกว่าสภาพภูมิอากาศ ปัจจุบันจำนวนแพะรีดนมคาดว่าต่ำกว่า 5% ของจำนวนแพะทั้งหมดซึ่งมีอยู่ประมาณห้าแสนตัว การนำเข้าผลิตภัณฑ์นมแพะที่แปลกใหม่ของแพะพันธุ์ซาเนนคือในปี 1948 และพันธุ์แพะนมอื่น ๆ ที่นำเข้าโดย บริษัท เอกชนและหน่วยงานภาครัฐ แพะพันธุ์ซาเนนเป็นที่นิยมมากที่สุดในบรรดาแพะนม พันธุ์นมอื่น ๆ ที่พบในจำนวนน้อยคือ Toggenburg, อัลไพน์และแองโกล - นูเบียนและลูกผสมกับแพะพื้นเมืองของไทย (Sansak, 2016) อย่างไรก็ตามนมแพะไม่เป็นที่นิยมในช่วงเวลาของการแนะนำครั้งแรก ต่อมากรมพัฒนาปศุสัตว์ (DLD) นำเข้าแพะพันธุ์ซาเนนจากออสเตรเลียและเนเธอร์แลนด์เข้ามาในประเทศในปี 1984 - 1985 และนำเข้าจากต่างประเทศโดย บริษัท เอกชน

จำนวนและความนิยมของแพะนมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงสิบปีที่ผ่านมา จากการสำรวจประชากรปศุสัตว์โดยศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศ (DLD) ร้อยละ54ของแพะทั้งหมด 440,277 ตัวอยู่ในภาคใต้ของประเทศไทยซึ่งส่วนใหญ่เป็นแพะพื้นเมืองของไทย อย่างไรก็ตามภาคกลางของประเทศไทยบันทึกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการพัฒนาของฟาร์มแพะพาณิชย์เพื่อตอบสนองความต้องการในพื้นที่รอบกรุงเทพฯ สถิติล่าสุดแสดงให้เห็นว่าประมาณ 36% ของแพะในประเทศไทยอยู่ในภาคกลางและอีก 10% ที่เหลืออยู่ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การผลิตนมแพะค่อนข้างเล็กและมีเสถียรภาพโดยมีความเป็นไปได้ที่จะเติบโตช้า (Sansak and Suwit , 2014)

จำนวนเฉลี่ยของขนาดฟาร์มเลี้ยงแพะนมในประเทศไทยอยู่ที่ประมาณ 20-30 แพะต่อฟาร์ม (Sansak, 2016) ขนาดของฟาร์มเลี้ยงแพะนมนั้นแตกต่างกันไปตามภูมิภาคที่ใหญ่ที่สุดในภาคกลาง จากการสำรวจในปี 2554 พบว่าขนาดฟาร์มแพะในภาคกลางของประเทศไทยมีขนาดใหญ่กว่าส่วนอื่น ๆ ฟาร์มแพะนมในภาคกลางเฉลี่ย 43 ตัว / ฟาร์มเมื่อเปรียบเทียบกับภาคเหนือ 24 ตัว / ฟาร์ม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 14 ตัว / ฟาร์ม และภาคใต้ของประเทศไทย (ตั้งแต่ 5 ถึง 7 ตัวต่อฟาร์ม) ขนาดฟาร์มที่ใหญ่ขึ้นบ่งบอกถึงการดำเนินงานของฟาร์ม

เช่นกันว่าขนาดฟาร์มที่ใหญ่กว่ามีแนวโน้มที่จะใช้ระบบการทำฟาร์มแบบเข้มข้นมากขึ้น (Sansak and Suwit , 2014)

ผู้ผลิตนมแพะส่วนใหญ่มีอาชีพหลักอื่น ๆ เช่น สวนยางพาราหรือสวนปาล์มน้ำมันและสวนผลไม้ การผลิตนมแพะในประเทศไทยในแต่ละปีนั้นต่ำมากตั้งแต่สองถึงห้าพันตันต่อปีเมื่อเทียบกับนมวัวหนึ่งล้านตัน ราคานมแพะดิบในปี 2558 อยู่ที่ประมาณ 50 - 60 บาท ต่อกิโลกรัมซึ่งสูงกว่าประมาณสามเท่า

**2.2 ยาปฏิชีวนะในสัตว์**

ในความพยายามที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของโคนมแรกเกิด ยาต้านจุลชีพได้ถูกรวมเข้ากับสารทดแทนนมมานานกว่า 50 ปีมานานกว่า 50 ปี ยาต้านจุลชีพหมายถึงสารใดๆ ที่ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยาปฏิชีวนะเป็นสารที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ที่ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น ๆ (USDA, 2010) คำสองคำนี้มักใช้แทนกันได้

เนื่องจากผู้สนับสนุนการเจริญเติบโตของยาปฏิชีวนะในปี 1940 เป็นส่วนสำคัญของการผลิตปศุสัตว์ แม้ว่ากลไกที่แม่นยำของการส่งเสริมการเจริญเติบโต ที่เกิดจากตัวแทนยาต้านจุลชีพยังคงไม่ชัดเจนการใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารเป็นลักษณะที่กำหนดของการทำฟาร์มปศุสัตว์สมัยใหม่ ความกังวลที่เพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ และการถ่ายโอนจากสัตว์สู่มนุษย์ได้นำไปสู่การห้ามการส่งเสริมการเจริญเติบโตของยาปฏิชีวนะและการแสวงหาทางเลือกอื่น ๆ (Pancosma, 2016) อย่างไรก็ตาม ด้วยการรวมยาต้านจุลชีพจึงมีความกังวลเกี่ยวกับความต้านทานของแบคทีเรียต่อสารเหล่านี้

ทุกวันนี้มีความกังวลมากขึ้นต่อสุขภาพของประชาชนเกี่ยวกับผลที่ตามมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะในการผลิตปศุสัตว์มายาวนาน การใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตที่ถูกห้ามโดยสหภาพยุโรป (EU) ตั้งแต่ปี 2549 (กฎระเบียบหมายเลข EC 1831/20031) ตามผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพสัตว์และความปลอดภัยของอาหาร (EFSA, 2009) Fernando et al. (2007) ขึ้นอยู่กับผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ การกำจัดผู้ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้นำไปสู่ปัญหาการทำงานของสัตว์และการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์ของโรคสัตว์บางชนิด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นเร่งด่วนในการหาทางเลือกในการใช้ยาปฏิชีวนะโดยเฉพาะในสหภาพยุโรป (Papatsiros et al., 2012)

ในเดือนมิถุนายน 2553 องค์การอาหารและยาได้เผยแพร่ร่างแนวทางเพื่อแจ้งให้สาธารณชนทราบถึงการใช้ยาต้านจุลชีพที่มีความสำคัญทางการแพทย์เป็นประจำในอาหารสัตว์ที่ผลิตอาหาร รายงานระบุว่า “การดื้อยาต้านจุลชีพและความล้มเหลวที่เกิดจากการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพในมนุษย์นั้นเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญระดับโลก” FDA พบว่าการใช้ยาต้านจุลชีพที่สำคัญทางการแพทย์ในการผลิตอาหารสัตว์เพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพปริมาณอาหารที่สัตว์กินไม่เหมาะสม อย่างไรก็ตามการใช้งานที่เกี่ยวข้อง

กับการรักษาการป้องกันหรือการควบคุมโรคที่เฉพาะเจาะจงรวมถึงการรวมตัวกันในอาหารและน้ำถือเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับใช้ในการประกันสุขภาพของสัตว์ที่ผลิตอาหาร (US-DHHS, 2010) สิ่งนี้ถูกกล่าวว่ายาบางตัวถูกห้ามใช้ ยาอื่น ๆ มีข้อจำกัด ในการใช้งานและมีการกำหนดแนวทางที่เข้มงวดขึ้นสำหรับยาใหม่ที่ได้รับการอนุมัติสำหรับตลาด ผู้ที่อยู่ในตลาดได้รับการประเมินเพื่อประเมินผลกระทบของการต่อต้านยาต้านจุลชีพในมนุษย์

**2.2.1 ยาปฏิชีวนะในสัตว์เล็ก**

การใช้ยาทดแทนนมได้กลายเป็นวิธีปฏิบัติทั่วไปของผู้ผลิตโคนม (Visek, 1978) ส่วนยาต้านจุลชีพที่ใช้ในอาหารสัตว์เล็กด้วยเหตุผลหลายประการ ยาต้านจุลชีพในระดับ subtherapeutic แสดงให้เห็นว่าสามารถป้องกันควบคุมและรักษาการติดเชื้อในลำไส้ ในขณะที่ปรับปรุงการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการให้อาหาร โดยรวมในช่วงเวลาที่สำคัญในชีวิตของสัตว์ ในปี 2549 มีรายงานว่า 49.9% ของโคสาวทั้งหมดได้รับยาทดแทนนมในบางจุดก่อนหย่านม (USDA, 2007)

Donovan et al. (2002) รายงานว่านอกเหนือจากยาปฏิชีวนะเพื่อทดแทนนม หรือน้ำของลูกวัวอ่อนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพอาหารการเจริญเติบโตการบริโภคเริ่มต้นและประสิทธิภาพ phagocytic (Morrill et al., 1977) รายงานว่าการรวมยาปฏิชีวนะในนมโคทำให้ได้รับเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการบริโภคอาหารแม้ว่าจะไม่มีโรคทางเดินอาหาร Berge et al. (2005) รายงานว่าโคที่เลี้ยงยาทดแทนนม ลดความเจ็บป่วยโดยรวมและน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับโคที่เลี้ยงทดแทนนมที่ไม่ได้ใช้ยา Losinger et al. (1995) รายงานการลดลงของ enteropathogens ในขณะที่ทั้ง Quigley et al. (1997; 2002) รายงานการลดลงของความรุนแรงและระยะเวลาในการกำจัดสิ่งสกปรก ปรับปรุงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและปรับปรุงประสิทธิภาพโดยรวมของโคทดแทนนมเสริมด้วยยาปฏิชีวนะ

ในปี 2549 chlortetracycline และ oxytetracycline ร่วมกับ neomycin, decoquinate และ lasalocid เป็นสารต้านจุลชีพที่ได้รับการอนุมัติเพียงอย่างเดียวที่สามารถใช้ในยาทดแทนนม (USDA, 2007) มีรายงานว่า 49.5% ของการดำเนินงานใช้ oxytetracycline ร่วมกับ neomycin ในยาทดแทนนมและ oxytetracycline และ decoquinate ได้รับอาหารเกือบ 1 ใน 5 การดำเนินงาน (USDA, 2010)

**2.2.2 การพัฒนาความต้านทานยาต้านจุลชีพ**

Dibner and Richards (2005) ตั้งข้อสังเกตว่าเชื้อโรคเช่น Camplyobacter และ Salmonella สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหารและอาจเป็นสาเหตุของความเจ็บป่วยของมนุษย์. การให้ยาปฏิชีวนะแม้ในระดับที่ต่ำกว่าระยะเวลานานอาจทำให้แบคทีเรียในลำไส้กลายเป็นดื้อต่อยาปฏิชีวนะและเมื่อฆ่าแล้วแบคทีเรียที่ดื้อเหล่านี้สามารถเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์และทำให้เกิดโรคที่เป็นอันตรายจากเชื้อโรคที่ต้านทานต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะตามปกติ มันถูกบันทึกครั้งแรกในปี 1963 เมื่อระดับความต้านทานที่เพิ่มขึ้นถูกพบในสาย

พันธุ์เฉพาะของเชื้อ Salmonella typhimurium ในอาหารสัตว์หลายแห่งของอังกฤษ. ในช่วงระยะเวลาสามปีที่ผ่านมามีการแยกเชื้อดื้อต่อเชื้อหลายตัว (Dewey et al., 1997) นอกจากนี้ Kaneene et al. (2008) รายงานว่าการให้นมทดแทนนมที่ไม่ใช่ยามีความไวต่อยาต้านจุลชีพใน *E. coli* และ Salmonella เพิ่มขึ้นในขณะที่การให้นมเทียมทดแทนยานั้นมีความสัมพันธ์กับความอ่อนแอของเชื้อ *E. coli* และ Salmonella จากตัวอย่างอุจจาระ Langford et al. (2003) พบว่าความต้านทานของแบคทีเรียในลำไส้ต่อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเพนนิซิลินเพิ่มขึ้นในนมที่ป้อนเข้าสู่โคนม. อย่างไรก็ตาม Berge et al. (2005) ได้ข้อสรุปว่าการกำจัดยาปฏิชีวนะออกจากนมทดแทนอาจมีผลกระทบเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญต่อสุขภาพลูกโคในกรณีที่ไม่มีการถ่ายโอนภูมิคุ้มกันที่เพียงพอ

**2.2.3 ความต้านทานยาต้านจุลชีพ**

ประสิทธิภาพของยาต้านจุลชีพหรือการขาดประสิทธิภาพของยาในการรักษาโรคที่ยารักษาโรคได้รับการยอมรับก่อนหน้านี้หลังจากการใช้ยาปฏิชีวนะเริ่มแพร่หลาย (Kaneene et al., 2008) งานวิจัยชิ้นหนึ่งคาดการณ์ว่าค่าใช้จ่ายโดยตรงของโรงพยาบาลในการจัดการกับการดื้อยาปฏิชีวนะในสหรัฐอเมริกาอยู่ที่ ร้อยล้านดอลลาร์ถึง หมื่นล้านดอลลาร์ต่อปีและสำนักงานประเมินเทคโนโลยีประเมินในปี 1992 ว่าค่าใช้จ่ายโรงพยาบาลขั้นต่ำเพียง 5 ประเภทของการติดเชื้อในโรงพยาบาลเนื่องจากการดื้อยาปฏิชีวนะมีมูลค่า 4.5 พันล้านเหรียญสหรัฐต่อปี (US Office Tech, 1995) ตั้งแต่นั้นมาองค์กรด้านสุขภาพและการแพทย์หลายแห่งได้ตรวจสอบความเป็นไปได้ว่าการใช้ยาต้านจุลชีพใต้ผิวหนังสามารถเพิ่มระดับการดื้อยาปฏิชีวนะในสัตว์และมนุษย์ได้เช่นกัน. รายงานโดย Fey et al. (2000) และ Tollefson et al. (1999) แนะนำว่าการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างต่อเนื่องในการเลี้ยงสัตว์อาจช่วยเพิ่มความเสี่ยงของแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีความสำคัญทางการแพทย์. ผลิตภัณฑ์หลายตัวได้รับการทดสอบเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของการลดเชื้อแบคทีเรียในลำไส้และปรับปรุงประสิทธิภาพการให้อาหารในขณะที่ตระหนักว่าระบบลำไส้ทำงานได้อย่างเหมาะสมสามารถลดความชุกของการติดเชื้อในลำไส้ในลูกโค

## 2.3 ข้อมูลทั่วไปของ Jerusalem artichoke

แก่นตะวัน(*Helianthus tuberosus* L. ) ถิ่นกำเนิดในภูมิภาคกลางของอเมริกาเหนือสามารถปลูกได้ทั่วทั้งสหรัฐอเมริกาภายใต้อุณหภูมิและปริมาณน้ำฝนที่หลากหลาย. ชนเผ่าอินเดียนอเมริกาเหนือหลายคนใช้ แก่นตะวันเป็นอาหาร แก่นตะวันจากอเมริกาเหนือไปฝรั่งเศสในปี 1605 ในช่วงกลางปี 1600 มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในฐานะอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์เลี้ยงที่นั่น (Cosgrove et al., 2016)

(a) (b)

**รูปที่ 2.1** (a) แก่นตะวัน flower (b). แก่นตะวัน tuber

ที่มา: (a) http://www.rainamthip.com/default.asp?content=spagedetail&cid=9512

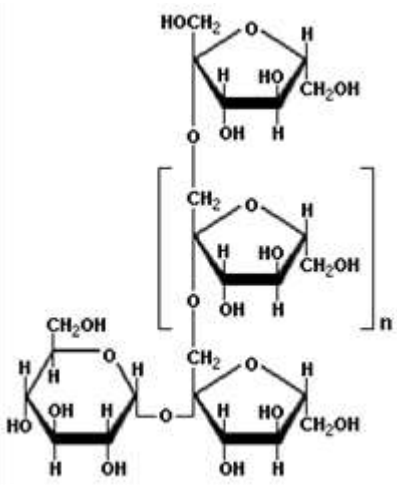
(b) http://bookmuey.com/?page=Jerusalem_Artichoke.html&admintool=no

แก่นตะวันเป็นพืชสมุนไพรกินที่หัวของมัน แก่นตะวันมีส่วนประกอบที่สำคัญ อินูลิน fructooloigosaccharide (FOS) โปรตีนเส้นใยแคลเซียมและฟอสฟอรัส แก่นตะวันสามารถปรับให้เข้ากับสภาพการเจริญเติบโตในประเทศไทยและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มการปลูกทั้งสำหรับอาหารของมนุษย์และผลพลอยได้หรือผลิตภัณฑ์ร่วมสำหรับสัตว์ หัวของมันมีปริมาณใยอาหารสูง คือ อินูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (15.28 และ 5.96 กรัม / 100 กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ) (Tanjor et al., 2012) แก่นตะวันมีอินูลินและ FOS ประมาณ 15-20% และถือว่าเป็นพรีไบโอติกซึ่งได้รับการเสนอเพื่อปรับปรุงสุขภาพโดยการกระตุ้นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ อินูลินเป็นคาร์โบไฮเดรตในรูปของฟรุกแทน มันเป็นแหล่งใยอาหารที่ไม่ย่อยในระบบย่อยอาหารใน (กระเพาะอาหารและลำไส้) สัตว์กระเพาะเดี่ยวหรือมนุษย์

ดังนั้นอินูลินจะตกอยู่ในลำไส้ใหญ่และมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย มันเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพเช่น Lactobacillus และ Bifidobacteria (Younes et al., 1995; Kaur and Gupta, 2002)

## 2.4 ข้อมูลทั่วไปของอินูลิน

อินุลินถูกค้นพบครั้งแรกในฐานะ "สารแปลกประหลาด" โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน Rose ในปี 1804 จากการสกัดน้ำร้อนจากรากของพืช เป็นของตระกูล Compositae ต่อมาคำว่า "อินูลิน" พบสูตรโครงสร้างจากทอมสันในปี 1818 โดยทางเคมีมันเป็นฟรุกโตสที่ประกอบด้วยหน่วยฟรุกโตสที่เชื่อมโยงกันโดยพันธะ $\beta$ - 2, 1 (รูปที่ 2.2)



**รูปที่ 2.2** โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบอินูลิน

ที่มา: http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html

อินูลินแสดงด้วยสูตรทั่วไป GFn ขณะที่ oligofructose โดย Fm และ / หรือ GFn; 'G' คือหน่วย glucosyl 'F' เป็นหน่วย fructosyl 'n' คือจำนวนหน่วยฟรุกโตสที่เชื่อมโยงกับหน่วยกลูโคสเทอร์มินัลและ 'm' คือจำนวนหน่วยฟรุกโตสที่เชื่อมโยงซึ่งกันและกันในห่วงโซ่คาร์โบไฮเดรต (Franck, 2000 Niness, 1999) ในกรณีของอินูลิน 'n' มากกว่า 2 และน้อยกว่า 60 Oligofructose ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสบางส่วนของอินูลินอาจเป็นส่วนผสมของโมเลกุลทั้ง GFn และ Fm ที่มี DP แตกต่างกันตั้งแต่ 2 ถึง 7 หรือ 8 to10 ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ แบรนด์ (Franck, 2000) อย่างไรก็ตามเพียงแค่ GFn type oligofructose สามารถผลิตได้จากอินูลินโดยการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์หรือโดย transfructosylation ของโมเลกุลซูโครสต่อหน้า fructosyl transferase (Sangeetha et al., 2005) ในอินูลินชิกโครีจำนวนหน่วยฟรุกโตสที่เชื่อมโยงกับเทอร์มินอลกลูโคสอาจแตกต่างกันตั้งแต่ 2 ถึง 70 โดยวิธีการของเอนโดอินนูเลสอินูลินจะถูกไฮโดรไลซ์เป็น DP ระหว่าง 2 และ 8 (ค่าเฉลี่ย DP = 4) เรียกว่า oligofructose ( Bosscher et al., 2009) การยืดตัวครั้งแรกของซูโครสกับหนึ่งฟรุกโตสโมเลกุลนำไปสู่การสร้าง fructooligosaccharides เรียกว่า 1-kestose และการยืดตัวต่อไปนำไปสู่การผลิต 1-nystose และอื่น ๆ (Samanta et al., 2010). ระดับการเกิดพอลิเมอไรเซชัน (DP) หมายถึงจำนวนหน่วยที่ทำซ้ำ (ฟรุกโตส) ที่มีอยู่ในอินูลิน prebiotic หรือ oligofructose และขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของพืชระยะการเจริญเติบโตสภาพภูมิอากาศกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวเป็นต้น. อินูลินอาจมีปริมาณ Fm fructans (F2) เล็กน้อยแม้ว่า GFn fructans ที่มี DP ตั้งแต่ 2 ถึง 60 นั้นมีความโดดเด่น

อินูลิน เป็น polydisperse non-starch polysaccharide ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในรูปของคาร์โบไฮเดรตเก็บรักษาในพืช 36,000 ชนิด (Patkai and Barta, 2002) และรายการรวมถึงรากของสีน้ำเงิน (15-20%), burdock (3.5 -4%), salsify ( 4-11%), yacon (3-19%), murnong (8-13%), หัวหอมใหญ่ (2-6%), กระเทียม (9-16%),

กระเทียม (3-10%), camas ( 12-22%) แก่นตะวัน(16-20%), ใบของดอก dandelion (12-15%), artichoke (3-10%) นอกเหนือไปจากธัญพืชและผลไม้ ในปัจจุบันอินูลินส่วนใหญ่ผลิตจากรากของ chicory ซึ่งมีความยาวโซ่ตั้งแต่ 2 ถึง 60 โดยมีระดับเฉลี่ยของการเกิดพอลิเมอไรเซชัน 10. Oligofructose ทำจากโมเลกุลฟรักโทส 2 ถึง 8 โมเลกุลซึ่งเชื่อมโยงกับกลูโคสอย่างสมบูรณ์ การปรากฏตัวของβ-2,1- พันธะ osidic ทั้งอินูลินหรือโอลิโกฟรุคโตสทำให้พรีไบโอติกย่อยไม่ได้โดยเอนไซม์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Gibson et al., 2004)

Silva (1996) รายงานว่า อินูลิน สามารถละลายน้ำได้การละลายขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ที่ 10 ° C ความสามารถในการละลายของมันอยู่ที่ประมาณ 6% ในขณะที่ 90 ° C นั้นจะอยู่ที่ประมาณ 35% แก่นตะวันหัวใต้ดินที่มีอินูลิน 14–19% สามารถเป็นแหล่งที่มีคุณค่าของอินูลิน (Vanloo et al., 1995).เนื่องจากβ (2,1) -bonds มีความทนทานต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์และสัตว์ monogastric เมื่ออินูลินที่ไม่ได้แยกออกไปถึงลำไส้ใหญ่จะถูกหมักด้วยจุลินทรีย์คอโลนิกซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางกลุ่ม ดังนั้นอินูลินจึงถือว่าเป็นพรีไบโอติกตามแบบฉบับ (Fischbein, 1988; Niness, 1999; Roberfroid, 1998; Wang and Gibson, 1993; Hakan ÖZTÜRK, 2008) อินูลินถูกนำมาใช้อย่างประสบความสำเร็จในสัตว์ monogastric แต่ไม่ได้อยู่ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่ของสัตว์ monogastric นั้นเหมือนกับกระบวนการที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนน้อยที่ตรวจสอบผลกระทบโดยตรงของอินูลินต่อการเผาผลาญในกระเพาะรูเมน (Hakan ÖZTÜRK, 2008)

อินูลินประเภท fructans เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีการบันทึกไว้อย่างดีที่สุดสำหรับผลกระทบต่อบิฟีโดแบคทีเรียในลำไส้และถือว่าเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญ prebiotic (Vos et al., 2006) อินูลินไม่เพียงมีความสำคัญเนื่องจากคุณสมบัติแคลอรี่ต่ำ แต่ยังเป็นเพราะปัจจัย 'บิฟีด' ซึ่งหมายถึงกฎระเบียบของพืชในลำไส้ เมื่อเร็ว ๆ นี้อินูลินถูกระบุว่าเป็นส่วนผสมสำหรับการทดแทนไขมันหรือน้ำตาล เนื่องจากคุณสมบัติเหล่านี้อุตสาหกรรมอาหารและยาได้พบการใช้งานสำหรับอินูลินในการผลิตอาหารที่ใช้งานได้คอมโพสิตทางโภชนาการและยา มันทำหน้าที่ในสิ่งมีชีวิตในลักษณะที่คล้ายกันกับเส้นใยอาหารซึ่งมีส่วนช่วยในการปรับปรุงสภาพระบบทางเดินอาหาร (Roberfroid et al., 1993)

Marchetti (1993); Gaafar et al. (2010) รายงานว่า อินูลินเป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติที่ไม่สามารถย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ในลำไส้เพราะมันมีการเชื่อมโยง β (2-1) ซึ่งไม่ได้ถูกย่อยสลาย ดังนั้นจึงถือได้ว่าเป็นเส้นใยที่ปราศจากแคลอรี่แม้ว่าแคลอรี่บางอย่างอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการหมักที่ย่อยได้ของผลิตภัณฑ์ในลำไส้ใหญ่

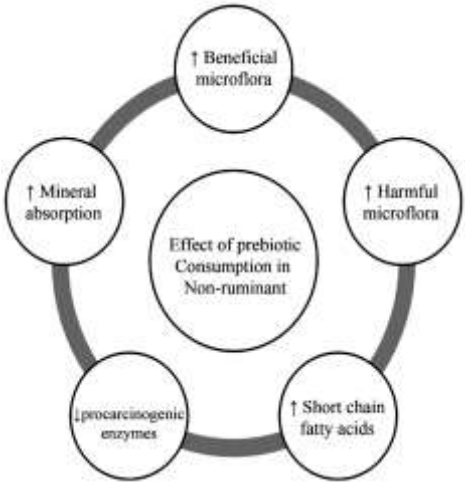
Fructooligosaccharides (FOS) และอินูลินประกอบไปด้วยโซ่สั้น ๆ ของโมเลกุลฟรุกโตส (Roberfroid, 1993) การบริหาร FOS หรืออินูลินสามารถทำหน้าที่เป็นอาหาร (Cieoelik et al., 2002) สำหรับและเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria, lactobacilli และแบคทีเรียที่ผลิต butyrate บางอย่าง (Hold et al., 2003) ในลำไส้ใหญ่ใน

ขณะเดียวกันลดประชากรที่เป็นอันตราย แบคทีเรียเช่นกลุ่ม Clostridium perfringens (Gibson et al., 1995). ผลประโยชน์อื่น ๆ ที่ระบุไว้กับ FOS หรือการเสริมอินูลินรวมถึงการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่เป็นประโยชน์เช่น butyrate การดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมที่เพิ่มขึ้นและการกำจัดสารพิษที่ปรับปรุงแล้ว (Tomomatsu, 1994; Van den Heuvel et al., 1999; Yildiz et al., 2006)

Inulin, oligofructose และ FOS นั้นถูกเผาผลาญอย่างสมบูรณ์โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักคือแก๊ส (เช่นคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน) แลคเตทและกรดไขมันสายสั้น (รวมถึงอะซิเตทโพรพิโอเนต และบิวเทรต) ความเข้มข้นของไฮโดรเจนที่เพิ่มขึ้นสามารถสังเกตได้จากการทดสอบไฮโดรเจนในลมหายใจ. การหมักแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ของพรีไบโอติกชนิดอินูลินและผลพลอยได้จากการผลิตทำให้เป็นกรดเนื้อหาของโคโลนิกเพิ่มชีวมวลแบคทีเรีย (และมวลอุจจาระ) และปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของจุลินทรีย์ ผลการกระตุ้นเบื้องต้นของพรีไบโอติกต่อระบบนิเวศของลำไส้คือการกระตุ้นการเติบโตของสายพันธุ์ Bifidobacteria แม้ว่า inulin, oligofructose และ FOS เป็น bifidogenic ผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในลำไส้อื่น ๆ รวมถึงสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคจะไม่สอดคล้องกัน นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างอย่างมากของความแปรปรวนแบบ intra-individual ในการตอบสนองของ bifidogenic และ anaerobe ต่อพรีไบโอติกชนิดอินูลิน (Greg Kelly, 2008)

**2.5 ภาพรวมของอินูลินในสัตว์**

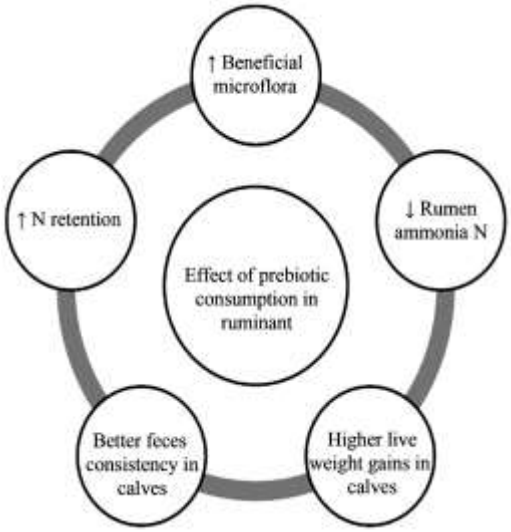
เมื่อแรกเกิดระบบย่อยอาหารของแพะหนุ่มจะคล้ายกับของหมูและมนุษย์ (อธิบายคำว่า preruminant) ในระหว่างระยะแรกของการให้นม, abomasum (กระเพาะอาหารที่แท้จริง) และลำไส้เล็กมีบทบาทค่อนข้างสำคัญเกี่ยวกับการย่อยอาหารและโภชนาการ ในแพะที่อายุน้อยและสัตว์เคี้ยวเอื้องอื่น ๆ ตัวสะท้อนการดูดนมจะกระตุ้นร่อง oesophageal ให้ปิดเพื่อให้น้ำนมไหลผ่านกระเพาะรูเมนและไหลโดยตรงไปยัง abomasum ซึ่งการแข็งตัวของเลือดและการย่อยอาหารบางอย่างเกิดขึ้น โปรตีนนมจะถูกย่อยอย่างรวดเร็วในลำไส้เล็กเช่นเดียวกับแลคโตส หากร่องหลอดอาหารไม่ปิดลงไม่ว่าด้วยเหตุผลใดก็ตาม น้ำนมจะเข้าไปในกระเพาะรูเมนซึ่งเป็นการหมัก ทำให้เกิดปัญหาย่อยอาหาร (Anita O'Brien., 1998)




**รูปที่ 2.3** แผนผังไดอะแกรมที่มีผลต่อการบริโภคพรีไบโอติกใน non-ruminants
ที่มา: Samanta et al. (2013)

Samanta et al. (2013) รายงานว่า foregut และ hindgut มีกลุ่มจุลินทรีย์หลายล้านกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย, เชื้อรา, ยีสต์, อนุภาค phage, archaea และอื่น ๆ ยกเว้นโปรโตซัวที่ควรจะอยู่ที่ foregut และขาดที่ hindgut พรีไบโอติกถูกหมักด้วยจำนวนแบคทีเรียรูเมนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Cota and Whitefield, 1998; Samanta et al., 2012) ผลการส่งเสริมพรีไบโอติกต่อสุขภาพของมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบนิเวศจุลินทรีย์ในลำไส้ได้กระตุ้นให้นักวิจัยสัตว์เคี้ยวเอื้องสำรวจศักยภาพของสัตว์สายพันธุ์ต่าง ๆ เช่นวัวควายแกะ ฯลฯ. สัตว์เคี้ยวเอื้องจะเผชิญกับความเครียดที่แตกต่างกันในโอกาสต่าง ๆ เช่น การหย่านม การขนส่ง ซึ่งส่งผลเสียต่อสุขภาพของปศุสัตว์ทำให้เกิดอาการท้องร่วงจากการเลี้ยงการป้อนการหดหู่ของการเจริญเติบโตสัณฐานวิทยาในลำไส้บกพร่องภายใต้สถานการณ์เช่นนี้การรักษาระบบนิเวศด้วยพรีไบโอติกอาจเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพในการเอาชนะปัญหาที่เกี่ยวข้องกับลำไส้ของปศุสัตว์ ปัจจุบันมีข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของพรีไบโอติกในสัตว์เคี้ยวเอื้องแบคทีเรียเฮมิเซลลูโลสทั้งหมดในกระเพาะรูเมนสามารถใช้ xylooligosaccharides เป็นสารตั้งต้นในการเจริญเติบโต (Cota and Whitefield, 1998) เหล่านี้คือ *Butyrovibrio fibrisolvens, Eubacterium ruminantium, Ruminococcus albus* เป็นต้น pH ของกระเพาะรูเมนยังคงไม่เปลี่ยนแปลง (6.7) เมื่อให้ prebiotic กับโคโฮลสไตน์ที่เก็บรักษาในหญ้าหมักในสวนหญ้าหรือหญ้าหมักหญ้าชนิตอัลฟัลฟา (Santoso et al., 2003) ในสายพันธุ์สัตว์เคี้ยวเอื้องค่าพีเอชข้างต้น (6.6 ถึง 6.8) เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตและการคูณของสารชีวโมเลกุลที่มีประโยชน์ของพืชที่ย่อยสลายแบคทีเรีย (Samanta et al., 2003) นักวิจัยบางคนไม่สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของ pH ในกระเพาะรูเมนในส่วนที่เสริมด้วย prebiotics อย่างไรก็ตามพวกเขาบันทึกศักยภาพการลดการเกิดออกซิเดชันที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Mwenya et al., 2004) ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนนั้นลดลงเล็กน้อยในพรีไบโอติกเสริมโคโฮลสไตน์และไกด์ซึ่งอาจเกิดจากการใช้

แอมโมเนียสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Mwenya et al., 2005; Santoso et al., 2003) ความเข้มข้นของแอมโมเนียลดลงในแกะนั้นเป็นผลมาจากการให้พรีไบโอติกซึ่งอาจเป็นเพราะการยับยั้งการผลิตแอมโมเนียแบคทีเรีย (Mwenya et al., 2004) การบริโภควัตถุแห้งการย่อยได้ของสารอาหารไม่ได้รับผลกระทบจากการเสริมพรีไบโอติก แต่มีการกักเก็บไนโตรเจนสูงกว่าเนื่องจากการสังเคราะห์โปรตีนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Santoso et al., 2003) การรวมอินูลินในนมทดแทนลูกวัวก่อนเคี้ยวเอื้องนำไปสู่การเพิ่มน้ำหนักตัวที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญอุจจาระดีขึ้น (Kaufhold et al., 2000; Verdonk และ Van Leeuwen, 2004) มีการสันนิษฐานว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการหมักที่ลำไส้เล็กเพิ่มขึ้นตามด้วยการเพิ่มการไหลของไนโตรเจนจุลินทรีย์ที่ลำไส้ใหญ่ลำไส้องค์ประกอบที่มีความเสถียรของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ (Verdonk et al., 1998) การหมักอินูลินนั้นเร็วกว่าที่ pH 6.0 มากกว่าที่ pH เป็นกลางโดย inoculums ในกระเพาะรูเมนที่ได้จากแกะที่เก็บรักษาในอาหารสัตว์เพียงอย่างเดียว (Flickinger et al., 2003) การได้รับอาหารเสริมลูกโคที่ได้รับ oligofructose นั้นส่งผลให้ประชากรอุจจาระอีโคไลและจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนลดลงในขณะที่ประชากร Bifidobacteria มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Bunce et al., 1995a) นี่อาจเป็นผลมาจากผลประโยชน์ที่ได้จากการบริโภคพรีไบโอติคตามด้วยการหมักที่ลูกโค การรวมตัวกันของ oligofructose ในโคนมลูกวัวส่งผลให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารด้วยการลดอุบัติการณ์ของโรคท้องร่วงและอุจจาระแน่น (Mul, 1997) การรวมตัวกันของ fructooligosaccharides ที่ความเข้มข้น 0.5% ถึง 1% ของการปันส่วนรวม (w / w) ช่วยเพิ่มอินทรียวัตถุและการย่อยได้ของวัตถุแห้งของการปันส่วนทั้งหมดโดยอาศัยการมอดูเลตเมตาบอลิซึมโปรไฟล์ (Samanta et al., 2012)




**รูปที่ 2.4** แผนผังแผนผังผลของการบริโภคพรีไบโอติกในสัตว์เคี้ยวเอื้อง
ที่มา: Samanta et al. (2013)

**2.6 โปรไบโอติกในสัตว์เคี้ยวเอื้อง**

แนวคิดของโปรไบโอติกถูกเสนอมากว่า 100 ปีแล้วโดย Elie Metschnikoff ผู้เสนอว่าแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์นมหมักอาจควบคุมการหมักแบคทีเรียในทางเดินอาหาร มีผลส่งเสริมสุขภาพ (Metchnikoff, 1908) โปรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีแบคทีเรียหรือยีสต์ และการใช้สิ่งเหล่านี้อยู่บนพื้นฐานของแนวคิดที่ว่าการให้อาหารจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ที่อยู่ภายใต้สภาวะเครียดอาจป้องกันไม่ให้เกิดจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในขณะเดียวกัน สุขภาพและประสิทธิภาพ (Gaggia et al., 2010) โปรไบโอติกทำหน้าที่ส่วนใหญ่ผ่านการปรับเปลี่ยนของประชากรแบคทีเรียในลำไส้และประสิทธิภาพของพวกเขาขึ้นอยู่กับสถานะของจุลินทรีย์ของสัตว์และสัตว์แต่ละตัว

โปรไบโอติกโดยทั่วไปจะแนะนำในโภชนาการของสัตว์เคี้ยวเอื้องเมื่อใดก็ตามที่มีความเสี่ยงของการทำงานของกระเพาะรูเมนเพื่อปรับปรุง anaerobiosis รักษาค่า pH ให้คงที่และจัดหาสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมแบบไมโคร แนะนำให้ใช้โปรไบโอติกในสัตว์เคี้ยวเอื้องเล็ก (Ellinger et al, 1978, Bruce et al. 1979) เพื่อป้องกันอาการท้องร่วงที่เกิดจากแบคทีเรีย enterotoxigenic ในลำไส้และในช่วงระยะเวลาหย่านมเพื่อเพิ่มอัตราการสร้างพืชและสัตว์ในท้องทุ่ง แลคโตบาซิลลัส acidophilus เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับแลคโตบาซิลลัสอื่น ๆ ได้รับการแสดงเพื่อลดการกำจัดสิ่งสกปรกและเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของน่องในการทดลองบางอย่าง (Bechman et al., 1977; Beeman , 1985)

**ท้องร่วงในสัตว์เคี้ยวเอื้องเล็ก (แรกเกิด)**

ท้องร่วงหมายถึงความถี่ที่เพิ่มขึ้นความลื่นไหลหรือปริมาณอุจจาระขับถ่าย. อุจจาระอาจมีเลือดหรือเมือกและส่งกลิ่น. สีของอุจจาระอาจผิดปกติ อย่างไรก็ตามมันเป็นไปไม่ได้ที่จะตรวจสอบสิ่งมีชีวิตที่ติดเชื้ออย่างแน่นอนโดยดูที่สีหรือกลิ่นของอุจจาระ การระบุที่ชัดเจนต้องใช้ตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

แม้จะมีการปรับปรุงวิธีปฏิบัติด้านการจัดการและการป้องกันและรักษา แต่โรคท้องร่วงก็ยังคงเป็นโรคที่พบได้บ่อยและมีค่าใช้จ่ายสูง การศึกษาที่สถาบันทดลองแกะในสหรัฐอเมริกา (Dubois, ID) แสดงให้เห็นว่าท้องร่วงคิดเป็นสัดส่วน 46 เปอร์เซ็นต์ของการเสียชีวิตของลูกแกะ. ท้องร่วงในลูกแกะและแพะเป็นโรคที่ซับซ้อนหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสัตว์, สิ่งแวดล้อม, โภชนาการและสารติดเชื้อ. สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในลูกแกะและเด็กในช่วงเดือนแรกของชีวิตคือ *E. Coli*, rotavirus, *Cryposporidum sp*. และ *Salmonella sp., E. coli* scours พบมากที่สุด (Susan Schoenian, 2007)

***E coli***

*E. coli* เป็นสาเหตุของแบคทีเรียที่สำคัญที่สุดของการท้องเสียในลูกวัวในช่วงสัปดาห์แรกของการมีชีวิต มีอย่างน้อยสองประเภทที่แตกต่างกันของโรคท้องร่วงเกิดจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกันของสิ่งมีชีวิตนี้. ซึ่ง

เกี่ยวข้องกับ enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งมีสองปัจจัยความรุนแรงที่เกี่ยวข้องกับการเกิดของโรคท้องร่วง. แอนติเจนของ Fimbrial ช่วยให้พวกมันสามารถยึดติดกับและ villi ของลำไส้เล็กของลูกวัวแรกเกิดในวันแรกของการมีชีวิต. สายพันธุ์ในลูกวัวส่วนใหญ่มี K99 (F5) หรือ F41 แอนติบอดี fimbrial หรือทั้งสองอย่าง. แอนติเจนเหล่านี้เป็นจุดสนใจของการป้องกันทางภูมิคุ้มกัน enterotoxigenic E coli ยังทำรายละเอียดเกี่ยวกับ enterotoxin (Sta) ที่ไม่สามารถทนความร้อนได้ซึ่งมีอิทธิพลต่อไอออนในลำไส้และการหลั่งของเหลวเพื่อสร้างอาการท้องร่วงที่ไม่มีการอักเสบ ท้องร่วงในลูกวัวและลูกแกะยังมีความสัมพันธ์กับ enteropathogenic *E. coli* ซึ่งเป็นไปตามลำไส้ในการผลิตที่เรียกว่าการแนบและการสูญเสียของโครงสร้าง microvillous ที่บริเวณที่แนบมาลดกิจกรรมของเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงของการขนส่งไอออนในลำไส้ enteropathogens เหล่านี้เรียกอีกอย่างว่า "การแนบและทำให้เกิด *E. coli* verotoxin ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับท้องร่วงเลือดออกรุนแรงมากขึ้น. การติดเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นและลำไส้ใหญ่ แต่ลำไส้เล็กส่วนปลายอาจได้รับผลกระทบ ความเสียหายในการติดเชื้ออย่างรุนแรงอาจส่งผลให้เกิดอาการบวมน้ำและการกัดกร่อนของเยื่อเมือกและแผลที่นำไปสู่การตกเลือดในลำไส้เล็ก (Gruenberg et al., 2014)

*E. coli* scours เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมที่สกปรกและการสุขาภิบาลที่ไม่ดี จะเห็นได้ในลูกแกะอายุน้อยกว่า 10 วัน แต่พบได้บ่อยที่สุดในช่วงอายุ 1 ถึง 4 วัน เป็นโรคระบาดในลูกแกะ ระหว่าง 12 และ 48 ชั่วโมง

ยาปฏิชีวนะใช้สำหรับรักษาและป้องกันเชื้อ *E. coli* scours การใช้ neomycin ในลูกแกะที่ปรากฏเป็นปกติอาจหยุดการลุกลามของโรคได้ การได้รับน้ำนมเหลืองที่เพียงพอจากตอนแรกเกิดจะลดอัตราการเกิดโรค (Schoenian, 2007)

Abe et al. (1995) รายงานการเพิ่มของโปรไบโอติกในอาหารของลูกวัว pre-weaned เพิ่มน้ำหนักของร่างกายและลดอุบัติการณ์ของ scours Agarwal et al. (2002) พบการลดลงของอุบัติการณ์ของอาการท้องร่วงในลูกวัวที่เลี้ยงด้วยนมหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกหรือ *L. acidophilus* 15 หรือ *S. cervisae* NCDC49 Adams et al. (2008) พบการปรับปรุงในการเพิ่มน้ำหนักและการพัฒนากระเพาะรูเมนในลูกอ่อนที่เสริมด้วยแบคทีเรียและยีสต์สายพันธุ์ตรงกันข้ามกับ Topping et al. (2003) ที่รายงานว่าไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของลูกวัวแรกเกิดเมื่อรวมโปรไบโอติกในนมทดแทน ข้อบกพร่องของโปรไบโอติกคือมีเพียงส่วนเล็ก ๆ ของสิ่งมีชีวิตที่กินถึงลำไส้ไม่บุบสลายเนื่องจากทางเดินผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก (Topping et al., 2003)

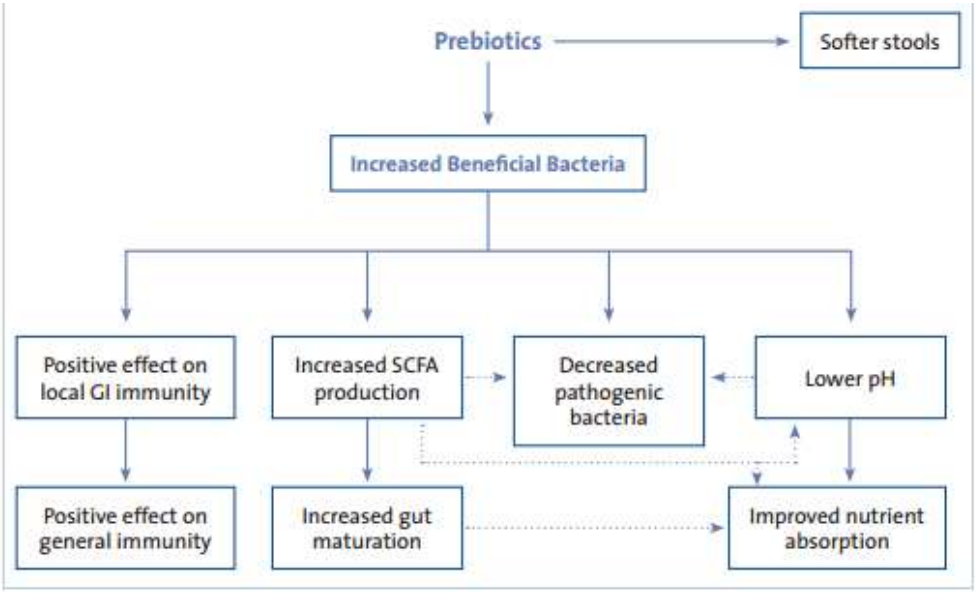
*Clostridium perfringins* ประเภท A, B, C และ D สามารถทำให้เกิดอาการท้องร่วงในลูกแกะแม้ว่า D เป็นตัวที่พบบ่อยที่สุด สำหรับประเภท D การเริ่มมีอาการทางระบบประสาทตามมาด้วยการตายกะทันหันนั้นพบ

ได้บ่อยในแกะในขณะที่แพะมีแนวโน้มที่จะแสดงอาการท้องร่วงก่อนตาย การรักษาไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ แต่ประกอบด้วยการดูแลอย่างจริงจังและการสนับสนุนของแอนติท็อกซิน

*Clostridium perfringens* type C มีแนวโน้มที่จะส่งผลกระทบต่อลูกแกะที่อายุน้อยมาก (<2 สัปดาห์ที่อายุน้อยกว่า) และแสดงตัวว่าเป็นโรคท้องร่วง ทำให้ลำไส้อักเสบ Clostridial สามารถป้องกันได้ง่ายในลูกสัตว์โดยการฉีดวัคซีนที่ตั้งครรภ์ประมาณสามสัปดาห์ก่อนการคลอดและการฉีดวัคซีนครั้งต่อไป การให้ลูกสัตว์กินน้ำนมเหลืองที่เพียงพอจึงเป็นสิ่งสำคัญ

**2.7 ภาพรวมของพรีไบโอติก**

คำว่า 'พรีไบโอติก' ถูกกำหนดเป็นครั้งแรกในปี 2538 โดย Gibson and Roberfroid ว่าเป็น 'ส่วนประกอบอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและ / หรือกิจกรรมของแบคทีเรียจำนวนหนึ่งหรือ จำกัดในลำไส้ใหญ่ เมื่อการวิจัยดำเนินไปแล้วเกณฑ์ที่ได้รับการยอมรับ สามเกณฑ์คือส่วนผสมอาหารที่ควรทำก่อนที่จะจัดเป็น prebiotic ประการแรกไม่ควรย่อยและทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร การย่อยสลายโดยเอนไซม์ทางเดินอาหาร การดูดซึม ประการที่สองควรจะหมักและประการที่สามควรเลือกวิธีการกระตุ้นการเจริญเติบโตและ / หรือกิจกรรมการเผาผลาญของแบคทีเรียในลำไส้ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพและความเป็นอยู่ที่ดี




**รูปที่ 2.5** ประโยชน์ของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ

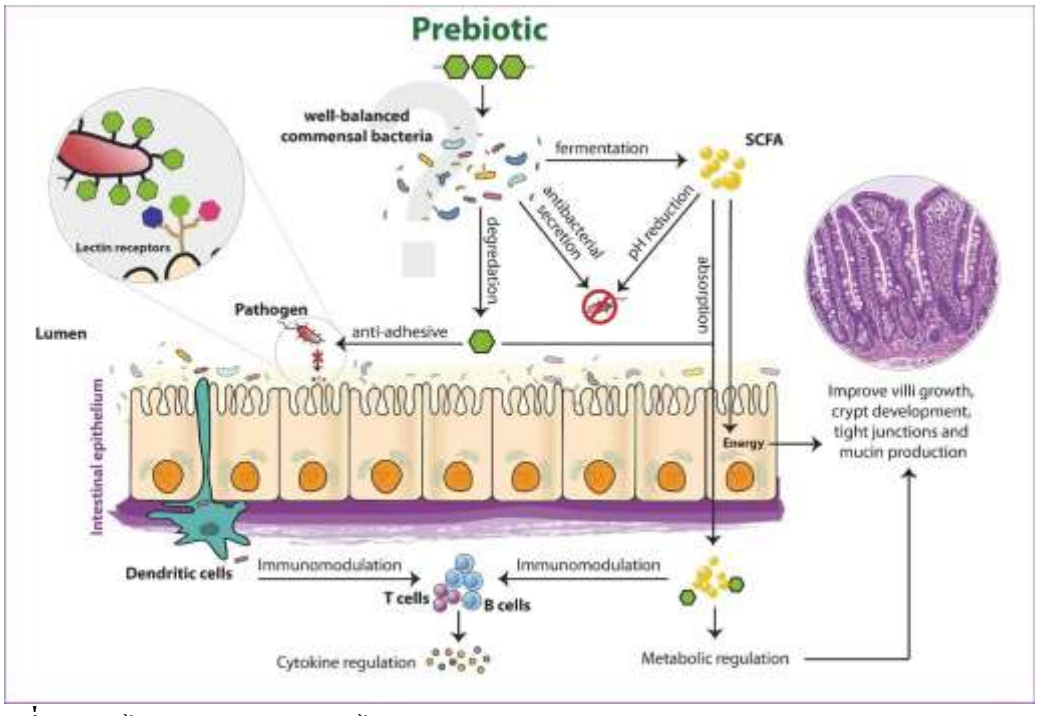
ที่มา: Donovan et al. (2008)

พรีไบโอติกเป็นกลุ่มของโมเลกุลชีวภาพที่รวมกลุ่มกันโดยอาศัยความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ที่มีประโยชน์เฉพาะ การห้ามใช้ยาปฏิชีวนะและฮอร์โมนเป็นสารเติมแต่งอาหารของผู้บริโภคมาตรการควบคุมคุณภาพอย่างเข้มงวดเป็นปัจจัยผลักดันให้มีการวิจัยและพัฒนาอย่างเข้มข้นในด้านอาหารที่มีประโยชน์โดยเฉพาะ oligosaccharides พรีไบโอติก แม้ว่าแนวคิดของอาหารที่ใช้งานได้ถูกนำมาใช้เป็นเวลานานแล้วโดยปราชญ์กรีกโบราณผู้ยิ่งใหญ่ Hippocrates“ ให้อาหารเป็นยาและยาเป็นอาหารของเจ้า” หลักฐานทางวิทยาศาสตร์เริ่มสนับสนุนหลักการข้างต้นเมื่อไม่นานมานี้ผ่านการประยุกต์พรีไบโอติกจุลินทรีย์ในลำไส้ คำว่า "พรีไบโอติก" เข้ามาเมื่อเร็ว ๆ นี้และได้รับการประกาศเกียรติคุณจาก Gibson and Roberfroid (1995) ซึ่งแลกเปลี่ยน“ โปร” เป็น“ ก่อน” ซึ่งหมายถึง“ มาก่อน” หรือ“ เป็น” (Aida et al., 2009) พรีไบโอติกอาจถูกกำหนดให้เป็น“ ส่วนผสมอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ซึ่งส่งผลดีต่อโฮสต์โดยการกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรียจำนวนหนึ่งหรือ จำกัดในลำไส้” เนื่องจากตรงกับลักษณะบางอย่างของใยอาหาร prebiotics รุ่นปรับปรุงครอบคลุม "เลือกหมักส่วนผสมที่อนุญาตให้มีการเปลี่ยนแปลงเฉพาะทั้งในองค์ประกอบและ / หรือกิจกรรมในจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพและสุขภาพที่ดี" (Gibson et al., 2004) เมื่อเร็ว ๆ นี้ FAO (2007) ได้กำหนดพรีไบโอติกเป็น“ ส่วนประกอบอาหารที่ไม่สามารถปฏิบัติได้ซึ่งให้ประโยชน์ด้านสุขภาพแก่โฮสต์ที่เกี่ยวข้องกับการปรับจุลินทรีย์” แม้ว่าผลกระทบของอาหารที่ใช้ประโยชน์ได้มากที่สุดนั้นมีเป้าหมายเพียงหนึ่งหรือจำนวน จำกัด เท่านั้น แต่ prebiotic มีเป้าหมายในการทำงานทางสรีรวิทยาที่หลากหลายรวมถึงสุขภาพของลำไส้ที่ดีกว่าการดูดซึมแร่ธาตุที่สูงขึ้นลดคอเลสเตอรอลกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการแยกเชื้อโรค 2005; Roberfroid, 2007) ดังนั้นพรีไบโอติคส์จึงมีลักษณะไม่ย่อยในระดับกระเพาะอาหารกระตุ้นด้วยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ลำไส้ต้นกำเนิดทางชีวภาพและไม่มีปัญหาสารตกค้างใด ๆ

พรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น (โอลิโกแซ็กคาไรด์) พวกเขามีประโยชน์ต่อสุขภาพและประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในสัตว์เลี้ยงในฟาร์มกระตุ้นการเจริญเติบโตและหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ พรีไบโอติกที่ไม่สามารถย่อยได้ช่วยให้แน่ใจว่าพวกเขาสามารถไปถึงลำไส้ใหญ่และทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำหรับแบคทีเรียซึ่งแตกต่างจากน้ำตาลปกติซึ่งถูกย่อยโดยตรง (Gibson GR et al., 1995) เป็นผลให้องค์ประกอบหรือกิจกรรมของ microbiota มีการเปลี่ยนแปลงที่นำไปสู่ผลกระทบรองเช่นการผลิตแก๊สที่เพิ่มขึ้นและการลดลงของค่า pH พรีไบโอติกยังสามารถป้องกันการยึดเกาะของเชื้อโรคกับเยื่อบุโดยแข่งขันกับตัวรับน้ำตาลและการศึกษาหลายแห่งแสดงให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วย oligosaccharides ต่าง ๆ นำไปสู่การลดความไวต่อเชื้อ Salmonella และเชื้อ *E. coli* (Iji and Tivey) ; Patterson and Burkholder, 2003)

Oligosaccharides ที่ไม่สามารถย่อยได้ ที่พบมากที่สุดซึ่งใช้เป็นพรีไบโอติกในสัตว์เลี้ยงในฟาร์มมีดังต่อไปนี้: Mannanoligosaccharides (MOS), Galactooligosaccharides (GOS), Fructooligosaccharides (FOS),

Soybeanoligosaccharides, Isomaltooligosaccharides, Xylooligosaccharides, Lactulose, Inulin (Grizard and Barthomeuf., 1999; Vondruskova et al., 2010)




**รูปที่ 2.6** กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

ที่มา: Pourabedin and Zhao (2015)

พรีไบโอติกถูกเมแทบอลิซึมโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ จุลินทรีย์ในลำไส้สามารถหมักพรีไบโอติกลงใน SFCA ซึ่งส่วนใหญ่เป็นอะซิเตทโพรพิโอเนตและบิวทีเรต SCFA ลดค่าความเป็นกรดด่างให้แหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เยื่อบุผิวและมีผลกระทบอย่างลึกซึ้งต่อตัวดัดแปลงการอักเสบและกฎของการเผาผลาญ แบคทีเรียที่สมดุลยังสามารถปรับปรุงโครงสร้างเยื่อเมือกในลำไส้ แบคทีเรียบางสายพันธุ์ผลิตปัจจัยต้านจุลชีพหรือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยการส่งสัญญาณเซลล์ dendritic Oligosaccharides และ monosaccharides สามารถลดการตั้งอาณานิคมของเชื้อโรคโดยการปิดกั้นไซต์ของตัวรับเชื้อโรคที่ใช้โดยเชื้อโรคเพื่อแนบกับพื้นผิวเซลล์เยื่อบุผิว

**กลไกการออกฤทธิ์ของพรีไบโอติก**

กลไกของการเสริมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศขนาดเล็กของลำไส้ยังไม่ได้รับการศึกษา แต่อย่างน้อย 3 กลไกได้รับการระบุว่าอาจมีความสำคัญในลูกวัวแรกเกิด สารต้านแบคทีเรียที่ผลิตและหลั่งโดยสิ่งมีชีวิตโปรไบโอติกอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค การกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอาจยับยั้งเชื้อโรคที่อาจเกิดขึ้น ในที่สุดการแข่งขันเฉพาะสำหรับตัวรับการยึดติดกับ

เยื่อบุผิวในลำไส้อาจทำให้แบคทีเรียกรดแลคติกและ Bifidobacteria ครอบครองช่องที่จำเป็นตามปกติโดยสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารพิษ กลไกพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการ จำกัดเชื้อโรคในลำไส้คือการแข่งขันสำหรับสารอาหารและสถานที่ที่แนบมากับเยื่อบุลำไส้ทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์สามารถเข้ามาในบริเวณที่แนบเหล่านี้และเพิ่มการหมักและการผลิต SCFA การผลิตที่เพิ่มขึ้นของกรดไขมันโซ่สั้นทำให้ค่า pH ในลำไส้ลดลงและป้องกันการแพร่กระจายของโรคบางชนิดที่ก่อให้เกิดโรคที่ไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดมากขึ้น (Rowland and Gill, 2008)

ซึ่งแตกต่างจากสถานการณ์ที่มีโปรไบโอติกที่จุลินทรีย์ allochthones ถูกนำเข้าสู่ลำไส้และต้องแข่งขันกับลำไส้ใหญ่ที่จัดตั้งขึ้น prebiotics กำหนดเป้าหมายแบคทีเรียที่มีอยู่แล้วลำไส้ใหญ่ (MacFarlane et al., 2008) ตามที่ Walker and Duffy (1998) การพัฒนาพรีไบโอติกมาจากความคิดที่ว่าส่วนผสมอาหารที่ไม่ย่อยสลายได้ถูกคัดเลือกโดยแบคทีเรียหนึ่งตัวหรือมากกว่าที่รู้กันว่ามีผลในเชิงบวกต่อสรีรวิทยาของลำไส้จึงทำให้แบคทีเรียมีความได้เปรียบในเชิงบวก แบคทีเรีย Menne et al. (2000) ระบุว่าเกณฑ์ที่สำคัญสำหรับผล prebiotic คือการสาธิตการกระตุ้นการเลือกการเจริญเติบโตของหนึ่งหรือจำนวน จำกัด ของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ที่อาจเกิดขึ้นใน microbiota อุจจาระที่ซับซ้อนหลังจากการบริโภคอาหารโดยเฉพาะ การวิจัยชี้ให้เห็นว่าวิธีการที่พรีไบโอติกสามารถออกฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันและลดการอักเสบในลำไส้ใหญ่ ได้แก่ การผลิตกรดไขมันสายโซ่สั้นเพิ่มขึ้นและแบคทีเรียที่สร้างภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นซึ่งมีส่วนช่วยในการสร้างจุลินทรีย์สุขภาพดีขึ้นเช่น Lactobacilli ไบฟิโดแบคทีเรีย สิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีความโดดเด่นและออกแรงส่งเสริมสุขภาพที่เป็นไปได้ด้วยค่าใช้จ่ายของสายพันธุ์ที่เป็นอันตรายมากขึ้น (MacFarlane et al., 2008; Gaggia et al., 2010)

Gibson and Roberfroid (1995) วางเงื่อนไขในการแจ้งสารประกอบเป็นพรีไบโอติก มันจะไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในทางเดินอาหาร แต่ถูกใช้อย่างเป็นหมวดหมู่โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ พรีไบโอติกแสดงกิจกรรมหลายมิติที่แตกต่างจากอาหารการทำงานอื่น ๆ ตั้งแต่การปรับจุลินทรีย์ในลำไส้ไปจนถึงการดูดซึมการแยกเชื้อโรค ฯลฯ (Roberfroid, 2002; Rycroft et al., 2001; Samanta et al., 2010) ดังนั้นเพื่อให้เกิดผลกระทบเชิงบวกต่อระบบปฐสัตว์ช่องทางของกิจกรรมควรมีการกระจายอย่างกว้างขวางในหลาย ๆ ระบบรวมถึงระบบทางเดินอาหาร, ระบบภูมิคุ้มกัน, อวัยวะที่มีโครงกระดูก ฯลฯ จากงานวรรณกรรมพบว่าพรีไบโอติกเป็นช่องทางสำหรับกิจวัตรประจำวัน การบริโภคเพื่อสุขภาพของลำไส้และการจัดการความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร เห็นได้ชัดว่าการศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับการตีแผ่กลไกของการกระทำพรีไบโอติกดำเนินการในสัตว์ทดลองเช่นหนูด้วยการสนับสนุนที่ตามมาผ่านการตรวจสอบภายใต้อาสาสมัครในหลอดทดลองหรือมนุษย์ (Samanta et al., 2013)

**2.8 การพัฒนาภูมิคุ้มกันในสัตว์เคี้ยวเอื้อง**

เมื่อแรกเกิดมีระบบภูมิคุ้มกันที่พัฒนาแล้วและระบบย่อยอาหารที่ด้อยพัฒนาซึ่งต้องการสารอาหารและการจัดการที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการพัฒนาอย่างเต็มที่และให้แน่ใจว่าลูกวัวมีโอกาสรอดชีวิตที่ดีที่สุด วัตถุประสงค์หลักในช่วงเวลานี้คือการเพิ่มการเจริญเติบโตและลดการระบาดของโรค

ลูกวัวแรกเกิด agammaglobulinemic ซึ่งหมายความว่าพวกเขาไม่มีความเข้มข้นที่วัดได้ของซีรั่มอิมมูโนโกลบูลิน (Ig) ที่สำคัญต่อสุขภาพและความอยู่รอดของพวกเขา (Redman, 1979) ลูกวัวจะต้องได้รับ Ig ภายใน 24 ชั่วโมงแรกของชีวิตระยะเวลาของการขนส่งโมเลกุล โปรตีน Ig ถูกดูดซึมผ่านลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองและต่อไปในเลือดเพื่อให้กลายเป็นแอนติบอดีที่จำเป็นในการปกป้องลูกวัวจากเชื้อโรคสิ่งแวดล้อม (Kruse, 1970) น้ำนมเหลืองที่รีดนมครั้งแรกนั้นมีปริมาณสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในของแข็ง, Ig, ไขมัน, โปรตีนและวิตามินมากกว่านมทั้งตัว (Foley and Otterby, 1978) เมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอระดับสูงของ Ig ที่พบในน้ำนมเหลืองให้ภูมิคุ้มกันแบบไม่โต้ตอบกับลูกวัวเกิดทำให้สามารถต่อสู้กับการติดเชื้อในช่วงสองสามสัปดาห์แรกของชีวิต (Redman, 1979)

คอลอสตรัมประกอบด้วยโปรตีน Ig หลัก 3 ชนิดที่ให้ภูมิคุ้มกันต่อลูกวัว: IgG, IgA และ IgM ในสาม IgG มีความกังวลมากที่สุดใน 24 ชั่วโมงแรกของชีวิต Matte et al. (1982) อธิบายกระบวนการเป็นโมเลกุลโปรตีนทั้งหมดโดยไม่ต้องเปลี่ยนรูปแบบหรือความสามารถในการย่อยอาหารผ่านเซลล์เยื่อบุผิวเยื่อบุผิวเยื่อบุผิวเยื่อบุผิวของลำไส้เล็กโดย pinocytosis และโอนย้ายเข้าสู่ระบบน้ำเหลือง ต่อมา Ig จะถูกถ่ายโอนผ่านท่อน้ำเหลืองทรวงอกและด้านหน้า vena cava ไปยังเลือดที่พวกเขากลายเป็นแอนติบอดีที่ใช้งานอยู่ (Matte et al., 1982) IgG นั้นช่วยในการลดอุบัติการณ์และความรุนแรงของการติดเชื้อในทางเดินอาหารหลายประเภทรวมถึง *E. coli*, rotavirus และ Cryptosporidium parvum เพื่อให้มั่นใจว่าการดูดซึม IgG สูงสุดจะต้องได้รับนมวัวคอลอสตรัมคุณภาพสูง 3-4 ลิตรภายใน 3-4 ชั่วโมงหลังคลอด

ลูกโคนมได้พัฒนาระบบภูมิคุ้มกันเกือบสมบูรณ์ตั้งแต่แรกเกิดรวมถึงอวัยวะต่อมน้ำเหลืองปฐมภูมิและทุติยภูมิและเซลล์ภูมิคุ้มกันเนื่องจากระยะเวลาการตั้งครรภ์ที่ยาวนาน 280 วัน (Halliwell and Gorman, 1989) อวัยวะน้ำเหลืองแรกที่พัฒนาคือต่อมไทมัสซึ่งปรากฏหลังการปฏิสนธิประมาณ 40 วัน (Schultz et al., 1973; Tizard, 1982) ไธมัสมีหน้าที่ผลิตไทม็อกซีไซต์ที่ครบกำหนดเพื่อให้เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T ที่น่าสนใจต่อมไทมัสจะครบกำหนดเต็มรูปแบบประมาณ 140 วันหลังการปฏิสนธิและลดขนาดลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งการถดถอยที่วัยแรกรุ่น (Cortese, 2009; Kushida et al., 2012) ประมาณ 40 ถึง 45 วันเซลล์เม็ดเลือดขาวในเลือดจะเริ่มไหลเวียน (Pearson และคณะ, 1976) และเริ่มตั้งครรภ์กลางเซลล์เม็ดเลือดขาวในเลือดสามารถตอบสนองต่อแบคทีเรียและไวรัสไมโทเจน (Tizard et al., 1982; Liggitt et al., 1982 ) เริ่มต้นหนึ่งเดือนก่อนเกิดจำนวนเซลล์ T เลือดลดลงจากประมาณ 60% ถึง 30%; อย่างไรก็ตามมีเซลล์ B ในทารกในครรภ์น้อยกว่าในลูกวัวที่โตเต็มที่

(Chase et al., 2008; Senogles et al., 1979; Kampen et al., 2006) ไขกระดูกและม้ามปรากฏขึ้นประมาณ 55 วัน หลังการปฏิสนธิตามมาด้วยอิมมูโนโกลบูลิน (Ig) เซลล์ M-carry และต่อมน้ำเหลือง 5 วันต่อมา (Schultz et al., 1973; Tizard, 2013) ไขกระดูกเป็นที่ตั้งของเม็ดเลือดขาว, เม็ดเลือดแดง, และการพัฒนา thrombocyte และ B lymphocyte เต็มที่. อวัยวะต่อมน้ำเหลืองที่สองเช่นม้ามและต่อมน้ำเหลืองช่วยในการดักจับแอนติเจนและการนำเสนอต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว แม้ว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวในเลือดและเซลล์ที่เป็นบวก IgM จะปรากฏขึ้นค่อนข้างเร็วในการพัฒนาการผลิตแอนติบอดียังไม่เริ่มจนกว่าจะประมาณ 130 วันด้วย serum IgG และ serum IgM (Fennestad and Borg-Petersen, 1962; Tizard, 2013) ในระหว่างการพัฒนา serum IgM นั้นมีความเด่นเหนือ IgG (Pereira et al., 1982)

**สถานะภูมิคุ้มกันหลังคลอด**

แม้จะมีระบบภูมิคุ้มกันของทารกแรกเกิดใกล้จะเสร็จสมบูรณ์ในการพัฒนาตั้งแต่แรกเกิดจำนวนและหน้าที่ของเซลล์ภูมิคุ้มกันจะเปลี่ยนแปลงไปในช่วงเวลาที่เกิด นี่อาจเกิดจากส่วนของ glucocorticoids มารดาและทารกแรกเกิดในช่วงเวลาของการเกิด นอกจากนี้จำนวนเซลล์ภูมิคุ้มกันยังไม่ถึงระดับที่ครบกำหนดตั้งแต่แรกเกิดและระบบภูมิคุ้มกันแบบปรับตัวนั้นไร้เดียงสาในธรรมชาติ

การยับยั้งการทำงานปกติของเซลล์ภูมิคุ้มกันที่มีมา แต่กำเนิดเช่น chemotaxis และ phagocytosis สามารถอยู่ได้นานถึงสี่เดือน (Hauser et al., 1986) การลดลงของการทำงานอาจเกี่ยวข้องกับผลของสเตียรอยด์ในเลือดสูงเช่นคอร์ติซอลที่ปล่อยออกมาจากต่อมหมวกไตในทารกในครรภ์ระหว่างการคลอด (Fauci et al., 1976; Barrington, 2001) การศึกษาดำเนินการโดย Salvemini et al. (1995) พบว่าเมื่อ glucocorticoid dexamethasone , การแสดงออกโปรตีน iNOS ถูกยับยั้งและ NO2- ถูกระงับ ไนตริกออกไซด์ synthase และไนไตรท์มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดทีฟของเม็ดเลือดขาว

อันเป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันที่เกิดเมื่อแรกเกิดระบบภูมิคุ้มกันของลูกวัวจนกระทั่ง 5 ถึง 8 เดือนหลังคลอด เมื่อแรกเกิดจำนวนการเสริมการไหลเวียนนั้นน้อยกว่า 20% ของจำนวนลูกวัวที่โตเต็มวัย แต่เพิ่มขึ้นเป็น 50% โดยอายุหนึ่งเดือน (Firth et al., 2005; Chase et al., 2008) จำนวนผู้ใหญ่จะไม่ถึงจนกว่าจะครบอายุประมาณ 6 เดือน (Cortese, 2009) จำนวนนิวโทรฟิลลดลงหลังคลอด แต่ความสามารถของนิวโทรฟิลในการทำงานเพิ่มขึ้น นิวโทรฟิลสามารถตอบสนองต่อเชื้อโรคโดยอายุหนึ่งสัปดาห์ แต่การทำงานของนิวโทรฟิลนั้นยังไม่ครบกำหนดจนกว่าจะครบอายุห้าเดือน (Hauser et al., 1986) จำนวน T เซลล์ที่ครบกำหนดเช่น CD4 +, CD8 + และ TCR$\gamma\delta$ + จะไม่ถึงจนกว่าอายุประมาณ 8 เดือน (Cahill, 1999; Cortese, 2009) ในทำนองเดียวกันปริมาณเซลล์ B เพิ่มขึ้นจาก 4% ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดที่อายุ 1 สัปดาห์เป็น 20% โดยอายุ 6-8 สัปดาห์ (Kampen et al., 2006) เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของการหมุนเวียน IgA และ IgG (Lascelles, 1975)

ระบบภูมิคุ้มกันที่ได้มานั้นไร้เดียงสาตั้งแต่แรกเกิดและขึ้นอยู่กับการสัมผัสกับแอนติเจน นอกจากนี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันจะมีอคติต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของ T helper 2 จากรกที่ผลิตโปรเจสเตอโรน, prostaglandin E2, และไซโตไคน์เช่น IL-4 และ IL-10 ซึ่งยับยั้ง T ภูมิคุ้มกัน 1 การตอบสนองในมดลูกธรรมชาติไร้เดียงสาไร้เดียงสาและอาจเปลี่ยนแปลงได้ของระบบภูมิคุ้มกันของทารกแรกเกิดแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการถ่ายโอนการป้องกันภูมิคุ้มกันของแม่เพื่อป้องกันลูกวัวในขณะที่ระบบภูมิคุ้มกันมีความสามารถเต็มที่ Windeyer et al. (2014)

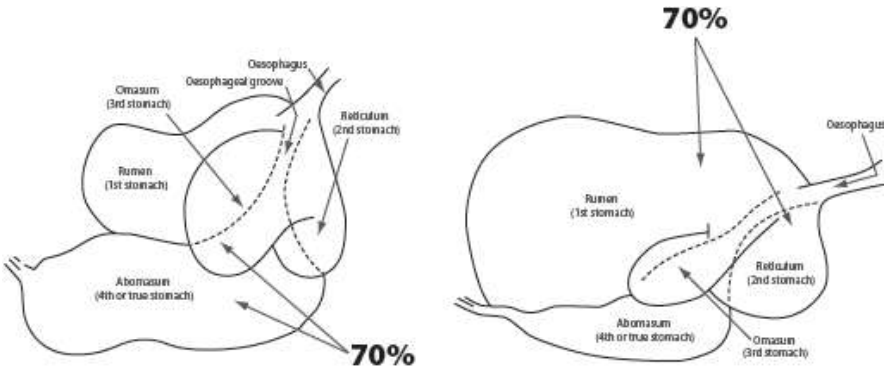
**2.9 การพัฒนาระบบย่อยอาหาร**

Bethany Leann Fisher (2011) รายงานเมื่อลูกวัวไม่ได้รับนมน้ำเหลืองและนมเปลี่ยนผ่านอีกต่อไป ผู้ผลิตส่วนใหญ่เริ่มให้นมทดแทนนมเชิงพาณิชย์ เมื่อลูกวัวกินนมน้ำเหลืองหรือนมทดแทนเครื่องฟีดเหลว จะผ่านกระเพาะรูเมนและเข้าไปในลำไส้ใหญ่โดยตรงผ่านทางหลอดอาหาร จากนั้นจะเข้าสู่ abomasum ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับกระเพาะ monogastric จาก abomasum ส่วนประกอบที่เหลืออยู่ของเครื่องทดแทนนมเข้าสู่ลำไส้โดยลำไส้ใหญ่เป็นจุดสุดท้ายก่อนที่จะขับถ่าย

แนวคิดของระบบทางเดินอาหาร (GI) เป็นระบบนิเวศขึ้นอยู่กับการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างการรวบรวมถิ่นที่อยู่ของจุลินทรีย์ลักษณะโครงสร้างและการทำงานของระบบทางเดินอาหารและการตอบสนองต่อปัจจัยการบริโภคอาหาร (Buddington, 2009) เมื่อแรกเกิดระบบย่อยอาหารของลูกวัวจะทำหน้าที่คล้ายกับสัตว์ monogastric ทางเดินอาหาร GI ถูกอธิบายว่าเป็นสิ่งกีดขวางทางกายภาพที่ประกอบด้วยเซลล์บุผิวเยื่อบุท่อทางเดินอาหารทางแยกที่เชื่อมติดกันและสารเคมีที่ประกอบด้วยสารคัดหลั่งที่มีอิทธิพลต่อเซลล์เยื่อบุผิวและรักษาหน้าที่กั้น (Dubert-Ferrandon et al., 2008) Takahashi and Kiyono (1999) อธิบายว่าลำไส้เป็นอวัยวะภูมิคุ้มกันที่ใหญ่ที่สุดของร่างกายในขณะที่ Brouns et al. (2002) สรุปว่ามันเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่ผิวมากที่สุดและความสามารถในการเผาผลาญ การมีจุลินทรีย์ในลำไส้ที่สมดุลจำเป็นต้องมีเพื่อให้ระบบนี้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Mackie et al. (1999) ตั้งข้อสังเกตว่าการสืบทอดของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในช่วงสองสามสัปดาห์แรกของชีวิตของลูกวัวที่มีความสมบูรณ์นั้นคล้ายกันกับทารกแรกเกิดที่มี monogastric ในระหว่างกระบวนการเกิดและหลังจากนั้นไม่นานจุลินทรีย์จากแม่และสภาพแวดล้อมโดยรอบจะเป็นอาณานิคมของทางเดินอาหารของลูกวัวหรือทารกแรกเกิด ลูกวัวนมจะถูกออกจากแม่ทันทีหลังคลอดและป้อนนมน้ำเหลืองของแม่ ในระหว่างกระบวนการนี้ลูกวัวจะสัมผัสกับแหล่งของแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมตัวจัดการและคอลอสตรัมอย่างต่อเนื่องส่งผลให้เกิดการตั้งรกรากเริ่มแรกของระบบทางเดินอาหาร

ลำไส้ใหญ่เป็นที่ตั้งของจุลินทรีย์หลักและมีแบคทีเรียจำนวนมากและมีความเข้มข้นของ SCFA ค่อนข้างสูง (Mackie et al., 1999) Cummings (1997) ระบุในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์พร้อมด้วยจุลินทรีย์ในแบคทีเรียเป็นอวัยวะสำคัญที่ให้การทำงานที่หลากหลายเช่นการย่อยอาหารการหมักการดำเนินการทางภูมิคุ้มกันและการป้องกันรวมถึงฟังก์ชั่นการล้างพิษซึ่งจำเป็นต่อการ สิ่งมีชีวิตทั้งหมด จากข้อมูลของ Roberfroid (2008) จุลินทรีย์ในลำไส้ดูเหมือนจะมีบทบาทสำคัญทางด้านโภชนาการและทางสรีรวิทยาเช่นการป้องกันการล่าอาณานิคมของลำไส้โดยจุลินทรีย์ที่อาจทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุกเชื้อโรคที่มีประสิทธิภาพสำหรับระบบนิเวศน์วิทยาและเมแทบอลิซึมของสารอาหาร Callaway et al. (2008) พิจารณาว่าประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่ซับซ้อนซึ่งสามารถนำมาใช้ในความพยายามเพื่อลดผลกระทบของแบคทีเรียก่อโรคที่มีผลต่อการผลิตและประสิทธิภาพของสัตว์




ก) ระบบกระเพาะอาหารของลูกแกะแสดงให้เห็นถึงกระเพาะรูเมนที่ยังไม่พัฒนา

b.) ระบบกระเพาะอาหารของแกะผู้ใหญ่ที่กระเพาะรูเมนและเรติเคิลรวมกัน 70%

**รูปที่ 2.7** การพัฒนากระเพาะของแพะ

ที่มา: Greenwood (2005)

นอกจากการปรับระบบภูมิคุ้มกันแล้วจุลินทรีย์ยังเป็นแหล่งพลังงานสำคัญสำหรับเซลล์ของผนังลำไส้ผ่านการหมักคาร์โบไฮเดรตไปยัง SCFA (Roberfroid, 2008) Macfarlane et al. (2008) พบว่าการผลิต SCFA เป็นหนึ่งในกระบวนการทางสรีรวิทยาที่สำคัญที่สุดซึ่งเป็นสื่อกลางโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ SCFA หลักสามประการที่เกิดจากการหมักนี้คือ อะซิเตท บิวทิเรตและโพรพิโอเนต SCFAs เหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีผลกระทบต่อการขนส่งของเซลล์เยื่อบุผิว colonic การเผาผลาญของลำไส้ใหญ่ การเจริญเติบโตและการสร้างความแตกต่างให้พลังงานแก่อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย และช่วยในการลดความรุนแรงของท้องเสีย (Cummings, 1995) Butyrate ได้รับการแสดงเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์และเพิ่มพื้นที่ผิวที่น่าดึงดูดของลำไส้และถูกเผาผลาญโดยเยื่อบุผิวลำไส้ใหญ่, เปลี่ยนจุลินทรีย์ในลำไส้ทั้งเล็กและใหญ่ (Cummings and Macfarlane, 1997; Hawthorne and Abrams, 2007) Propionate ถูกแสดงเพื่อปรับปรุงการไหลเวียนของลำไส้ใหญ่ดังนั้นจึงช่วย

กระตุ้นการแพร่กระจายของเยื่อบุผิวและช่วยรักษาความสมบูรณ์ของเยื่อบุผิว (Annison and Topping, 1994; Sakata, 1989) ในขณะที่พบในปริมาณที่มากที่สุดในลำไส้ใหญ่อะซิเตทจะออกฤทธิ์ต่ออวัยวะอื่นของร่างกาย และใช้ในการก่อตัวของบิวทิเรท ความเข้มข้น SCFA ที่เพิ่มขึ้นและค่า pH ที่ลดลงเป็นความคิดที่ป้องกันไม่ให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคมีความไวสูงเกินไป (Topping and Clifton, 2001) ช่วยให้การแพร่กระจายของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และปรับปรุงสุขภาพโดยรวมของระบบ GI ของสัตว์

**2.10 จุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร**

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหรือจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายหรือเป็นอันตรายและการส่งเสริมสุขภาพหรือจุลินทรีย์ที่เป็นมิตรหรือมีประโยชน์ ชั้นของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ *E. coli, Streptococcus faecalis, Salmonella enterica, Clostridium perfringens* เป็นต้น Lactobacillus และ Bifidobacteria ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารเป็นสมาชิกหลักของการส่งเสริมสุขภาพ ความสำคัญของการบริโภคพรีไบโอติกเกิดขึ้นจากความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนทวีคูณของ Bifidobacteria และ Lactobacilli ใน hindgut ซึ่งจะยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่เป็นพิษหรือเป็นอันตรายสำหรับการลดความเข้มข้นของการหมักสารพิษในทางเดินอาหาร (Tomomatsu, 1994)

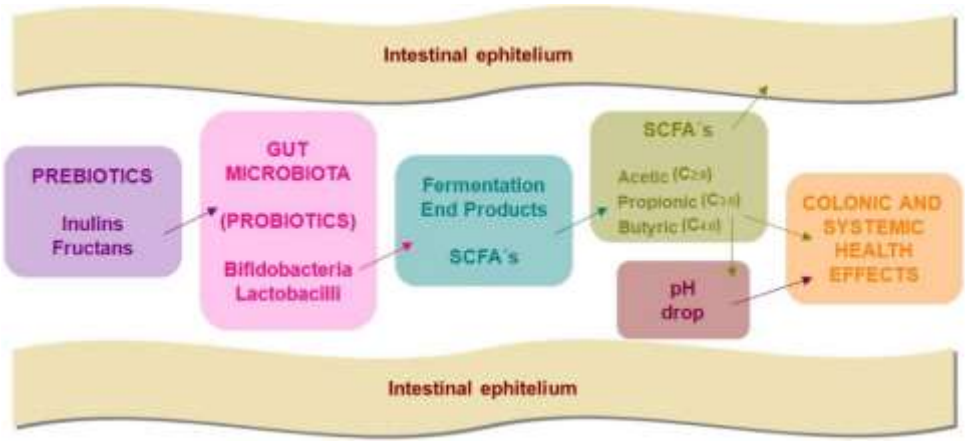
**2.11 บทบาทของจุลินทรีย์ในลำไส้**

การอภิปรายเกี่ยวกับผลกระทบของระบบทางเดินอาหารที่มีต่อสุขภาพและสถานะภูมิคุ้มกันของลูกวัวจะไม่สมบูรณ์หากไม่มีการครอบคลุมบทบาทของเชื้อจุลินทรีย์ที่สัมพันธ์กันและความสัมพันธ์ทางชีวภาพกับลูกวัว จุลินทรีย์ในลำไส้เป็นหนึ่งในแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่มีประชากรหนาแน่นที่สุดที่รู้จักในร่างกาย (Gill et al., 2006) ระบบทางเดินอาหารของลูกวัวนั้น แต่เกิดขึ้นในไม่ช้าหลังจากที่อุจจาระและช่องคลอดในระหว่างการคลอด (Eckburg et al., 2005) ประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมและอาหารของลูกวัวเขื่อนและภูมิหลังทางพันธุกรรม (Ozutsumi et al., 2005) ชุมชนจุลินทรีย์ลูกวัวในทารกแรกเกิดนั้นประกอบด้วยแอนนาโรบิกส่วนใหญ่จากสิ่งแวดล้อมเช่น Enterobacteriaceae, Streptococcus และ Staphylococcus อย่างไรก็ตาม Anaerobes ที่เข้มงวด, Bifidobacterium, Bacteroides, Lactobacilli และ Clostridia ครองระบบทางเดินอาหารเป็นวัยลูกวัว (Edrington, 2012; Ballou, 2015) จุลชีพ Commensal เช่น Lactobacilli และ Bifidobacteria ก่อให้เกิดสิ่งกีดขวางคล้ายกับชั้นเมือกที่ จำกัดของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร เชื้อจุลินทรีย์บางตัวอาจช่วยในการผลิตเมือกและปัจจัยต้านจุลชีพ (Shahani และ Ayebo, 1980)

นอกจากนี้ยังมีการแสดงให้เห็นถึงสิ่งมีชีวิตร่วมกันเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและการเจริญเติบโตของลำไส้ใหญ่ลำไส้และปรับปรุงการย่อยอาหารผ่านการหมัก (Guarner and Malagelada, 2003)

สุขภาพของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในลำไส้ องค์ประกอบและฟังก์ชั่นของมันสามารถได้รับผลประโยชน์จากปัจจัยหลายอย่าง ปัจจัยเหล่านี้สามารถได้รับการสนับสนุนอย่างมีนัยสำคัญโดยโปรไบโอติกพรีไบโอติกกรดอินทรีย์สังกะสีออกไซด์และสารสกัดจากพืช (Vondruskova et al., 2010)

ความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ที่มีเชื้อร่วมกับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคสามารถนำไปสู่โรค เช่นท้องเสีย (Ishihara et al., 2000) ความไม่สมดุลนี้อาจเกิดจากปัจจัยหลายประการรวมถึงอาหารความเครียดและสิ่งแวดล้อม (Guarner and Malagelada, 2003) ซัลโมเนลลาเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่สามารถทำให้เกิดไข้และท้องร่วงได้เมื่ออยู่ใน microbiome ปกติ (Smith, 2002) Clostridium และ *E. coli* เป็นตัวอย่างของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของลูกโค




**รูปที่ 2.8** การทำงานของพรีไบโอติกในลำไส้ใหญ่ ในการส่งเสริมบโปรไบโอติกที่ผลิตกรดไขมันสายสั้น (SCFAs) เพื่อปรับปรุงสุขภาพของสัตว์

ที่มา: Huazano-García and López (2013)

# บทที่ 3

# การศึกษาเพื่อหาวิธีป้องกันการย่อยได้ของอินูลิน

## 3.1 บทนำ

ในหัวแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) มีสารกลุ่มพรีไบโอติค (prebiotic) โดยเฉพาะอินูลิน (inulin) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสมีโมเลกุลยาว เป็นผงสีขาว ไม่มีรูปร่าง ซึ่งอินูลินในแก่นตะวันเป็นสารเยื่อใยที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่สัตว์เคี้ยวเอื้องมีความสามารถในการย่อยได้สูงกว่าร้อยละ 90 โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก บทบาทของอินูลินในระบบทางเดินอาหารคือทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacillus เจริญได้ดีและมีผลให้แบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารลดลง ดังนั้นแนวทางในการนำสารอินูลินจากแก่นตะวัน มาใช้ในส่วนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อให้ทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติคจึงมีความจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้มีการย่อยโดยจุลินทรีย์ในรูเมน (by-pass) ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีการพัฒนาเทคนิคดังกล่าว โดยหากสามารถป้องกันการย่อยในรูเมนได้ อินูลินจะสามารถออกฤทธิ์ที่ลำไส้และระบบทางเดินอาหารได้เช่นเดียวกับในสัตว์กระเพาะเดี่ยว การวิจัยในครั้งนี้จึงมีเป้าหมายหลักเพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass innulin from Kaentawan) เพื่อให้ไปออกฤทธิ์ที่ระบบลำไส้และทางเดินอาหารส่วนล่าง โดยจะทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ในตัวสัตว์ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูล เพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass innulin from Kaentawan) วิธีที่ใช้ได้แก่ ก) การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสม (มีระดับการไหลผ่านสูงสุด)โดยใช้อุณหภูมิ ความชื้นและเวลาที่เหมาะสม การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธี mailard reaction (ปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโน) ข) การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธี เคลือบด้วยปฏิกิริยา saponification (กรดไขมันและด่าง) ค) การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีเคลือบโดยการพ่นด้วยไขมัน การอัดเม็ดแล้วพ่นด้วยไขมันเป็นวิธีที่ให้ผลดีในเชิงการค้า อย่างไรก็ตาม พบว่าอินูลินถูกย่อยในรูเมนได้มากกว่าวิธี maillard reaction ซึ่งคณะนักวิจัยจะได้พัฒนาวิธีการนี้ในลำดับต่อไป

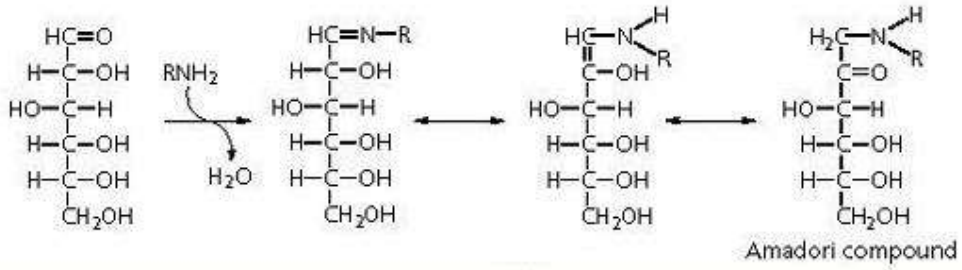
**3.2 วิธีการศึกษา**

การศึกษาเพื่อหาวิธีป้องกันการย่อยได้ของอินูลินโดยวิธีที่แตกต่างกัน เพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass inulin from Kaentawan)

1. การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสม (มีระดับการไหลผ่านสูงสุด)โดยใช้อุณหภูมิ ความชื้นและเวลาที่เหมาะสม เป็นวิธีการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธี mailard reaction (ปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโน)

**การเกิดปฏิกิริยา maillard reaction**

การให้ความร้อนกับแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เวลา ความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้าง โดยน้ำตาลหมู่รีดิวซิง (reducing sugars) และกรดอะมิโน เรียกปฏิกิริยานี้ว่า melanoidins หรือ maillard reaction ปฏิกิริยานี้ไม่ได้ใช้เอ็นไซม์ และได้นำมาใช้ในการป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนในรูเมน (rumen protected protein) โดยพบว่าจุลินทรีย์ในรูเมนไม่สามารถเข้าย่อยหรือทำลายโครงสร้างนี้ได้ แต่เมื่ออาหารผ่านไปยังกระเพาะจริง (abomasums) ซึ่งมีความเป็นกรดพบว่าโครงสร้างนี้ถูกทำลายทำให้โปรตีนถูกย่อยและส่วนที่เป็นน้ำตาลถูกไหลผ่านไปย่อยที่ลำไส้เล็กต่อไป (Cleale et al., 1987; Sindt et al., 2004) ในส่วนของ inulin มีโครงสร้างที่ประกอบน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวจึงสามารถเกิดปฏิกิริยานี้ได้ดังแสดงในรูป




2. การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธี เคลือบด้วยปฏิกิริยา saponification (กรดไขมันและด่าง) โดยอาศัยหลักการ

3. การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีเคลือบโดยการพ่นด้วยไขมัน

ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการทดสอบหาค่าการละลายได้ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และทดสอบการย่อยได้ในรูเมน (*in sacco*) โดยใช้ nylon bag technique ทั้งโนโคเจาะกระเพาะ และแพะเจาะกระเพาะตามวิธีการของ Orskov (1992) เพื่อคำนวณหา rumen by-pass innulin จากแก่นตะวัน และทำการคัดเลือกสภาวะหรือวิธีที่เหมาะสมทั้งในเชิงความยากง่าย หรือต้นทุนในการต่อยอดสู่ระบบอุตสาหกรรม

ใช้โคนมเจาะกระเพาะแบบถาวร (permanent rumen fistulae) จำนวน 3 ตัว เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ปรับอาหารด้วยพื้นฐานอาหารหยาบ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วัดความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน โดยใช้เทคนิคการย่อยได้ในถุงในล่อน (nylon bag technique) โดยบ่มในรูเมนที่ชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6,12, 16, 24, 48 และ 72 ตามลำดับ ตามวิธีการของ ∅rskov and McDonald (1979) และนำมาคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Curvfit (Chen, 1996)

ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้ Proc. GLM (SAS, 1989)

(รายละเอียดวิธีการ และตารางผลวิเคราะห์ ขอสงวนไว้ประโยชน์เชิงการค้า)

**3.3 ผลการทดลอง**

ผลการศึกษาค่าการละลายได้ของอินูลินไหลผ่าน (bypass inulin) ของ 3 วิธีคือ 1) การทรีทต์ด้วยอุณหภูมิสูง 2) การทำให้อยู่ในรูปสบู่ (saponification) และ 3) การพ่นไขมันเคลือบ พบว่า

ก) ค่าการละลายได้ในน้ำของทั้ง 3 วิธี แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม ที่ไม่มีการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ข) ค่าการละลายได้ในน้ำของกลุ่มที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ และกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยความร้อน มีค่าการละลายได้ในต่ำกว่ากลุ่มที่เคลือบด้วยไขมัน และกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค) ค่าการละลายได้ในกระเพาะหมักในโคนมเจาะกระเพาะ ของทั้ง 3 วิธี แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการทรีทต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ง) ค่าการละลายได้ในกระเพาะหมักของกลุ่มที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ และกลุ่มที่ทรีทต์ด้วยความร้อน มีค่าการละลายได้ในต่ำกว่ากลุ่มที่เคลือบด้วยไขมัน และกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จ) ค่าการละลายได้ในกระเพาะหมักของกลุ่มที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ให้ค่าดีที่สุด คือละลายได้ต่ำที่สุด

**3.4 วิจารณ์ผลการศึกษา**

เมื่อประมวลผลการศึกษาทั้งจากค่าการละลายในน้ำ และการละลายได้ในกระเพาะหมักในโคโคนมเจาะกระเพาะ พบว่าวิธีการที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ให้ค่าดีที่สุด คือละลายได้ต่ำที่สุด ซึ่งหมายถึงการไหลผ่านออกจากกระเพาะหมักไปลำไส้เล็กได้มากกว่า คณะนักวิจัยจึงเลือกวิธีนี้ในการทำผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

# บทที่ 4

# การทดสอบอินูลินไหลผ่าน ต่อความเป็นพรีไบโอติก โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์

## 4.1 บทนำ

ปัจจุบันได้ห้ามการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารทั้งหมด ดังนั้นทางเลือกในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ การใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์กำลังถูกพิจารณาเพื่อยกเลิก (หรือระเบียบที่เข้มงวด) ในส่วนอื่น ๆ ของโลก มุมมองนี้ได้กระตุ้นนักโภชนาการและผู้ผลิตอาหารสัตว์เพื่อค้นหาทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัยกว่าทางเลือกหลักที่ศึกษา เช่น การทำให้เป็นกรดของอาหารโดยเสริมกรดอินทรีย์ในอาหาร เสริมโปรไบโอติก และการให้อาหารกลุ่มสารประกอบพรีไบโอติก (Verdonk et al, 2005) พรีไบโอติกได้รับการแนะนำให้เป็นแนวคิดใหม่ภายใต้วิทยาศาสตร์การอาหารที่ใช้งานได้เนื่องจากมีความกังวลเกี่ยวกับยาปฏิชีวนะที่ตกค้าง การศึกษาด้านโภชนาการสัตว์ในปัจจุบันยังคงให้ความสำคัญกับความปลอดภัยของอาหารคุณภาพผลิตภัณฑ์จากสัตว์นักออกแบบสัตว์ที่มีสุขภาพดีการรักษาระบบนิเวศน์ สำหรับความผิดปกติของระบบย่อยอาหาร และการผลิตสัตว์อินทรีย์ เป็นต้น (Samantha et al., 2013)

อินูลินเป็นคาร์โบไฮเดรตรูปแบบฟรุกโตส เป็นแหล่งใยอาหารที่ไม่ย่อยในระบบย่อยอาหาร (กระเพาะอาหารและลำไส้) ในสัตว์กระเพาะเดี่ยวหรือมนุษย์ ดังนั้น อินูลินจะตกอยู่ในลำไส้ใหญ่และเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของร่างกายเนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น Lactobacillus และ Bifidobacteria (Younes et al., 1995; Kaur and Gupta, 2002) อินูลินสามารถลดในเชื้อ *E. coli* และ Clostridium ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น อาการท้องร่วง ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (โค กระบือ แพะ แกะ และกวาง) จุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมนสามารถย่อยอินูลินได้หลังจากนั้นประสิทธิภาพของอินูลินในระบบย่อยอาหารลดลง อย่างไรก็ตามระบบย่อยอาหารของลูกแพะและสัตว์เคี้ยวเอื้องอื่น ๆ นั้นคล้ายกับของหมูและมนุษย์ในช่วงระยะแรกของการให้นมนมที่ abomasum (กระเพาะจริง) และลำไส้เล็ก มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการย่อยอาหารและโภชนาการ ในแพะที่อายุน้อยและสัตว์เคี้ยวเอื้องอื่น ๆ ตัวรับ (receptor) การดูดนมจะกระตุ้นให้หลอดอาหารปิดลงเพื่อให้น้ำนมไหลข้ามกระเพาะรูเมน ไปยัง abomasum โดยตรง ที่ซึ่งทำให้นมจับเป็นก้อนทำให้สามารถย่อยอาหาร โดยเฉพาะกลุ่มโปรตีนได้ โปรตีนนมจะถูกย่อยอย่างรวดเร็วในลำไส้เล็ก เช่นเดียวกับแลคโตส (Anita O'Brien, 1998)

แม้ว่าการศึกษาหลายชิ้นได้นำเสนอผลของอินูลินของอาหารสัตว์และการใช้ในการหมักในหลอดแก้วสำหรับตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ผลของอินูลินไหลผ่านต่อ ของแบคทีเรีย และการหมักในหลอดทดลอง โดยใช้ตัวอย่างอุจจาระจากโคนม

**4.2 วัตถุประสงค์**

เพื่อศึกษาผลของอินูลินไหลผ่าน ต่อประชากรของแบคทีเรีย และการหมัก ในหลอดทดลอง (*in vitro* technique) ของโคนม

**4.3 วิธีการศึกษา**

4.3.1 อินูลินไหลผ่าน

ใช้อินูลินไหลผ่านที่ศึกษาโดยวิธีทำให้อยู่ในรูปสบู่ (จากการทดลองที่ 1) การศึกษาครั้งนี้เป็นการออกแบบแบบสุ่มสมบูรณ์ด้วยการจัดเรียงแบบแฟคทอเรียล 2 x 4 ปัจจัยประกอบด้วยความเข้มข้นของแป้ง (แป้ง 0% และแป้ง 1% ตามลำดับ) และอินูลินไหลผ่านจากความเข้มข้น (0%, 1%, 2% และ 4% ตามลำดับ)

4.3.2 สัตว์และตัวอย่างอุจจาระ

ตัวอย่างอุจจาระที่รวบรวมได้จากลูกโค 3 ตัว ลูกโคนมที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยอยู่ที่ 93 ± 7 กิโลกรัม อายุประมาณ 32 วัน Fecal ถูกรวบรวมจากลูกโคแต่ตัว ใส่ลงในถุงพลาสติกโดยใช้ลิ้นกดลิ้นที่ปลอดเชื้อจากนั้นนำไปใส่ในถุงเก็บความเย็นที่หุ้มฉนวนที่มีน้ำแข็ง บางบนน้ำแข็ง ตัวอย่างถูกนำไปยังห้องปฏิบัติการภายใน 10 นาที ตัวอย่างอุจจาระถูกถ่ายโอนไปยังขวดขนาด 100 มล. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทันที (10%, w / v) ใน saline-buffered saline (PBS) และบรรจุด้วยลูกปัดแก้วโดยใช้ depressor ลิ้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ววางลงในห้องที่ไม่มีออกซิเจน %), $H_2$ (3%) และ $CO_2$ (2%) ปริมาตรที่เท่ากันของอุจจาระที่รวบรวมจากแต่ละลูกโคถูกรวมกันเป็นหัวเชื้อสารละลายอุจจาระ

4.3.3 การหมักแบบเพาะเชื้ออุจจาระ

อินูลินไหลผ่าน ถูกชั่งน้ำหนักลงในหลอดทดลอง Hungate ที่ปลอดเชื้อ 1 (ไม่มีสเตรช 1%): 3 ระดับ; 1% อินูลิน, อินูลิน 2%, อินูลิน 4% และการรักษา 2 (มี strapping 1%): 3 ระดับ; 1% strach + 1% อินูลิน 1% สเตรช + 2% อินูลิน 1% สเตรช + 4% อินูลินตามลำดับ อาหารเลี้ยงเชื้อควบคุมไม่ได้รับอินูลิน สื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อนั้นถูกสร้างขึ้นแบบไม่ใช้ออกซิเจนในห้องและจ่ายลงในหลอด Hungate (9 มล. / หลอด) สื่อฐานมี (ใน g / l): เปปโตน, 2.0; สารสกัดจากยีสต์ 2.0; NaCl, 0.1; K2HPO4, 0.04; KH2PO4, 0.04; MgSO4.7H2O, 0.01; CaCl2.2H2O, 0.01; NaHCO3, 2.0; เฮมิน 0.005; L-cysteine ไฮโดรคลอไรด์ 0.5; เกลือน้ำดี 0.5; ทำการเติมของเหลวต่อไปนี้: tween 80, 2.0 ml; วิตามินเค, 10 ไมโครลิตร; 0.025% (w / v) โซลูชั่น resazurin, 4.0 มล. (Vernazza et al., 2006; Olano-Martin et al., 2000; Sanz et al., 2005; Stiverson et al., 2014) ค่าเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 ตัวอย่างได้รับการฉีดวัคซีนด้วยสารละลายอุจจาระ 1 มล. ซึ่งจัดทำขึ้นโดยการหมัก (10%, w / v) ในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS (ใน g / l) NaCl, 8.0; KCl, 0.2; Na2HPO4), 1.15; KH2HPO4, 0.2; pH 7.0) แต่ละหลอดถูกเติม (1 มล.) ของสารละลายอุจจาระผสมกับ vortexing อย่างแรง หลอด Hungate

ทั้งหมดได้รับการเก็บภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนด้วย $O_2$ ปรอด $N_2$ หลังจากปิดผนึกด้วยยางบิวทิลพร้อมซีลอลูมิเนียมแบบ crimped หลอดเพาะเลี้ยงเหล่านี้จะถูกดำเนินการและบ่ม 37 °C เป็นเวลา 24, 48 ชั่วโมงในตู้อบแบบเขย่า จากนั้นตัวอย่างของเหลว 2 มิลลิลิตรจะถูกเก็บแยกไว้ในหลอด microcentrifuge และแยกที่ 4 °C เป็นเวลา 10 นาทีที่ 16,000 x g และ peletted ถูกเก็บรักษาไว้ที่ -80 °C สำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์และ aliquot ส่วนที่เหลือลงในหลอด microcentrifuge 2 ที่ - 20 °C สำหรับการวิเคราะห์กรดไขมันระเหย (VFA) โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี บันทึกค่า pH ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองด้วยเครื่องวัดค่า pH แรงดันแก๊สในแต่ละหลอด Hungate วัดโดยใช้ manometer (ตรวจสอบได้; Fisher Scientific) เพื่อตรวจสอบการผลิตแก๊สทั้งหมด

4.3.4 การสกัด DNA จุลินทรีย์

ตัวอย่างถูกละลายใน 4 องศาเซลเซียสในชั่วข้ามคืน DNA ชุมชนทั้งหมดถูกสกัดโดยใช้วิธี RBB + C (Yu and Morrison, 2004) โดยใช้วิธีการเต้นซ้ำลูกปัดและการทำให้บริสุทธิ์คอลัมน์โดยใช้ชุด QIAamp DNA Stool Mini ประเมินคุณภาพ DNA โดย agarose gel (1.0%) electrophoresis ความเข้มข้นของ DNA ถูกวัดปริมาณโดยใช้เครื่องนาโนสโคป ND-1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, DE) แบ่งส่วนสารละลายดีเอ็นเอออกเป็นสองหลอดขนาด 1.5 มล. Eppendorf หนึ่งหลอดสำรองไว้ที่ -80 °C และอีกหลอดหนึ่งเก็บไว้ที่ -20 °C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

**ตารางที่ 4.1** Primer ใช้สำหรับการหาปริมาณ PCR แบบเรียลไทม์

| Primer | Sequence (5' – 3') | Targeted bacteria | Annealing temperature | Amplicon length (bp) | Reference |
|---|---|---|---|---|---|
| 27f | AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG | Bacteria | 54 °C | 1535 | Lane DJ, 1991 |
| 1525r | AAG GAG GTG WTC CAR CC | | | | |
| 340f | TCC TAC GGG AGG CAG CAG T | Bacteria | 60 °C | 467 | Nadkarni MA., et al, 2002 |
| 806r | GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT | | | | |
| Bif164-f | GGG TGG TAA TGC CGG ATG | *Bifidobacteria* | 60 °C | 530 | Satokari RM., et al, 2001 |
| Bif662-r | CCA CCG TTA CAC CGG GAA | | | | |
| Cdif-706f | ATT AGG AGG AAC ACC AGT TG | *C. difficile* | 54 °C | 307 | Xia Q., et al, 2012 |
| Cdif-994r | AGG AGA TGT CAT TGG GAT GT | | | | |
| ECA75F | GGA AGA AGC TTG CTT CTT TGCT GAC | *E. coli* | 56 °C | 545 | Sabat G., et al 2000 |
| ECR619R | AGC CCG GGG ATT TCA CAT CTG ACT TA | | | | |
| Lac1 | AGC AGT AGG GAA TCT TCC A | *Lactobacillus* | 60 °C | 345 | Sabat G., et al 2000 |
| Lac2 | ATT YCA CCG CTA CAC ATG | | | | |
| InvA-F | GAA ATT ATY GCC ACR TTC GGG CAA | *Salmonella* | 52 °C | 282 | Shan Wei., et al, 2013 |
| InvA-R | TCA TCG CAC CGT CAA ARG ARC C | | | | |
| *TaqMan probe | 6-FAM-5'-CGT ATT ACC GCG GCT GCT GGC AC-3'-TAMRA | | | | Nadkarni MA., et al, 2002 |

* Taqman probe สำหรับใช้กับไพรเมอร์ 340f และ 806r สำหรับการหาปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมด

4.3.5 การจัดทำมาตรฐาน PCR ตามเวลาจริงที่ได้จากตัวอย่าง

มาตรฐาน DNA สำหรับการตรวจ PCR แบบเรียลไทม์ได้จัดทำขึ้นตามที่อธิบายไว้ (Chen et al., 2007) โดยสรุปสำหรับไพรเมอร์ PCR แบบเรียลไทม์แต่ละครั้งไพรเมอร์เฉพาะมาตรฐานที่ได้มา 1 ตัวอย่างนั้นถูกใช้โดยทั่วไปของตัวอย่างจากกลุ่มของตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดในการทดลองในปริมาณที่เท่ากันของความเข้มข้นของ DNA จากตัวอย่างทั้งหมดที่จะวิเคราะห์ สำหรับแบคทีเรียทั้งหมดมาตรฐานถูกเตรียมใช้ไพรเมอร์สากล 27f และ 1525r (Lane, 1991) ซึ่งขยายยีน rrs เกือบเต็มความยาวจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงคือผลิตภัณฑ์ PCR ใช้กลุ่มตัวอย่าง DNA สำหรับแต่ละปฏิกิริยา PCR ในปริมาตร 50 ul ซึ่งประกอบด้วยบัฟเฟอร์ Taq Reaction 1X มาตรฐาน (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl และ 1.5 mM MgCl2 (pH8.3)) , 200 uM dNTP, 500 nM ของแต่ละไพรเมอร์, 670 ng / ul bovine serum albumin, 1.25 U ของ Taq DNA polymerase (BioLabs) และเทมเพลต DNA PCR assay ใช้ thermocycler PTC-100 (งานวิจัย MJ, Waltham, MA) โปรแกรมความร้อน PCR ประกอบด้วยขั้นตอนการเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที 40 รอบของขั้นตอนการสูญเสียสภาพ 30 วินาทีที่ 95 $^{o}$C, ขั้นตอนการหลอม 30 วินาทีที่อุณหภูมิที่เกี่ยวข้องในตารางที่ 1 และขั้นตอนการยืดตัวที่ 40 วินาทีที่ 72 $^{o}$C และขั้นตอนการขยายสุดท้ายที่ 72 $^{o}$C เป็นเวลา 7 นาทีก่อน 4 $^{o}$C ลำดับเป้าหมายในตัวอย่างได้รับการยืนยันโดย agarose gel (1.0%) electrophoresis ไม่มีการควบคุมแม่แบบและตัวอย่างการควบคุมเชิงบวกที่รวมอยู่ในการตรวจ PCR ทั้งหมด และผลิตภัณฑ์รองพื้นแต่ละชิ้นของ PCR ได้รับการทำให้บริสุทธิ์โดยชุดการทำให้บริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ Qiagen PCR (Invitrogen) ความเข้มข้นของ DNA ของแต่ละมาตรฐาน qPCR ถูกกำหนดโดยใช้ Quant-iT kit (Invitrogen Corporation, Carlsbed, CA, USA) และ Mx3000P เรียลไทม์ระบบ PCR (Stratagene, La Jolla, CA) จำนวนสำเนาของความเข้มข้นของดีเอ็นเอคำนวณจากความยาวของผลิตภัณฑ์ PCR และความเข้มข้นของมวลแต่ละมาตรฐาน มาตรฐานถูกเก็บไว้ที่ -80 °C การเจือจางอนุกรมสิบเท่า (1:10) ของมาตรฐานถูกสร้างขึ้นก่อนการทดสอบ PCR แบบเรียลไทม์แต่ละครั้งโดยใช้บัฟเฟอร์ TE

4.3.6 การหาปริมาณของแบคทีเรียที่มีปริมาณมากโดยการวิเคราะห์ปริมาณ PCR แบบเรียลไทม์ (qPCR)

ไพรเมอร์และโพรบที่ใช้ในการทดสอบ PCR แบบเรียลไทม์แสดงในตารางที่ 1 ลำดับไพรเมอร์ถูกเปรียบเทียบกับลำดับฐานข้อมูลโดยการค้นหา BLAST (GenBank) เชื้อ Salmonella ไม่ได้ถูกวัดปริมาณเนื่องจากการวิเคราะห์จุดสิ้นสุด PCR เริ่มต้นของมาตรฐานแสดงให้เห็นว่ามีแบคทีเรียกลุ่มนี้เกิดขึ้นน้อยมาก (ไม่แสดงข้อมูล) ขนาดของประชากรทั้งหมดของแบคทีเรียถูกวัดปริมาณโดยใช้วิธีการทดสอบของ TaqMan ในขณะที่ขนาดของไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงอื่น (เช่น Bifidobacteria, Clostridium difficile, E. coli และ Lactobacillus) ถูกทำปริมาณโดยใช้ SYBR-based การทดสอบ PCR แบบเรียลไทม์ดำเนินการโดยใช้ระบบ PCR แบบเรียลไทม์ Mx3000P (Stratagene) สำหรับ PCR แบบเรียลไทม์แต่ละรายการในปริมาณปฏิกิริยา 25 uL ในการเพิ่มขึ้นสาม

เท่า PCR หลักแบบเรียลไทม์ประกอบด้วยบัฟเฟอร์ 1XPCR, 1.75 mmol / L MgCl2, 670 ng / ul bovine เซรั่มอัลบูมิน, 200 umol / L dNTP, 500 nmol / L แต่ละไพรเมอร์, 0.133x ของ SYBR Green I (Invitrogen), 30 นาโนเมตรอ้างอิง dry ROX (Stratagene), 1.25 U Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen) และเพิ่ม 0.5 ul ของ DNA ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดโดยใช้ PCR แบบเรียลไทม์บัฟเฟอร์ 1XPCR, 1.75 mmol / L MgCl2, 670 ng / ul bovine เซรั่มอัลบูมิน, 200 umol / L dNTP, 500 nmol / L แต่ละไพรเมอร์, Taqman probe, 1.25 U Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen) และเพิ่ม 0.5 ul ของ DNA

ความร้อนของแบคทีเรียทั้งหมดถูกหาปริมาณโดยใช้ PCR แบบเรียลไทม์ตามที่อธิบายไว้ก่อนหน้านี้โดย Nadkarni et al. (2002) โปรไฟล์ความร้อนของชุด PCR แบบเรียลไทม์สำหรับ bifidobacteria, clostridium difficile, E. coli และแลคโตบาซิลลัสมีดังนี้: การสูญเสียสภาพเริ่มต้นที่ 95 °C เป็นเวลา 4 นาทีตามด้วยการวนรอบ 45 องศาที่ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที วินาทีที่อุณหภูมิการหลอมตามลำดับในตารางที่ 1 ยืดตัวที่ 72 °C เป็นเวลา 40 วินาทีและ 86 °C เป็นเวลา 18 วินาที หลังจาก 45 รอบถูกจัดขึ้นที่ 95 °C เป็นเวลา 1 นาทีเย็นลงถึง 55 °C เป็นเวลา 30 วินาทีและค่อย ๆ ramped สูงถึง 95 °C ถูกจัดขึ้นเป็นเวลา 30 วินาทีเพื่อยุติปฏิกิริยา สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้รับสองครั้งต่อรอบ: ที่ 72 °C และ 86 °C (จุดสิ้นสุด) รวมถึงระหว่างการ ramping จาก 55 °C ถึง 95 °C (ทุกจุด)

4.3.7 การวิเคราะห์กรดไขมันระเหย

ตัวอย่างการหมักทั้งหมดได้รับการพิจารณาเชิงปริมาณสำหรับกรดไขมันระเหย (กรดอะซิติก, กรดโพรพิโอนิค, กรดไอโซบิวริก, กรดบิวริก, กรดไอโซ - วาลลิกและกรด valeric) โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟีคือ Hewlett-Packard 5890 A . et al., 2013. โดยสังเขปอุณหภูมิของเตาอบเริ่มแรก 113 ° C และเพิ่มขึ้น 2 ° C / นาทีมากกว่า 14 นาที; อุณหภูมิของหัวฉีด 150 ° C และอุณหภูมิของเครื่องตรวจจับเป็น 180 °C, 1.0 µl ของตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์มาจาก Supelco, 6 ฟุตจากแก้ว 2 มม. และบรรจุด้วย GP 15% SP-1220 / 1% H3PO4 เฟสคงที่สำหรับการสนับสนุน Chromosorb W AW 100/120 โดยใช้ N2 เป็นแก๊สพาหะ (20 มล. / นาที) เครื่องตรวจจับเป็นชนิดเปลวไฟไอออนไนซ์และเติมเชื้อเพลิงโดย H2 (300 มล. / นาที) และอากาศ (300 ถึง 400 มล.) ระดับของกรดไขมันระเหยได้ถูกกำหนดโดยใช้กรด 2-ethylbutyric เป็นมาตรฐานภายใน หลังจากทำความสะอาดทุกสิบตัวอย่างคอลัมน์จะถูกล้างด้วยการฉีดส่วนผสม VFA มาตรฐาน 1.0 (l (กรดอะซิติก 14.12 mM, กรด propionic 4.71 mM, กรด iso-butyric 0.471 mM, กรด butyric 3.53 mM, 0.706 mM valeric 10 mM 2-ethylbutryate)

4.3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการหมักอุจจาระโดยใช้กระบวนการ PROC GLM ของโปรแกรม SAS ใน 2 (0% strach และ 1% strach) x 4 (ระดับของอินูลิน 0%, อินูลิน 1%, อินูลิน 2%, 4% อินูลิน) ปัจจัยในการ

ออกแบบ CRD เพื่อเปรียบเทียบผลของอินูลินในแต่ละระดับของแป้งแต่ละชนิดเพื่อทดสอบระดับผลเปรียบเทียบความแตกต่างพหุนามฉากกับการควบคุมถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลเชิงเส้น, กำลังสองและลูกบาศก์ของระดับที่เพิ่มขึ้นของอินูลิน ความอุดมสมบูรณ์จากการตรวจ PCR แบบเรียลไทม์แต่ละครั้งจะถูกแปลงเป็นค่าประมาณของสำเนายีน rrs เฉลี่ยต่อมิลลิลิตรของตัวอย่างการหมักอุจจาระและบันทึกการเปลี่ยนแปลงก่อนการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อปรับปรุงมาตรฐาน มีการประกาศความสำคัญที่ $P \leq 0.05$ แนวโน้มที่ $0.05 < P \leq 0.10$ ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงเชิงตัวเลขที่ $0.10 < P \leq 0.15$

4.3.9 สถานที่ทดลอง

ทำการทดลองที่ Waterman Dairy Unit เมืองโคลัมบัสรัฐโอไฮโอ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อาคารวิทยาศาสตร์สัตว์ มหาวิทยาลัยโอไฮโอสเตต สหรัฐอเมริกา และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล**

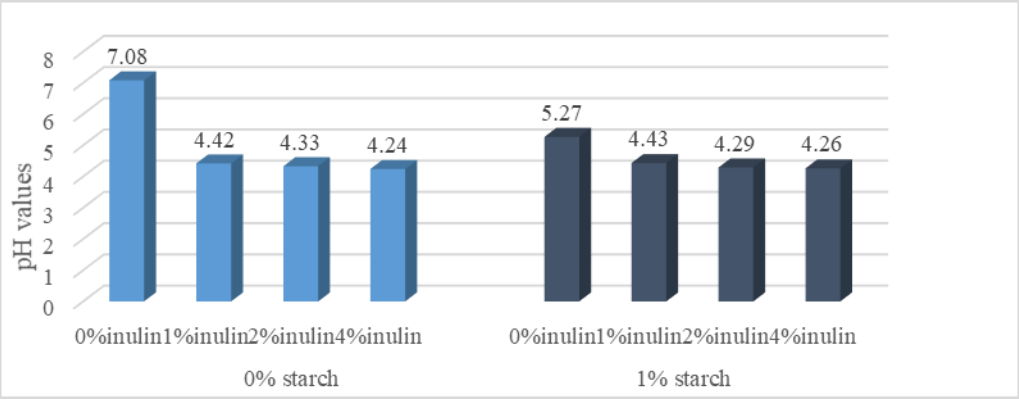
4.4.1 รวมแก๊สและ pH ที่ 24 ชั่วโมง

ค่าเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ที่ประมาณ 7.0 ในตาราง 4.2 แสดงค่ารวมของแก๊สและค่า pH ของอินูลินไหลผ่าน ในการหมักอุจจาระ การผลิตแก๊สโดยรวมของการหมักอุจจาระด้วยอินูลินในตอนท้ายของ 24 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเมื่อเพิ่มขึ้นร้อยละของอินูลิน ซึ่งสะท้อนพร้อมกันโดยการผลิตแก๊สเพิ่มขึ้นอย่างมากในระดับสูงของอินูลิน และการผลิตแก๊ส จาก 0 ถึง 24 ชั่วโมง) Philippeau C. (2010) ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในเนื้อลูกวัวในหลอดทดลอง การเพิ่ม scFOS เพิ่มการผลิตแก๊สเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (จาก 4.5 เป็น 9.0 ชม.) ในขณะที่ความเข้มข้นของ scFOS ได้รับผลกระทบเฉพาะ ($P < 0.05$) การผลิตแก๊สที่ 7.5 และ 9.0 ชั่วโมงของการบ่ม

ในทางตรงกันข้ามค่าความเป็นกรดด่างของการหมักอุจจาระที่ 24 ชั่วโมงจะลดลงเชิงเส้น ($P < 0.001$) เมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของอินูลิน การศึกษานี้คล้ายกับที่รายงานโดย Ning Zhang et al. (2013) ผู้ศึกษาสมาชิกของแบคทีเรียในอุจจาระบางคนใช้ fructans กระเทียมในการเจริญเติบโตส่งผลให้ pH ในหลอดทดลอง การเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่ระยะฟักตัวที่แตกต่างกันในช่วง 24 ชั่วโมงในการหมักแบบแบตตารี่ ค่าความเป็นกรด - ด่างของเชื้อแบคทีเรีย fructans ลดลงอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา ($P < 0.05$) และที่ 24 ชั่วโมงค่าความเป็นกรดเป็น 4.67 (fructans กระเทียม, DP: 16) และ 4.97 (fructans กระเทียม, DP: 21) นี่อาจเป็นผลมาจากการผลิตกรดอินทรีย์เช่น กรดไขมันสายสั้น สิ่งนี้สอดคล้องกับสิ่งที่ค้นพบโดย Stiverson et al. (2014) ที่ศึกษาผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกที่ใช้ในตัวอย่างหลอดทดลองของอุจจาระรายงานค่า pH ของหลอดทดลอง เริ่มต้นก่อนการฟักตัวประมาณ 6.4 การเพิ่มผลิตภัณฑ์ GOS หรือทั้งผลิตภัณฑ์ GOS และผลิตภัณฑ์อินูลิน (Beneo® HP) ลดค่า pH

ของการเพาะเลี้ยงโดย > 2 หน่วย pH หลังจากการบ่ม 12 ชั่วโมง Vigsnaes et al. (2011) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการหมักน้ำตาลหัวผักกาด Arabino-Oligosaccharides โดยอุจจาระ microbiota ที่ได้รับจากผู้ป่วย รายงานสำหรับตัวอย่างทุกประเภทค่าความเป็นกรด - ด่างในตัวอย่างที่บ่มด้วย FOS และ AOS ต่ำกว่าในตัวอย่างที่บ่มโดยไม่มีสารตั้งต้น สิ่งนี้สอดคล้องกับสิ่งที่ค้นพบโดย Pinna et al. (2014) การศึกษาผลของหลอดทดลองของสารพรีไบโอติกบางชนิดและโปรตีนในอาหาร 2 ระดับต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของ fecal microbiota ค่า pH หลังจาก 6 ชั่วโมง ของการฟักตัวลดลง (P <0.05) ด้วยกรดกลูโคนิก (-0.09) และฟรุกโตลิโกโกแซคคาไรด์ (-0.15) เมื่อเทียบกับการควบคุม ที่ 24 ชั่วโมงค่าพีเอชต่ำกว่าในชุดควบคุม (P <0.05) ในตัวอย่างที่ผ่านการบำบัด (-0.28 สำหรับกรดกลูโคนิก, -0.11 สำหรับเส้นใยแครอท, -0.43 สำหรับฟรุกโตลิโกโกแซคคาไรด์, -0.26 สำหรับกาแลคโต -0.52 สำหรับเพกตินจากผลไม้ตระกูลส้ม) Pinna et al. (2016) ปัจจุบันในการศึกษาในหลอดทดลองตรวจสอบว่าการใช้ประโยชน์ของ fructooligosaccharides (FOS) อาจมีผลต่อประชากรจุลินทรีย์ในอุจจาระสุนัขในการปรากฏตัวของอาหารที่แตกต่างกันในปริมาณโปรตีนและการย่อยได้ของพวกเขา ค่า pH ลดลงโดย FOS ที่ 6 และ 24 ชั่วโมง (p <0.001)

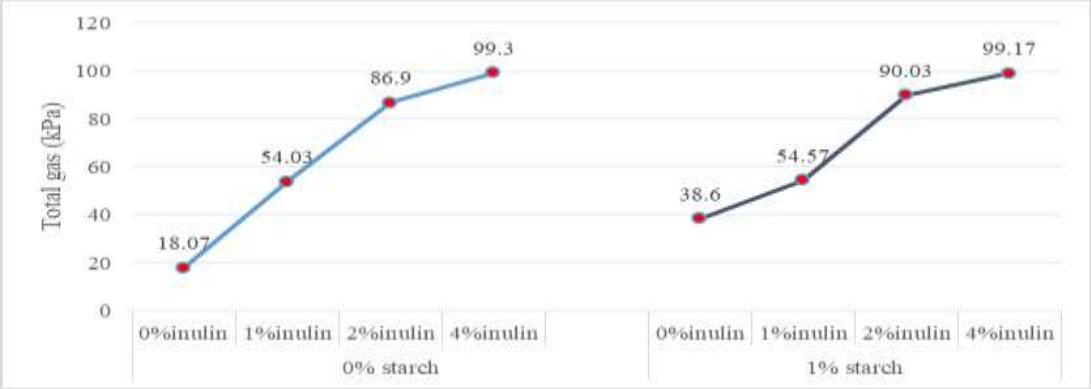
การหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียส่งผลให้เกิดการผลิต VFA และกรดแลคติกซึ่งช่วยลดค่า pH ในลำไส้ (Pinna et al., 2014) โดยทั่วไปแล้วการลดค่า pH ในลำไส้เป็นผลในเชิงบวกเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดมากขึ้นอาจช่วยป้องกันแบคทีเรียที่ไม่พึงประสงค์และทำให้เกิดโรค (McQuaid, 2005) โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเช่น scFOS สามารถหมักได้โดยลูกวัวส่วน ileal microbiota แม้ว่าลูกวัวไม่ได้ถูกปรับให้เข้ากับการเสริม




**รูปที่ 4.1** ผลของอินูลินไหลผ่านค่าความเป็นกรดเป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้ออุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง

**ตารางที่ 4.2** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อปริมาณแก๊สและค่าความเป็นกรดเป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้ออุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง

| **Treatment A** | **Treatment B** | **pH values** | **Total gas (kPa)** |
|---|---|---|---|
| 0% starch | 0%inulin | 7.08 | 18.07 |
| | 1%inulin | 4.42 | 54.03 |
| | 2%inulin | 4.33 | 86.90 |
| | 4%inulin | 4.24 | 99.30 |
| **Contrast** | | | |
| linear | | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | <.0001 | 0.0032 |
| | | | |
| 1% starch | 0%inulin | 5.27 | 38.60 |
| | 1%inulin | 4.43 | 54.57 |
| | 2%inulin | 4.29 | 90.03 |
| | 4%inulin | 4.26 | 99.17 |
| **Contrast** | | | |
| linear | | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | <.0001 | 0.0077 |
| Cubic | | <.0001 | <.0001 |
| | | | |
| Root MSE | | 0.041526 | 1.940898 |
| | | | |
| Effect | | | |
| Starch*Inulin | | <.0001 | <.0001 |
| Starch | | <.0001 | <.0001 |
| Inulin | | <.0001 | <.0001 |




**รูปที่ 4.2** ผลกระทบของอินูลินไหลผ่านต่อแก๊สทั้งหมดในหลอดทดลองของอุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง

4.4.2 ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหย (VFA)

เทคนิคการผลิตแก๊สแบบสะสมสามารถใช้ในการศึกษาผลของ inocula (เป็นแหล่งของจุลินทรีย์) และสารตั้งต้นต่อลักษณะการหมักในหลอดทดลองระหว่าง inocula และสารตั้งต้น (Williams et al., 2001) การผลิตแก๊สสะสมจะทำการวัดจลนพลศาสตร์การหมักและผลิตภัณฑ์สุดท้ายเช่นการผลิตแก๊สทั้งหมดและ VFA (Shim et al., 2007) Bauer et al. (2004) รายงานว่าอุจจาระ inocula สามารถใช้สำหรับการประเมินในหลอดทดลองของการหมักในลำไส้ใหญ่

การเสริมอินูลินแสดงให้เห็นถึงผลกระทบต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกบิวทิคโพรพิโอนิค ไอโซบิวตริก วาเลอริคและกรดไอโซวอลอริคสำหรับตัวอย่างอุจจาระทั้งหมด (ตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.4) การเติมแป้ง (แป้ง 0% และแป้ง 1%) มีอิทธิพลต่ออะซิเตตบิวเทรตและอะซิเตตต่ออัตราส่วน propionate (A / P) (P <0.001) ในตอนท้ายของ 24 ชั่วโมง แต่ที่ 48 ชั่วโมงไม่มีอิทธิพลต่อ butyrate valerate และ iso-butyrate ความเข้มข้นของ VFA ในตอนท้ายของการฟักตัว 24 และ 48 ชั่วโมงมีผลต่อระดับของอินูลิน สัดส่วนของอะซิเตตต่อโพรพิโอเนตอัตราส่วน (A / P) อย่างมีนัยสำคัญที่ 24 และ 48 ชั่วโมงของการบ่ม

คล้ายกับที่รายงานโดย Wang et al. (2010) การศึกษาในหลอดทดลองของการหมักเส้นใยโดย swecfecal microflora ซึ่งหลังจาก 24 ชั่วโมงในการหมักในหลอดทดลอง, อินูลินต่ำกว่า (P <0.05) ค่า pH และความเข้มข้นของ VFA เมื่อเทียบกับ carboxymethylcellulose (CMC) pH มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างรุนแรง = -0.94, P = 0.02) ที่ความเข้มข้น VFA รวมของหัวเชื้อ การศึกษาในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วยอินูลินทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลงเมื่อขนาดเพิ่มขึ้นของ cecal VFA (Zdunczyk et al., 2006) คาร์โบไฮเดรตที่ไปถึงลำไส้ใหญ่อาจถูกทำลายโดยแบคทีเรียในกระบวนการหมักเพื่อผลิต VFA และแก๊สอื่น ๆ เช่นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ (Tomlin et al., 1986)

อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้เปรียบเทียบกับการควบคุม (อินูลิน 0%) อย่างมีนัยสำคัญลดกรดอะซิติกและเพิ่มสัดส่วนของกรดโพรพิโอนิคและ butyric สิ่งนี้สอดคล้องกับสิ่งที่ค้นพบโดย Pinna et al. (2014)

การศึกษาผลของหลอดทดลองของสารพรีไบโอติกบางชนิดและโปรตีนในอาหาร 2 ระดับต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของ fecal microbiota ในแมว, ความเข้มข้นของ VFA หลังจากการบ่ม 24 ชั่วโมงมีค่ามากกว่า (P <0.05) ในขวดควบคุมที่มีเส้นใยแครอท + 41%) สัดส่วนกรดอะซิติกลดลง (P <0.05) โดย fructooligasaccharides (FOS) (-13%), galactooligosaccharides (GOS) (-12%) และ lactitol (LAC) (-17%) สัดส่วนของกรดโพรพิโอนิคเพิ่มขึ้น (P <0.05) โดย LAC (+ 8%) เมื่อเปรียบเทียบกับการควบคุมสัดส่วนของกรด n-butyric เพิ่มขึ้น (P <0.05) โดย FOS (+ 13%), GOS (+ 15%) และ LAC (+ 10%) ในขณะที่อัตราส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิคลดลง โดย LAC (-51%; P <0.05) Pinna et al. (2016) ปัจจุบันในการศึกษาในหลอดทดลองตรวจสอบว่าการใช้ประโยชน์ของ fructooligosaccharides (FOS) อาจมีผลต่อประชากรจุลินทรีย์ในอุจจาระสุนัขในการปรากฏตัวของอาหารที่แตกต่างกันในปริมาณโปรตีนและการย่อยได้ของพวกเขา ความเข้มข้นของ VFA หลังจาก 24 ชั่วโมง จากการหมักพบว่า FOS ให้ผล (P <0.001) ในความเข้มข้น VFA รวม (+ 43%), กรดอะซิติก (+ 14%), กรดโพรพิโอนิค (+ 75%) และกรด N-butyric (+ 372%) อัตราส่วนกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิคลดลงด้วย FOS (P <0.01) เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่ากรดไขมันสายโซ่สั้น (SCFAs) - กรดอะซิติก, โพรพิโอนิและกรดบิวริกจะมาจากคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ในขณะที่กรดไอโซบิวริกและกรดไอโซ - วาลลิกมาจากแหล่งโปรตีน (Maria E. C. et al., 2005) ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่สำคัญของการหมักคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ใหญ่คือ VFA, CH4, H2, CO2 และ NH3 Oligofructose มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบและกิจกรรม microbiota และจากการผลิตของ VFA มันอาจส่งผลประโยชน์ต่อระบบนิเวศลำไส้และสุขภาพ (Houdijk et al., 1997; Estrada et al., 2001; He et al., Xu et al., 2002) การผลิต VFA ซึ่งผลิตขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักโดย microbiota อาจเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร (Cummings and Macfarlane, 1991) VFA แต่ละตัวที่ผลิตในลำไส้ใหญ่อาจมีบทบาทเฉพาะ ตัวอย่างเช่นกรดอะซิติกทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำหรับเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อและกรดโพรพิโอนิคจะถูกแปลงในตับ นอกจากนี้กรด butyric เป็นสารตั้งต้นที่ต้องการสำหรับเซลล์ colonic epithelial (Roediger, 1980) Shim et al. (2007) ผลลัพธ์ที่นำเสนอแสดงให้เห็นว่าประเภทของคาร์โบไฮเดรตที่หมักได้มีความสำคัญในการกำหนดจำนวนและรายละเอียดของ VFA ในลำไส้ใหญ่

**ตารางที่ 4.3** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อความเข้มข้น VFA ในหลอดทดลองอุจจาระในเวลา 24 ชั่วโมง

| Treatment A | Treatment B | Total VFA (mM) | Acetate (mM) | Propionate (mM) | Butyrate (mM) | Valerate (mM) | Isobutyrate (mM) | Isovalerate (mM) | Acetate/ Propionate |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0% starch | 0%inulin | 33.27 | 18.36 | 6.44 | 3.23 | 2.55 | 1.00 | 1.68 | 2.85 |
| | 1%inulin | 83.42 | 31.30 | 38.45 | 6.84 | 5.47 | 0.65 | 0.71 | 0.81 |
| | 2%inulin | 79.32 | 14.47 | 17.65 | 24.53 | 20.22 | 1.94 | 0.51 | 0.82 |
| | 4%inulin | 91.17 | 17.22 | 17.37 | 30.75 | 20.75 | 4.67 | 0.41 | 0.99 |
| **Contrast** | | | | | | | | | |
| Linear | | <.0001 | <.0001 | 0.0003 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0122 | 0.0010 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.7900 | 0.0004 | <.0001 |
| 1% starch | 0%inulin | 55.48 | 33.45 | 8.49 | 8.15 | 3.02 | 0.91 | 1.46 | 3.94 |
| | 1%inulin | 80.34 | 32.14 | 33.75 | 7.55 | 5.53 | 0.68 | 0.69 | 0.95 |
| | 2%inulin | 78.83 | 15.12 | 16.51 | 24.98 | 19.83 | 1.90 | 0.49 | 0.92 |
| | 4%inulin | 90.79 | 17.92 | 16.95 | 31.30 | 20.94 | 4.71 | 0.42 | 1.01 |
| **Contrast** | | | | | | | | | |
| Linear | | <.0001 | <.0001 | 0.0055 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | 0.0014 | 0.0110 | <.0001 | <.0001 | 0.0174 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.8506 | 0.0049 | <.0001 |
| Root MSE | | 2.6162 | 1.2152 | 0.8592 | 0.7021 | 0.4477 | 0.2586 | 0.0508 | 0.0807 |
| **Effect** | | | | | | | | | |
| Starch*Inulin | | <.0001 | <.0001 | 0.0001 | 0.0002 | 0.4866 | 0.9696 | 0.0055 | <.0001 |
| Starch | | 0.0018 | <.0001 | 0.0162 | <.0001 | 0.6703 | 0.9024 | 0.0123 | <.0001 |
| Inulin | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |

**ตารางที่ 4.4** ผลของอินูลินไหลผ่านต่อความเข้มข้นของ VFA ในหลอดทดลองอุจจาระเวลา 48 ชั่วโมง

| Treatment A | Treatment B | Total VFA (mM) | Acetate (mM) | Propionate (mM) | Butyrate (mM) | Valerate (mM) | Isobutyrate (mM) | Isovalerate (mM) | Acetate/ Propionate |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0% starch | 0%inulin | 35.19 | 19.59 | 6.61 | 3.35 | 2.88 | 1.05 | 1.70 | 2.96 |
| | 1%inulin | 83.06 | 31.75 | 35.11 | 8.69 | 8.05 | 0.40 | 0.70 | 0.90 |
| | 2%inulin | 90.47 | 10.97 | 15.04 | 33.64 | 29.42 | 0.90 | 0.50 | 0.73 |
| | 4%inulin | 105.80 | 19.41 | 13.61 | 40.35 | 27.74 | 4.27 | 0.42 | 1.43 |
| **Contrast** | | | | | | | | | |
| Linear | | <.0001 | <.0001 | 0.6686 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | <.0001 | 0.0039 | <.0001 | 0.6481 | 0.0051 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | 0.0024 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0593 | <.0001 | <.0001 |
| 1% starch | 0%inulin | 59.52 | 36.45 | 6.06 | 12.57 | 2.76 | 0.56 | 1.11 | 6.01 |
| | 1%inulin | 93.56 | 38.82 | 31.41 | 12.38 | 9.80 | 0.46 | 0.69 | 1.24 |
| | 2%inulin | 95.82 | 11.56 | 15.26 | 37.18 | 30.55 | 0.80 | 0.48 | 0.76 |
| | 4%inulin | 110.32 | 18.53 | 14.95 | 43.07 | 29.57 | 3.79 | 0.41 | 1.24 |
| **Contrast** | | | | | | | | | |
| Linear | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | 0.0019 | 0.0005 | <.0001 | 0.0474 | 0.0011 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | 0.0025 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0196 | 0.2695 | <.0001 |
| Root MSE | | 4.0402 | 0.8206 | 0.7280 | 2.2683 | 1.5765 | 0.2898 | 0.0270 | 0.0635 |
| **Effect** | | | | | | | | | |
| Starch*Inulin | | 0.0052 | <.0001 | 0.0008 | 0.1112 | 0.7178 | 0.3574 | <.0001 | <.0001 |
| Starch | | <.0001 | <.0001 | 0.0578 | 0.0004 | 0.1256 | 0.0741 | <.0001 | <.0001 |
| Inulin | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |

**ตารางที่ 4.5** ผลของอินูลินไหลผ่าน จากการหมักอุจจาระที่ 24 ชั่วโมงต่อแบคทีเรียทั้งหมด, *E. coli*, Clostridium, Bifidobacterium และ Lactobacillus โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์

| Treatment A | Treatment B | Abundance ($log_{10}$ no. of copies of rrs gene/ml) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Total bacteria | *E. coli* | *Clostridium* | *Bifidobacterium* | *Lactobacillus* |
| 0% starch | 0%inulin | 9.85 | 8.82 | 6.23 | 7.33 | 8.11 |
| | 1%inulin | 10.65 | 8.40 | 6.10 | 8.25 | 8.63 |
| | 2%inulin | 10.58 | 8.06 | 5.74 | 9.08 | 9.21 |
| | 4%inulin | 10.75 | 8.38 | 5.84 | 9.17 | 9.77 |
| **Contrast** | | | | | | |
| Linear | | <.0001 | 0.0012 | 0.0006 | 0.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | 0.0004 | 0.0013 | 0.1520 | 0.1267 | 0.7836 |
| Cubic | | 0.0028 | 0.1669 | 0.0653 | 0.5601 | 0.8345 |
| 1% starch | 0%inulin | 10.38 | 8.63 | 6.00 | 9.44 | 8.33 |
| | 1%inulin | 10.55 | 8.47 | 6.22 | 8.88 | 8.59 |
| | 2%inulin | 10.59 | 8.32 | 5.75 | 8.75 | 8.74 |
| | 4%inulin | 10.80 | 8.45 | 5.91 | 8.91 | 9.67 |
| **Contrast** | | | | | | |
| linear | | 0.0003 | 0.0777 | 0.0336 | 0.1759 | <.0001 |
| Quadratic | | 0.7028 | 0.1022 | 0.6587 | 0.2068 | <.0001 |
| Cubic | | 0.2817 | 0.4940 | 0.0007 | 0.9001 | 0.0057 |
| Root MSE | | 0.1063 | 0.1431 | 0.1187 | 0.4158 | 0.1042 |
| **Effect** | | | | | | |
| Starch*Inulin | | 0.0008 | 0.1246 | 0.0959 | 0.0015 | 0.0018 |
| Starch | | 0.0182 | 0.4232 | 0.8770 | 0.0126 | 0.0579 |
| Inulin | | <.0001 | 0.0003 | 0.0001 | 0.0920 | <.0001 |

**ตารางที่ 4.6** ผลของอินูลินไหลผ่านจากการหมักอุจจาระที่ 48 ชั่วโมงต่อจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด, *E. coli*, Clostridium, Bifidobacterium และ Lactobacillus โดยวิธี PCR แบบเรียลไทม์

| Treatment A | Treatment B | Abundance ($log_{10}$ no. of copies of rrs gene/ml) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Total bacteria | *E. coli* | *Clostridium* | *Bifidobacterium* | *Lactobacillus* |
| 0% starch | 0%inulin | 9.69 | 8.52 | 6.23 | 7.20 | 7.74 |
| | 1%inulin | 10.60 | 8.44 | 5.67 | 8.79 | 8.82 |
| | 2%inulin | 10.71 | 8.34 | 5.73 | 9.14 | 9.11 |
| | 4%inulin | 10.75 | 8.42 | 5.90 | 9.33 | 9.40 |
| **Contrast** | | | | | | |
| linear | | <.0001 | 0.1048 | 0.0022 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | <.0001 | 0.1664 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Cubic | | 0.0016 | 0.3691 | 0.0689 | 0.0003 | 0.0041 |
| 1% starch | 0%inulin | 10.38 | 8.52 | 6.53 | 9.87 | 8.20 |
| | 1%inulin | 10.65 | 8.43 | 6.00 | 9.08 | 8.98 |
| | 2%inulin | 10.73 | 8.48 | 5.84 | 9.27 | 9.04 |
| | 4%inulin | 10.76 | 8.46 | 5.89 | 9.26 | 9.37 |
| **Contrast** | | | | | | |
| linear | | <.0001 | 0.5617 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Quadratic | | 0.0093 | 0.5236 | <.0001 | <.0001 | 0.0002 |
| Cubic | | 0.4518 | 0.3450 | 0.4656 | <.0001 | 0.0002 |
| Root MSE | | 0.068226 | 0.080626 | 0.087595 | 0.078388 | 0.079211 |
| **Effect** | | | | | | |
| Starch*Inulin | | <.0001 | 0.4317 | 0.0271 | <.0001 | 0.0003 |
| Starch | | <.0001 | 0.2119 | 0.0003 | <.0001 | 0.0024 |
| Inulin | | <.0001 | 0.1898 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |

4.4.3 แบคทีเรียทั้งหมด *E. coli* Clostridium Bifidobacterium และ Lactobacillus

ปริมาณแบคทีเรียรวม *E. coli* Clostridium Bifidobacterium และแลคโตบาซิลลัสได้ถูกตรวจสอบในแต่ละหัวเชื้อที่รวบรวมจากการเพาะเลี้ยงอุจจาระที่ใช้ในการตรวจสอบผลกระทบของอินูลินที่แตกต่างกัน% แป้งและอินูลินไม่มีผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อ *E. coli* ที่ 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.6) แป้งไม่ส่งผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อ *E. coli* และ clostridium ที่ 24 ชั่วโมงและความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อ E. coli ที่ 48 ชั่วโมง แต่อินูลินมีผลต่อความสมบูรณ์ของ *E. coli* และ clostridium ที่ 24 ชั่วโมง การเติมแป้ง 0% หรือแป้ง 1% ไม่แตกต่างกันความหลากหลายของเชื้อ *E. coli*, Clostridium ที่ 24 ชั่วโมงและ E. coli ที่ 48 ชั่วโมงการบ่ม แบคทีเรียรวมบิฟิโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลลัสมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงโดยเพิ่มระดับของอินูลินเมื่อสิ้นสุดการบ่ม 24 ชั่วโมง แต่เชื้ออีโคไล Clostridium ลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อเพิ่มอินูลินในตอนท้ายของ 24 ชั่วโมง ที่ 48 ชั่วโมงของการบ่มระดับของอินูลินไม่ส่งผลกระทบต่อความสมบูรณ์ของอีโคไล เชื้อ *E. coli*, Clostridium นั้นไม่ได้รับผลกระทบจากแป้ง 0% หรือแป้ง 1% ที่ระดับใด ๆ ของอินูลินที่ 24 ชั่วโมงของการบ่ม ความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อ *E. coli* ไม่ได้รับผลกระทบใน 48 ชั่วโมง

สอดคล้องกับข้อค้นพบของ Qing Xia et al. (2012) รายงานการศึกษาคือการตรวจสอบด้วยฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (FOS) ต่อกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้บางกลุ่มในระยะทารก ทารกที่ได้รับนมผสมสูตรมีแนวโน้มที่จะมีแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอุจจาระของพวกเขามากกว่าทารกที่ป้อนนมมนุษย์ การเสริม FOS ในขนาดยาทั้งสองไม่เพิ่มประชากร bifidobacterial หรือ lactobacilli อย่างมีนัยสำคัญหรือลดประชากรของ *C. difficile, E. coli* หรือ Bacteroides Pinna et al. (2014) การศึกษาในหลอดทดลองของสารพรีไบโอติกบางชนิดและระดับโปรตีนในอาหาร 2 ระดับต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของ fecal microbiota ในแมว ซึ่งนับจำนวนแบคทีเรียหลังจาก 6 และ 24 ชั่วโมง ของการฟักตัวของ แลคโตบาซิลลัส และบิฟิโดแบคทีเรีย พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน *Clostridium perfringens* นับที่ 6 ชม. มีค่ามากกว่า ($P < 0.05$) ในขวดควบคุมที่มีเส้นใยแครอท (+1.5 log cells / mL), fructooligasaccharides (+1.9 log cells / mL) และ lactitol (+1.6 log cells / mL) และหลังจาก 24 ชั่วโมงจำนวน *Clostridium perfringens* ไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ

## 4.5 สรุป

เทคนิคการผลิตแก๊สแบบสะสมสามารถใช้ในการศึกษาผลของการเลี้ยงเชื้อโดยการ inocula และสารตั้งต้นที่มีผล ต่อลักษณะการหมักในหลอดทดลอง (*in vitro*) ระหว่าง inocula และสารตั้งต้น การผลิตแก๊สสะสม การวัดจลนพลศาสตร์การหมัก และผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่นการผลิตแก๊สทั้งหมด และ VFA การ inocula อุจจาระสามารถใช้ในการประเมินหลอดทดลองของการหมักในลำไส้ใหญ่ ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสำคัญต่อสุขภาพของสัตว์ และการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์การหมักที่สำคัญ และค่า pH ช่วยให้การประเมินของอินูลินเหล่านี้ สามารถบ่งบอกเกี่ยวกับแบคทีเรียและการหมัก อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในหลอดทดลอง อาจไม่สามารถคาดการณ์ได้โดยตรงกับการศึกษาในสัตว์ทดลองได้ทั้งหมด การศึกษาใน

หลอดทดลองทำให้เราสามารถประเมินอินูลินได้ และในการศึกษาในหลอดทดลองโดยใช้ตัวอย่างอุจจาระสัตว์สด นำมาใช้เพื่อทดสอบส่วนผสมพรีไบโอติก สามารถประเมินพรีไบโอติก

โดยรวมแล้วระดับของอินูลินไหลผ่านในการศึกษาเหล่านี้ มีผลกระทบต่อชนิดของแบคทีเรีย สามารถนำไปปรับปรุงอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อลดจำนวนแบคทีเรียที่อาจเป็นอันตราย ได้แก่ *E. coli* และ *C. difficile* และเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น Bifidobacterium และ Lactobacillus จุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมนสามารถย่อยอินูลินได้ หลังจากนั้นประสิทธิภาพของอินูลินในระบบย่อยอาหารลดลง จึงมีความจำเป็นต้องทำให้อินูลินอยู่ในรูปอินูลินไหลผ่าน

# บทที่ 5

# ผลของอินูลินไหลผ่านจากแก่นตะวัน ต่อระดับภูมิคุ้มกันของแพะ

## 5.1 บทนำ

ปัจจุบันเกษตรกรหันมาทำฟาร์มแพะนมอย่างจริงจัง นมแพะมีประโยชน์คล้ายกับน้ำนมแม่ นอกจากนี้ยังรักษาอาการแพ้ และทดแทนนมสำหรับทารกที่แพ้นม น้ำนมแพะมีราคาแพงมาก แต่ในการเลี้ยงแพะนมนั้นมีปัญหาโดยเฉพาะอย่างยิ่งในแพะเล็กมีภูมิคุ้มกันน้อยกว่า ซึ่งทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่นโรคท้องร่วงในแพะ หรือนมแพะในช่วงให้น้ำนมลูกอาจมีระดับภูมิคุ้มกันต่ำ นี่คือปัญหาของความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงแพะนมเป็นอย่างมาก แก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus* L. ) เป็นไม้ล้มลุกกินที่หัวของมัน มีองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ อินูลิน ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) โปรตีนใยอาหาร แคลเซียมและฟอสฟอรัส แก่นตะวันสามารถปรับให้เข้ากับสภาพการเจริญเติบโตในประเทศไทยและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มการปลูกทั้งอาหารของมนุษย์ และผลพลอยได้หรือผลิตภัณฑ์ร่วมสำหรับสัตว์ แก่นตะวันมีอินูลินและ FOS 15-20% ถือเป็นพรีไบโอติก มีบทบาทส่งเสริมสุขภาพ โดยการกระตุ้นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ อินูลินเป็นคาร์โบไฮเดรตในรูปของฟรุกแทน เป็นแหล่งใยอาหารที่ไม่ย่อยในระบบย่อยอาหาร (กระเพาะอาหารและลำไส้) ในสัตว์กระเพาะเดี่ยวหรือมนุษย์ ดังนั้นอินูลิน จะผ่านไปอยู่ในลำไส้ใหญ่และเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของร่างกายเนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพเช่น Lactobacillus และ Bifidobacteria (Younes et al., 1995; Kaur และ Gupta, 2002)

การศึกษาจำนวนมากได้ดำเนินการเพื่อตรวจสอบผลกระทบของพรีไบโอติกในประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้สุขภาพทางเดินอาหาร และระบบการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในที่ไม่ใช่สัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังนั้นในสัตว์เคี้ยวเอื้อง จุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมนสามารถย่อยอินูลินได้ หลังจากนั้นประสิทธิภาพของอินูลินในระบบย่อยอาหารลดลง อย่างไรก็ตามไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับผลของอินูลินเสริมและสารประกอบพรีไบโอติกอื่น ๆ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการให้อินูลินไหลผ่าน ในน้ำนมทดแทน ต่อคะแนนอุจจาระ, ค่า pH อุจจาระ, BW, ลักษณะทางโลหิตวิทยา, พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการท้องเสีย

## 5.2 วัตถุประสงค์

5.2.11 เพื่อศึกษาผลของอินูลินไหลผ่านจาก Jerusalem artichoke ต่อภูมิคุ้มกันของแพะนม

5.2.2 เพื่อศึกษาผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านจาก Jerusalem artichoke ต่อชนิดของแบคทีเรียในลำไส้ของแพะนม

**5.3 วิธีการทดลอง**

5.3.1 Jerusalem artichoke

Jerusalem artichokeได้มาจากสถาบันวิจัยเพชรบูรณ์ สถาบันวิจัยและพัฒนาระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ประเทศไทย และการวิเคราะห์อินูลินด้วยวิธีดัดแปลงตามวิธี AOAC 997.08 (2005) โดยใช้โครมาโตกราฟีแก๊สอุณหภูมิสูง (Joye and Hoebregs, (2000) J. AOAC International 83 (4); 1020-1025) จากอาหารและ บริการด้านเทคนิคของ Nutriton สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล, ศาลายา, พุทธมณฑล, นครปฐม 73170, ประเทศไทย

5.3.2 สัตว์และการออกแบบการทดลอง

การทดลองใช้แพะซาเนนลูกผสม 20 ตัว ใช้ในการสุ่มแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีสี่ซ้ำต่อกลุ่มทดลอง แพะเก็บไว้ในคอกแยกเดายงแต่ตัว 7 วันหลังคลอด แพะถูกแบ่งออกเป็นห้ากลุ่มการทดลอง ทำการทดลองเป็นเวลา 90 วัน กลุ่มทดลองด้วยอาหารมีห้าวิธีดังต่อไปนี้กลุ่ม 1: นมแพะ, กลุ่ม 2: อินูลินไหลผ่าน 0% ในนมเทียม, กลุ่ม 3: 0.1% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, กลุ่ม 4: อินูลินไหลผ่าน 0.2% ในนมเทียมและกลุ่ม 5: 0.3% อินูลินไหลผ่าน ในนมทดแทน ตามลำดับ

5.3.3 การจัดการการให้อาหาร

แพะทุกตัวได้รับนมน้ำเหลืองเป็นครั้งแรกใน 7 วันหลังคลอด และจากนั้นลูกแพะก็จะถูกเก็บไว้ในคอกแต่ละตัว แพะได้รับอาหารพื้นฐานที่มีหญ้าแห้ง pangola (*Digitaria eriantha*) และอาหารเม็ดอัดเสริมด้วยแร่ธาตุและวิตามิน การจัดการการให้อาหารในช่วงระยะเวลาทดลองของสารตั้งต้นเริ่มต้นแบบเม็ดและฟางแสดงไว้ในตารางที่ 5.1 ในช่วงเวลาดูดนม มีการใช้มาตรฐานการให้อาหารและการจัดการอย่างสม่ำเสมอทั้งสองกลุ่ม สูตรอาหารเพื่อตอบสนองความต้องการสารอาหารสำหรับการการดำรงชีพและเพิ่มน้ำหนัก 1.5% ทุกวันเสนอสองครั้งต่อวันเวลา 08.00 และ 16.00 น. สัตว์สามารถกินน้ำได้อย่างอิสระ และขังไว้ในคอกเดี่ยว

**ตารางที่ 5.1** การจัดการการให้อาหารในช่วงทดลอง

| Age (days) | Milk (L) | Concentrate / day | Roughage /day |
|---|---|---|---|
| 7 - 30 | 0.7 - 1 | - | - |
| 31 - 60 | 1.5 | 1.5 % bodyweight | Unlimited |
| 61 - 90 | 0.5 | 1.5 % bodyweight | Unlimited |

ลูกแพะในกลุ่ม 3, 4 และ 5 ถูกปรับให้เข้ากับการเสริมอินูลินไหลผ่านโดยเพิ่มขนาดจากวันที่ 7 ถึง 90 ลูกแพะแต่ละตัวได้รับการเสริมด้วยอินูลินไหลผ่าน 0.1%, 0.2% และ 0.3% ในกลุ่ม 3, 4 และ 5 ตามลำดับ แพะในกลุ่ม 1 ได้รับการเสริมด้วยนมแพะ และกลุ่มที่ 2 ได้รับการเสริมด้วยทดแทนนมไม่ได้รับอินูลินไหลผ่าน การผสมอินูลินที่ละลายในนมทดแทนคือการให้ลูกแพะ ดูดนม

**ตารางที่ 5.2** องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

| | Concentrate | Jerusalem artichoke | Roughage (Pangola grass hay) |
|---|---|---|---|
| DM | 95.76 | 93.47 | 94.55 |
| | ..... | %DM | ..... |
| CP | 15.63 | 5.47 | 6.91 |
| Ash | 9.04 | 7.96 | 7.91 |
| OM | 90.96 | 92.04 | 92.09 |
| EE | 0.08 | 0.19 | 0.03 |
| NDF | 33.70 | 11.09 | 59.04 |
| ADF | 25.58 | 9.57 | 44.64 |

DM = วัตถุแห้ง, CP = โปรตีนดิบ, OM = สารอินทรีย์, EE = สารสกัดอีเธอร์
NDF = ไฟเบอร์ผงซักฟอกเป็นกลาง ADF = กากหรือเยื่อใยที่สกัดด้วยสารละลายที่เป็นกรด

5.3.4 การรวบรวมตัวอย่าง

สถานะสุขภาพ

ลูกแพะถูกตรวจสอบทุกวันในช่วงระยะเวลาตั้งแต่แรกเกิดถึงการหย่านมโดยการวินิจฉัยโรคท้องร่วง คะแนนกลุ่มอุจจาระถือว่าเป็นอาการท้องร่วง บันทึกการตายของลูกแพะตั้งแต่แรกเกิดถึงการหย่านม ลูกแพะถูกบันทึกน้ำหนักก่อน 08.00 น. และคะแนนอุจจาระทุกสัปดาห์

การเก็บเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำหลังคลอด (ก่อนได้รับน้ำนมเหลือง) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเมื่อแพะนมมีอายุ 1 สัปดาห์ถึง 12 สัปดาห์ (ทุกสัปดาห์) เลือดถูกวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด (RBC), จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (WBC), นิวโทรฟิล, เซลล์เม็ดเลือดขาวและความเข้มข้น monocyte และค่าฮีมาโตคริต เลือดถูกถ่ายโอนไปยังหลอดที่มีกรดอะซิติก (EDTA) / มล. 1.8 มก. dipotassium-ethylenediaminetetra / ml จากนั้น centrifuged ที่ 5,000 x g เป็นเวลา 15 นาทีที่ 4 C; พลาสมาถูกแบ่งเป็นส่วนย่อยและเก็บไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส

ลำไส้สะสม

ฆ่าแพะอายุ 90 วันได้รวบรวมระบบทางเดินอาหารเช่นลำไส้เล็กส่วนต้น jejunum และ ileum ตัวอย่างเนื้อเยื่อถูกล้างในสารละลายน้ำเกลือปกติและตรึงในฟอร์มาลิน 10% เก็บตัวอย่างย่อยเพื่อกำหนดค่าความเป็นกรด – ด่าง

**ตารางที่ 5.3** ระบบการให้คะแนนอุจจาระ

| Fecal | Score |
|---|---|
| | 5 = hard, dry pellets. |
| | 4 = hard, formed |
| | 3 = soft, formed |
| | 2 = soft, unformed |
| | 1 = watery, diarrhea |

การวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา

การตรวจนับจำนวน WBC ทั้งหมดในเลือดครบกำหนดโดยวิธีการนับห้องที่พัฒนาขึ้นสำหรับการนับเซลล์เม็ดเลือด รวม WBC ทั้งหมด นับ Thoma ความเข้มข้นของ Neutrophil, lymphocyte และ monocyte เป็นเปอร์เซ็นต์ของ WBC ทั้งหมด โดย Diff-quick (May-Grunwald-Giemsadyes) ทำให้สามารถมองเห็น WBC ชนิดต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ค่าโลหิตวิทยาถูกกำหนดโดยตรงโดยการปั่นแยกเลือดในหลอด microhaematocrit ที่ 10,000 กรัมเป็นเวลา 5 นาที

การวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อวิทยา (villi)

ในตอนท้ายของการทดลองจะทำการสุ่มตัวอย่างแพะสามตัวจาก เก็บอวัยวะระบบทางเดินอาหาร เช่น duodenum, jejunum และ ileum ตัวอย่างเนื้อเยื่อถูกล้างในสารละลายน้ำเกลือปกติและตรึงในฟอร์มาลิน 10% ส่งตัวอย่างไปที่ศูนย์วินิจฉัยสัตวแพทย์มหานคร (MVDC) สำหรับวิเคราะห์ ความยาวของลำไส้เล็กและสัณฐานวิทยาลำไส้ของแพะ

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในลำไส้

ในตอนท้ายของการทดลองได้ทำการสุ่มตัวอย่างแพะสามตัว เพื่อศึกษาทางจุลชีววิทยาของแบคทีเรียโดยการเพาะเชื้อแบคทีเรีย (Total Clostridium, *E. coli*, Lactobacillus, Bifidobacteria) นำตัวอย่างจากแพะมาผ่านภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ วิธีการการเพาะเลี้ยงและ จำนวนแบคทีเรีย Clostridium, *E. coli*, Lactobacillus, Bifidobacteria อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa Sharpe agar ถูกนำมาใช้ในการเจริญเติบโตของแลคโตบาซิลลัส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงที่ 30 ° C ทำการตรวจนับต่อหน่วยพื้นที่ของ Clostridial บนแผ่นผิวบาง ภายหลังการฟักตัวแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใช้ชุดการเจือจางทางเรขาคณิตสำหรับการชุบผิวตัวอย่างอุจจาระ สิ่งนี้สามารถทำได้โดยการทำให้เจือจาง 10 เท่าต่อเนื่องด้วยสารละลาย 0.15 M NaCl จากการแขวนอุจจาระครั้งแรกไปจนถึงขั้นตอนการเจือจางที่ 109 จากแต่ละขั้นตอนการเจือจาง 0.1 มล. ถูกชุบบนแผ่นวุ้น diarent ซ้ำกัน หลังจากการบ่มจำนวนแบคทีเรียต่อกรัมของอุจจาระถูกคำนวณตามจำนวนหน่วยการขึ้นรูปโคโลนี (CFU) g-1 ถูกคำนวณจากเพลต (เช่น เพลตที่มี 30-300 โคโลนี) ปริมาณที่ใช้กับ จานวุ้นและขั้นตอนการเจือจางโดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

5.3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกวิเคราะห์ทางสถิติตามการออกแบบแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้ PROC GLM (SAS, 1990) ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างกลุ่มทดลองถูกกำหนดโดยใช้การทดสอบ News Mult Range ของ Duncan ตามวิธีการของ Steel and Torrie (1985)

5.3.6 สถานที่ทดลอง

การทดลองดำเนินการที่ฟาร์มแพะ-แกะ ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาคาร 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา

**5.4 ผลการทดลองและการอภิปราย**

จากการศึกษาก่อนหน้านี้กับสัตว์เล็ก เช่นลูกโค (Heinrichs et al., 2003; Hill et al., 2008; Masanetz et al., 2011), ลูกแกะ (Thayne, 2007; Milewski et al., 2010) และหมู (Davis et al., 2004; Lynch et al., 2007) มีการเพิ่มพรีไบโอติกในนมทดแทนหรืออาหารเสริมสำหรับสัตว์ที่ดูดนมหรือหย่านม อย่างไรก็ตาม พรีไบโอติกยังไม่ได้รับการเสริมให้สัตว์ดูดนมผ่านทางช่องปาก บรรจุอินูลิน 93.4% ในน้ำหนักแห้ง (96.6% น้ำหนักแห้ง) ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น เช่น ท้องร่วง อาจเกิดขึ้นได้ในสัตว์ที่บริโภคฟรักโทสในระดับสูง หรือในระดับปานกลาง (Propst et al., 2003)

ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านต่อคะแนนอุจจาระของลูกแพะ

คะแนนอุจจาระแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ในกลุ่ม (ตารางที่ 5.3) มีคะแนนอุจจาระ แตกต่างกันในวันที่ 7 ถึง 56 ($P < 0.05$) ในขณะที่คะแนนอุจจาระไม่มีความแตกต่างในวันที่ 70 ถึง 90 ($P > 0.05$) ในกลุ่ม (ตาราง 5.4)

**ตารางที่ 5.4** The effects of by-pass inulin supplementation on fecal score of kids

| Item | Days | Treatment | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| [1]Fecal score | 7 | $1.25^{b}$ | $1.25^{b}$ | $2.75^{a}$ | $3.25^{a}$ | $3.50^{a}$ | 0.0001 |
| | 14 | $1.75^{cd}$ | $1.50^{d}$ | $2.75^{cb}$ | $3.75^{ab}$ | $4.00^{a}$ | 0.0010 |
| | 21 | $1.75^{c}$ | $1.75^{c}$ | $2.25^{c}$ | $3.75^{b}$ | $4.75^{a}$ | 0.0001 |
| | 28 | $2.00^{cd}$ | $1.25^{b}$ | $2.50^{c}$ | $3.50^{b}$ | $4.50^{a}$ | 0.0001 |
| | 35 | $3.00^{bc}$ | $2.25^{c}$ | $3.25^{b}$ | $4.25^{a}$ | $4.75^{a}$ | 0.0001 |
| | 42 | $3.00^{b}$ | $2.50^{b}$ | $4.00^{a}$ | $4.50^{a}$ | $4.75^{a}$ | 0.0002 |
| | 49 | $3.50^{bc}$ | $2.75^{c}$ | $3.75^{ab}$ | $4.25^{ab}$ | $4.50^{a}$ | 0.0028 |
| | 56 | $3.75^{b}$ | $3.25^{b}$ | $3.75^{b}$ | $3.50^{b}$ | $4.75^{a}$ | 0.0415 |
| | 63 | $4.25^{ab}$ | $3.75^{ab}$ | $3.75^{ab}$ | $3.50^{b}$ | $4.75^{a}$ | 0.0867 |
| | 70 | 4.25 | 4.25 | 4.50 | 4.75 | 5.00 | 0.3458 |
| | 77 | 4.75 | 4.75 | 4.75 | 5.00 | 5.00 | 0.7362 |
| | 84 | 5.00 | 4.75 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 0.4380 |
| | 90 | 4.75 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 0.4380 |

T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินในนมเทียม และ T5: 0.3% อินูลินในนมทดแทน, [1] ระบบการให้คะแนนอุจจาระ: 1 = เป็นน้ำท้องร่วง; 2 = อ่อน, ไม่มีรูปแบบ; 3 = นิ่ม, เกิดขึ้น; 4 = แข็งขึ้นรูป; และ 5 = เม็ดที่แข็งและแห้ง

ผลลัพธ์ของคะแนนอุจจาระในการศึกษาของเราสอดคล้องกับข้อมูลที่รายงานโดย Propst et al. (2003) ผู้เสริมหรืออินูลินให้กับสุนัขโตเต็มวัยและโดย Hill et al. (2008) ศึกษาผลกระทบของการให้อาหาร FOS และ MOS ในโคนม การหมักฟรุกโตจำนวนมากเกินไปโดยแบคทีเรียโคโลนิก สามารถนำไปสู่การก่อตัวของแก๊สเพิ่มขึ้นปวดท้อง และอุจจาระบ่อย ผลกระทบนี้มีความสัมพันธ์กับปริมาณของ fructans (Saavedra, 2005) Verlinden et al. (2006) รายงานว่าการเสริมอินูลิน ลดคะแนนอุจจาระ ในสุนัขโตเต็มวัย แต่คะแนนอุจจาระที่ลดลงนั้นไม่มีความสำคัญทางคลินิก เพราะยังคงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้และไม่เกี่ยวข้องกับอาการท้องเสีย ในการศึกษาของเราคะแนนอุจจาระที่ต่ำกว่าจะบ่งบอกถึงการก่อตัวของอุจจาระที่เหลวขึ้น และปริมาณของอินูลินที่เสริม ไม่ส่งผลเสียต่อคะแนนอุจจาระ

**ผลของการเสริมอินูลินต่อน้ำหนักตัวของลูกแพะ**

ในระหว่างการทดสอบข้อมูลประสิทธิภาพการทำงานของสัตว์ทั่วไปในปัจจุบันก็ถูกรวบรวม สัตว์ที่กินนมแพะอินูลินไหลผ่าน 0.2 และ 0.3% ในนมเทียมมีน้ำหนักตัวสูงกว่าสัตว์ที่เลี้ยงด้วยอินูลิน 0 และ 0.1% ในนมทดแทนในขณะที่การควบคุมควบคุมทำให้ค่ากลางอยู่ที่ 35-90 วัน อายุ. (ตารางที่ 4.5)

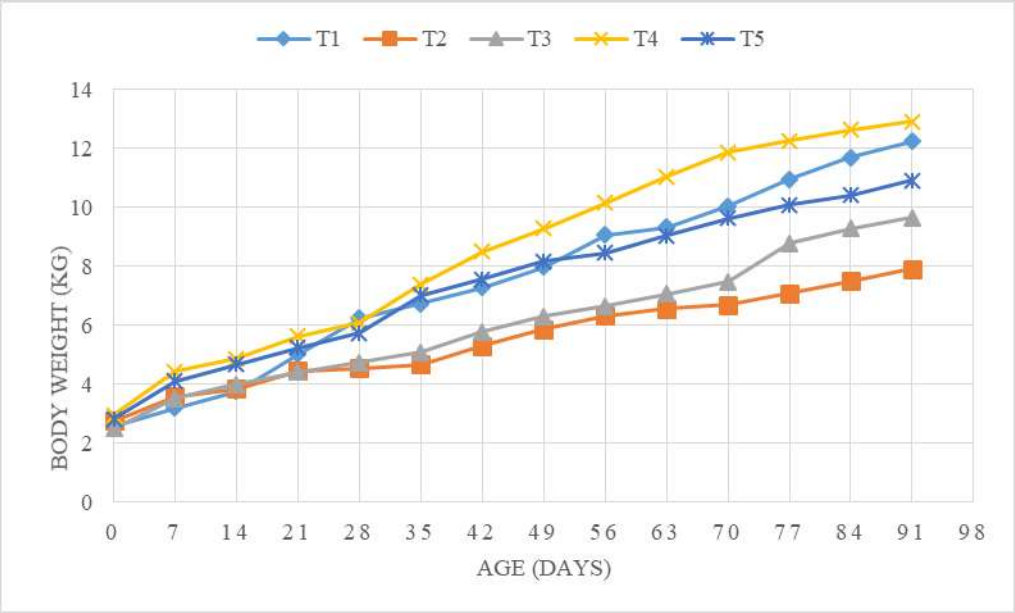
Masanetz S. et al. (2010) การศึกษาผลของการให้อาหารทั้งอินูลิน 2% หรือแลคโตโลส 2% ในนมเทียมที่มีต่อประสิทธิภาพการทำงานและสัณฐานวิทยาในลำไส้ของน่องโฮลสไตน์ - ฟรีเซีย หลังจาก 20 สัปดาห์ของการให้อาหารอินูลินนำไปสู่การเพิ่มน้ำหนักรายวันอย่างมีนัยสำคัญสูงกว่าแลคโตโลสในขณะที่สัตว์ควบคุมอยู่ระหว่างการให้อาหารทดลอง

Kaufhold et al. (2000); Flickinger et al. (2003); Van Loo (2007) รายงานว่าพรีไบโอติกเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นไปได้ในการเสริมการเจริญเติบโตของยาต้านจุลชีพเพื่อปรับปรุงสุขภาพสัตว์และประสิทธิภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงวิกฤตเช่นการหย่านม ดังนั้นการศึกษาที่หลากหลายในเรื่องของอินูลินและโอลิโกฟรุสโตสต่อการทำงานของสัตว์จึงสำเร็จ พบว่ามีจำนวนไม่มากหรือน้อย แต่มีผลกระทบบางอย่างที่รายงานคล้ายกับการศึกษานี้พร้อมกับการเพิ่มของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นทุกวันและประสิทธิภาพของอาหาร ในทางตรงกันข้ามกับผลลัพธ์นี้ Fleige et al. (2007) พบว่าการบริโภคอาหารเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและแนวโน้มที่จะเพิ่มน้ำหนักตัวในแต่ละวันสำหรับลูกโคที่เลี้ยงแลคโตโลส 3% และเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก

ผลของการเสริมพรีไบโอติก อาจจะเพิ่มกำไรจากปศุสัตว์ (Gaggı` a et al., 2010; Kaufhold et al., 2000) รายงานว่า BW มีแนวโน้มสูงขึ้นในลูกโคที่ได้รับการเสริม FOS เป็นเวลา 3 สัปดาห์กว่า Hill et al. (2008) รายงานว่าไม่มีการปรับปรุงในการเพิ่ม BW ของลูกโคที่ได้รับอาหารทดแทนนมที่มี FOS หรือ MOS ในทางตรงกันข้าม Mul (1997) รายงานว่า 2 ถึง 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารเสริมลูกวัวทดแทนนมวัวช่วยเพิ่มอัตรากำไร Xu et al. (2002) รายงานว่า 4 หรือ 6g / kg FOS ที่เพิ่มเข้ามาในอาหารช่วยเพิ่มการได้รับ BW ในการเลี้ยงสุกร ผลของการเสริมพรีไบโอติก ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต (BW, BW และการเพิ่มประสิทธิภาพของอาหาร) และยังสัมพันธ์กับระดับการเสริมอาหารระยะเวลาการใช้ สภาพแวดล้อม และ

ความเครียดของสัตว์ (Gaggı `a et al., 2010) ผลที่ได้อาจจะไม่ชัดเจนในด้านเพิ่มประสิทธิภาพในสัตว์ที่เสริมพรีไบโอติก (Flickinger et al., 2003a; Gaggı a et al., 2010)

ในการศึกษาในครั้งนี้ ในการเสริมอินูลิน ในลูกแพะที่ดูดนมอาจเนื่องมาจากปริมาณพรีไบโอติกในนมแพะสูง (25 ถึง 30 มก. / 100 มล.) อาจใช้ระยะเวลาของการเสริมอินูลิน (25 วัน) สั้นเกินไป ซึ่งควรมีการเสริมในระยะยาว หรือในสัตว์ทุกช่วงอายุ




T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินในนมเทียม และ T5: 0.3% อินูลินในนมทดแทน

**รูปที่ 5.1** แสดงผลของการเสริมอินูลินต่อน้ำหนักตัวของแพะ

**ตารางที่ 5.5** ผลของการเสริมอินูลินต่อน้ำหนักตัวของลูกแพะ

| Age | Treatment (n=4) | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (days) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| Birth | 2.575 | 2.750 | 2.500 | 2.950 | 2.825 | 0.7652 |
| 7 | 3.200 | 3.575 | 3.525 | 4.425 | 4.100 | 0.3257 |
| 14 | 3.750 | 3.850 | 4.000 | 4.875 | 4.675 | 0.5096 |
| 21 | 5.025 | 4.450 | 4.400 | 5.625 | 5.225 | 0.6998 |
| 28 | 6.225 | 4.550 | 4.725 | 6.075 | 5.725 | 0.3307 |
| 35 | 6.725ab | 4.675c | 5.075bc | 7.375a | 7.025ab | 0.0268 |
| 42 | 7.275ab | 5.300b | 5.775b | 8.500a | 7.550ab | 0.0454 |
| 49 | 7.975ab | 5.875b | 6.300b | 9.275a | 8.175ab | 0.0576 |
| 56 | 9.050ab | 6.325c | 6.650bc | 10.150a | 8.450abc | 0.0262 |
| 63 | 9.325ab | 6.550b | 7.050b | 11.025a | 9.025ab | 0.0150 |
| 70 | 10.025ab | 6.700c | 7.475bc | 11.850a | 9.625ab | 0.0073 |
| 77 | 10.950ab | 7.075c | 8.775bc | 12.250a | 10.075ab | 0.0075 |
| 84 | 11.675ab | 7.500c | 9.275bc | 12.625a | 10.400ab | 0.0061 |
| 91 | 12.225ab | 7.900c | 9.650bc | 12.900a | 10.900ab | 0.0045 |

T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินไหลผ่านในนมเทียมและ T5: 0.3% อินูลินไหลผ่านในนมทดแทน

**ผลของการเสริมอินูลินต่อลักษณะทางโลหิตวิทยาของแพะ**

เก็บตัวอย่างเลือดจากแพะที่มีสุขภาพดี และในแต่ละกลุ่ม เซลล์เม็ดเลือดแดงโดยรวมเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดและค่าฮีมาโตคริตมีความคล้ายคลึงกัน ไม่มีความแตกต่าง (P> 0.05) ในเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมดเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด และค่าฮีมาโตคริตในกลุ่ม (ตารางที่ 5.6)

Swanson et al. (2002a) รายงานว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในจำนวน WBC ทั้งหมดและความเข้มข้นของนิวโทรฟิลในสุนัขโตที่เสริมด้วย FOS (2g / วัน), MOS (2g / วัน) หรือ FOS (2g / วัน) บวก MOS (2g / วัน) อย่างไรก็ตามสุนัขโตที่เสริมด้วย MOS มีความเข้มข้นของลิมโฟไซต์ที่สูงกว่าสุนัขควบคุมในการศึกษา Davis et al (2004) สังเกตการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเม็ดเลือดขาวในเลือดและการลดลงของความเข้มข้นของนิวโทรฟิลในเลือดเมื่อสุกรได้รับอาหารเสริมด้วย 0.3% MOS การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเม็ดเลือดขาวในเลือดอาจมีประโยชน์เนื่องจากระดับการป้องกันที่เพิ่มขึ้นจากการติดเชื้อซ้ำของเชื้อโรคในขณะที่การลดลงของความเข้มข้นของนิวโทรฟิลในเลือดอาจเป็นผลเชิงลบของการให้อาหารพรีไบโอติกเนื่องจากนิวโทรฟิลส์ ต่อต้านสิ่งมีชีวิตที่ติดเชื้อ (Swanson et al., 2002b; Davis et al, 2004) Verlinden et al. (2006) รายงานว่าอินูลิน 3% ที่เพิ่มเข้ามาในอาหารไม่ได้เปลี่ยนความเข้มข้นของนิวโทรฟิลในเลือด, ลิมโฟไซต์และโมโนไซต์และค่าฮีมาโตคริตในสุนัข Masanetz et al. (2011) รายงานว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงในการนับรวม WBC, นิวโทรฟิลเลือด, เม็ดเลือดขาวและความเข้มข้น monocyte s ของน่องที่เลี้ยงอาหารที่มีอินูลิน 2% ผลของ Verlinden et al. (2549) and Masanetz et al. (2011) ศึกษาทางภูมิคุ้มกันเพื่อตรวจสอบว่าการเปลี่ยนแปลงในความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว และนิวโทรฟิลจากลักษณะภูมิคุ้มกันของเลือดที่มีประโยชน์ หรือเป็นอันตราย ผลทางโลหิตวิทยาที่แตกต่างกัน เกี่ยวกับผลกระทบของอินูลิน หรือสารประกอบพรีไบโอติกอื่น ๆ ซึ่งให้ผลทางบวกด้านภูมิคุ้มกัน

**ตารางที่ 5.6** ผลของการเสริมอินูลินต่อลักษณะทางโลหิตวิทยาของลูกแพะ

(T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินไหลผ่านในนมเทียมและ T5: 0.3% อินูลินไหลผ่านในนมทดแทน)

| Item | Days | Treatment | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| Total RBC ($10^6$ cells/$mm^3$) | | | | | | | |
| | 0 | 7.985 | 8.370 | 8.893 | 9.938 | 9.455 | 0.8103 |
| | 7 | 7.055 | 8.168 | 8.883 | 6.155 | 7.078 | 0.2564 |
| | 14 | 9.408 | 9.478 | 10.243 | 7.475 | 8.963 | 0.4856 |
| | 21 | 11.560a | 9.293ab | 11.623a | 10.305ab | 7.843b | 0.0213 |
| | 28 | 12.850 | 10.513 | 10.928 | 12.838 | 12.640 | 0.1024 |
| | 35 | 18.660a | 11.393b | 12.598ab | 15.158ab | 13.423ab | 0.1514 |
| Total WBC (cells/$mm^3$) | | | | | | | |
| | 0 | 4299 | 3013 | 4906 | 4800 | 3731 | 0.4605 |
| | 7 | 6294 | 5813 | 7188 | 9150 | 9381 | 0.5775 |
| | 14 | 8540 | 3625 | 6056 | 13288 | 9869 | 0.2636 |
| | 21 | 4885 | 9739 | 7368 | 10946 | 12475 | 0.2158 |
| | 28 | 8171 | 10835 | 8125 | 15436 | 13355 | 0.4022 |
| | 35 | 6428 | 8929 | 10388 | 13470 | 10021 | 0.2957 |

**ตารางที่ 5.6** ผลของการเสริมอินูลินต่อลักษณะทางโลหิตวิทยาของลูกแพะ (ต่อ)

| Item | Days | Treatment | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| Haematocrit (%) | | | | | | | |
| | 0 | 39.500 | 38.250 | 44.500 | 38.750 | 38.750 | 0.6428 |
| | 7 | 31.500 | 31.500 | 30.500 | 29.250 | 30.250 | 0.9321 |
| | 14 | 31.000 | 32.000 | 35.000 | 33.250 | 31.500 | 0.6392 |
| | 21 | 29.500 | 32.500 | 34.000 | 31.750 | 31.250 | 0.6689 |
| | 28 | 29.750 | 30.000 | 30.500 | 32.750 | 31.500 | 0.8276 |
| | 35 | 31.000 | 29.750 | 31.750 | 34.250 | 32.000 | 0.6507 |
| | 42 | 31.500 | 28.750 | 33.333 | 31.250 | 32.500 | 0.7653 |
| | 49 | 33.000 | 28.000 | 31.250 | 29.750 | 29.500 | 0.6546 |
| | 56 | 33.250 | 29.750 | 34.250 | 31.750 | 32.500 | 0.7856 |
| | 63 | 35.750ab | 27.250b | 37.250a | 34.500ab | 33.500ab | 0.1345 |
| | 70 | 38.250a | 28.250b | 36.500a | 39.500a | 36.000a | 0.0177 |
| | 77 | 41.250a | 29.00b | 37.500a | 41.500a | 37.250a | 0.0200 |
| | 84 | 41.750a | 27.000b | 37.750a | 40.250a | 38.000a | 0.0010 |
| | 91 | 42.250a | 27.000b | 40.250a | 44.000a | 38.500a | 0.0006 |

**ผลของการเสริมอินูลินต่อของเหลวในกระเพาะรูเมนและค่า pH ย่อยของแพะ**

**ตารางที่ 5.7** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านต่อของเหลวในกระเพาะรูเมนและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของแพะ

| Item | Treatment | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| Rumen fluid pH | 7.2150b | 7.7025a | 6.9225b | 6.9850b | 6.9725b | 0.0004 |
| Digest pH | | | | | | |
| - Jejunum | 6.5875c | 6.8975b | 6.3200d | 7.1900a | 6.5200cd | 0.0001 |
| - Ileum | 7.5925b | 7.1650c | 6.4300d | 7.9850a | 7.7250ab | 0.0001 |

T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินในนมเทียมและ T5: 0.3% อินูลินในนมทดแทน

**ผลของการเสริมอินูลินต่อความยาวของลำไส้เล็กและสัณฐานวิทยาของแพะ**

เพื่อประเมินว่าอินูลินมีอิทธิพลต่อสัณฐานวิทยาของลำไส้หรือไม่ ความยาวของลำไส้เล็กและสัณฐานวิทยาลำไส้ของแพะ (ตารางที่ 5.8) ความยาวลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนต้นมีแนวโน้มลดลงโดยรวม ในแพะที่ได้รับอินูลินไหลผ่านเพิ่มขึ้นในนมแพะ, 0.1, 0.2 และ 0.3% อินูลินในสัตว์ที่ได้รับการทดแทนนมเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนความยาว villus ในลำไส้เล็กส่วนต้น, jejunum และ ileum ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับ ความกว้างของวิลลัสในลำไส้เล็กส่วนต้น, jejunum และ ileum หรือความลึก

Wu et al. 1996; Awad et al., (2008) รายงานว่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละวันหรืออัตราการเปลี่ยนอาหารที่ดีขึ้นตามที่พบในกลุ่มอินูลินไหลผ่าน เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ที่ดีขึ้น villi สั้นลงหลังจากให้อาหารอินูลิน ความยาวของวิลลัสลดลง คล้ายกันหลังจากมีการเติมอินูลินในอาหารลงในสุกรที่หย่านมแล้ว (Pierce et al., 2005) แต่ยังเพิ่มความยาวของวิลลัสในหนูหลังให้

อาหารของสารสกัดสีน้ำเงินที่ละลายน้ำได้ (1% ถึง 5%) หรืออินูลิน (5%) (Kim, 2002) พื้นที่หน้าตัด villi ที่เพิ่มขึ้น และการลดลงของ MIB1-positive ดังนั้นจึงถือว่าเซลล์การเจริญเติบโต ในทางตรงกันข้ามกับ

**ตารางที่ 5.8** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านต่อความยาวของลำไส้เล็กและสัณฐานวิทยาของลูกแพะ

| Item | Treatment | | | | | P-values |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | |
| Length of small intestine (cm) | | | | | | |
| - Duodenum | 100.00a | 54.75c | 87.50ab | 69.75bc | 104.25a | 0.0006 |
| - Jejunum | 361.50b | 228.25c | 303.25bc | 518.00a | 292.00bc | 0.0003 |
| - Ileum | 361.50cd | 641.50a | 414.75c | 319.50d | 508.00b | 0.0001 |
| Intestinal morphology (μm) | | | | | | |
| Duodenum Villuos length | 649.42a | 541.94ab | 471.43bc | 451.96bc | 376.31c | 0.0007 |
| Duodenum Crypt length | 161.90bc | 290.09a | 206.23b | 135.53c | 319.06a | 0.0001 |
| Jejunum Villuos length | 223.88b | 472.85a | 273.80b | 191.41b | 515.55a | 0.0001 |
| Jejunum Crypt length | 177.89b | 135.44c | 185.01b | 101.94d | 298.78a | 0.0001 |
| Ileum Villuos length | 359.05a | 175.62b | 170.53b | 143.77b | 125.03b | 0.0001 |
| Ileum Crypt length | 224.93a | 182.23b | 145.19c | 87.41d | 107.54d | 0.0001 |

T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินไหลผ่านในนมเทียมและ T5: 0.3% อินูลินไหลผ่านในนมทดแทน

**ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านของประชากรแบคทีเรียในลูกแพะ**

จากการศึกษาพบว่า แพะที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุม (มีอินูลิน 0%) ในนมทดแทน มีระดับ CFU ที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน และให้ผลดีที่ทำให้เชื้อที่ไม่ต้องการในอุจจาระ ได้แก่ clostridium รวม, *E. coli*, Lactobacillus และ Bifidobacteria ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 5.9)

Barry et al. (2009) รายงานผลลัพธ์ที่คล้ายกันสำหรับความเข้มข้นของอุจจาระอีโคไลในสุนัขโตเต็มวัยเมื่อเติมอินูลิน 0.2% หรือ 0.4% ในอาหาร Lynch et al. (2007) สังเกตว่าการเสริมอินูลินไม่ได้เปลี่ยนความเข้มข้นของอีโคไลในลำไส้ใหญ่ของสุกร Bunce et al. (1995) รายงานว่า 3 หรือ 7g /วันไม่ได้มีนัยสำคัญลดความเข้มข้นของ Clostridium และ *E. coli* ทั้งหมด ในมูล Swanson et al (2002a) รายงานว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในประชากรแบคทีเรียอุจจาระของสุนัขโตเต็มวัยในกลุ่มที่มี FOS (2g/วัน), MOS (2 กรัม/วัน), FOS (2 กรัม/วัน) บวก MOS (2 กรัม/วัน) และกลุ่มที่ไม่มีพรีไบโอติก

**ตารางที่ 5.9** ผลของการเสริมอินูลินไหลผ่านของประชากรแบคทีเรียในอุจจาระของลูกแพะ

| Item | Treatment | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | P-values |
| Digest bacterial populations in the fecal (cfu $log_{10}$/g fresh fecal) | | | | | | |
| Total Clostridium | 0.86b | 1.18a | 1.16a | 0.92b | 0.89b | 0.0001 |
| *Escherichia coli* | 1.98ab | 2.55a | 2.32a | 0.67b | 0.65b | 0.0001 |
| Lactobacillus | 6.91a | 5.02b | 5.23b | 6.49ab | 6.79a | 0.0001 |
| Bifidobacteria | 6.93a | 5.21b | 6.20ab | 6.52a | 6.89a | 0.0001 |

T1: นมแพะ, T2: 0% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T3: 0.1% อินูลินไหลผ่านในนมเทียม, T4: 0.2% อินูลินไหลผ่านในนมเทียมและ T5: 0.3% อินูลินไหลผ่านในนมทดแทน

**5.5 สรุป**

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของอินูลิน ต่อการเจริญเติบโต สถานะสุขภาพ ลักษณะทางโลหิตวิทยา ของเหลวในกระเพาะรูเมน และสัณฐานวิทยาของลำไส้ของแพะ นอกจากนี้ระดับการเสริมอินูลินไหลผ่านจากแก่นตะวัน ที่ระดับ 0.3% ในนมเทียม ทำให้การเจริญเติบโต สถานะสุขภาพ ลักษณะทางโลหิตวิทยา ของเหลวในกระเพาะรูเมน และสัณฐานวิทยาของลำไส้ของแพะ ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม

# บทที่ 6

# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

## 6.1 สรุปผลการทดลอง

ในหัวแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) มีสารกลุ่มพรีไบโอติค (prebiotic) โดยเฉพาะอินูลิน (inulin) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสมีโมเลกุลยาว เป็นผงสีขาว ไม่มีรูปร่าง ซึ่งอินูลินในแก่นตะวันเป็นสารเยื่อใยที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่สัตว์เคี้ยวเอื้องมีความสามารถในการย่อยได้สูงกว่าร้อยละ 90 โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก บทบาทของอินูลินในระบบทางเดินอาหารคือทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacillus เจริญได้ดีและมีผลให้แบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารลดลง ดังนั้นแนวทางในการนำสารอินูลินจากแก่นตะวัน มาใช้ในส่วนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เพื่อให้ทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติคจึงมีความจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้มีการย่อยโดยจุลินทรีย์ในรูเมน (by-pass) ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีการพัฒนาเทคนิคดังกล่าว โดยหากสามารถป้องกันการย่อยในรูเมนได้ อินูลินจะสามารถออกฤทธิ์ที่ลำไส้และระบบทางเดินอาหารได้เช่นเดียวกับในสัตว์กระเพาะเดี่ยว

การวิจัยในครั้งนี้จึงมีเป้าหมายหลักเพื่อหาวิธีการในการป้องกันการย่อยอินูลินจากแก่นตะวันในรูเมน (rumen by-pass innulin from Kaentawan) เพื่อให้ไปออกฤทธิ์ที่ระบบลำไส้และทางเดินอาหารส่วนล่าง โดยจะทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ในตัวสัตว์ในด้านของการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดจุลินทรีย์กลุ่มให้โทษในมูล

การทำให้อินูลินจากแก่นตะวันอยู่ในรูไหลผ่าน (by-pass inulin) โดยวิธีการที่ทำให้อยู่ในรูปสบู่ให้ค่าดีที่สุด คือละลายได้ต่ำที่สุด ซึ่งหมายถึงการไหลผ่านออกจากกระเพาะหมักไปลำไส้เล็กได้มากกว่า คณะนักวิจัยจึงได้เลือกวิธีนี้ในการทำผลิตภัณฑ์สำหรับการทดลอง

การเสริมอินูลินไหลผ่านในการศึกษาครั้งนี้ มีผลกระทบต่อชนิดของแบคทีเรีย สามารถปรับปรุงอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง สามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่อาจเป็นอันตราย ได้แก่ *E. coli* และ *C. difficile* และเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น Bifidobacterium และ Lactobacillus ป้องกันการย่อยของอินูลินโดยจุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมน

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของอินูลิน ต่อการเจริญเติบโต สถานะสุขภาพ ลักษณะทางโลหิตวิทยา ของเหลวในกระเพาะรูเมน และสัณฐานวิทยาของลำไส้ของแพะ นอกจากนี้ระดับการเสริมอินูลินไหลผ่านจากแก่นตะวัน ที่ระดับ 0.3% ในนมเทียม ทำให้การเจริญเติบโตของแพะ สถานะสุขภาพ ลักษณะทางโลหิตวิทยา ของเหลวในกระเพาะรูเมน และสัณฐานวิทยาของลำไส้ของแพะ ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม

**6.2 ข้อเสนอแนะ**

การใช้แก่นตะวันในปัจจุบันใช้เพื่อเป็นอาหารคนไปส่วนใหญ่ ละใช้ในวงแคบเฉพาะคนที่รู้ถึงประโยชน์ด้านสุขภาพ รสชาติไม่น่าทานสำหรับคนทั่วไป ความต้องการจึงน้อย และราคาสูง ทั้งที่แก่นตะวันปลูกง่ายให้ผลผลิตสูง หากมีการขยายตัว เช่น ทำเป็นผลิตภัณฑ์อบกรอบ หรืออื่นๆ เมื่อมีการใช้มาก ส่วนที่สามารถนำมาเลี้ยงสัตว์ได้ โดยนำผลพลอยได้ เช่น เปลือกหุ้มแก่น รวมทั้งลำต้นและใบ มาใช้สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งควรจะมีการศึกษาการใช้ประโยชน์ต่อไป

# บรรณานุกรม

A. M. Gaafar, M. F. Serag El-Din, E. A. Boudy and H. H. El-Gazar. (2010). Extraction Conditions of Inulin from Jerusalem Artichoke Tubers and its Effects on Blood Glucose and Lipid Profile in Diabetic Rats. Journal of American Science. 6(5): 213-241

Abe, F., N. Ishibashi, and S. Shimamura. (1995). Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. J. Dairy Sci. 78: 2838–46.

Adams, M.C., J. Luo, D. Rayward, S. King, R. Gibson and G. H. Moghaddam. (2008). Selection of a novel direct-fed microbial to enhance weight gain in intensively reared calves. Anim. Feed Sci. and Tech. 145: 41-52.

Agarwal, N., D. N. Kamra, L. C. Chaudhary, L. Agarwal, A. Sahoo, and N. N. Pathak. (2002). Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves on different microbial feed additives. Letters in Appl. Microbiol. 34: 329-336

Aida FMNA., Shuhaimi M., Yazid M. and Maaruf AG. (2009). Mushroom as potential source of prebiotic: A review. Trends Food Sci Technol. 20: 567-575

Alicia Huazano-García and Mercedes G. López. (2013). Metabolism of Short Chain Fatty Acids in the Colon and Faeces of Mice After a Supplementation of Diets With Agave Fructans. Science, Technology and Medicine open access publisher.

Anita O'Brien. (1998). Nutrition of the Young Goat: Birth to Breeding. Ministry of agriculture, food and rural affairs

Annison, G. and D. L. Topping. (1994). Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs. physical function. Food CHO LAB, CISRO Division of Human Nutrition, Major's Road O"Halloran Hill 5158, Australia. Annu. Rev. Nutr. 14: 297-320.

Ballou, M.A. (2015). Dietary strategies to improve the health of dairy calves. In Proc. of the Rum. Nutr. Symp., Gainesville, Fla. Pages 91-102

Barrington, G.M. (2001). Bovine neonatal immunology. Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract. 17(3): 463-476.

Bechman TJ., Chambers JV. and Cunningham MD. (1977). Influence of Lactobacillus acidophilus on performance of young dairy calves. Journal of Dairy Science 60(Suppl. 1): 74.

Beeman K. (1985). The effect of *Lactobacillus* spp. on convalescing calves. Agri-practice. 6: 8-10.

Berge, A. C., P. Lindeque, D. A. Moore, and W. M. Sischo. (2005). A clinical trial evaluating prophylactic and therapeutic antibiotic use on health and performance of preweaned calves. J. Dairy Sci. 88:2166–2177.

Bethany Leann Fisher. (2011). Effects of resistant starch in milk replacer on health and performance of neonatal holstein heifer calves. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College In partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science.

Brouns, F., B. Kettlitz, and E. Arrigoni. (2002). Resistant starch and the "butyrate revolution". Trends in Food Science and Technology. 13: 251–261.

Buddington, R. 2009. Using Probiotics and Prebiotics to Manage the Gastrointestinal

Bunce TJ, Howard MD, Kerley MS, Allece GI. (1995a). Feeding fructooligosaccharides to calves increased Bifidobacterium and decreased Escherichia coli. J Anim Sci. 73(suppl):281.

C. Venter, H. Vorster and J. Cummings. (1990). Effects of Dietary Propionate on Carbohydrate and Lipid Metabolism in healthy volunteers. The American Journal of Gastroenterology. 85(5):549-563

Cahill, R.N.P., W.G. Kimpton, E.A. Washington, J.E. Holder, and C.P. Cunningham. (1999). The ontogeny of T cell recirculation during foetal life. Semin. Immunol. 11:105-114.

Callaway, T. R., T. S. Edrington, R. C. Anderson, R. B. Harvey, K.J. Genovese, C. N. Kennedy, D. W. Venn, and D. J. Nisbet. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. Anim. Health Res. Rev. 9:217–225.

Chase, C.C.L., D.J. Hurley, and A.J. Reber. (2008). Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. Vet. Clin. Food Anim. 24:87-104.

Cieoelik E., Kopeae A., Praznik W. (2002): Functional properties of fructans. 9th Seminar on Inulin 18.–19. April, Budapest.

Cortese, V.S. (2009). Neonatal immunology. Vet. Clin. Food Anim. 25:221-227.

Cota MA, and Whitefield TR. (1998). Xylooligosaccharides utilization by ruminal anaerobic bacterium Selemonas ruminantium. Curr Microbiol. 36:183–189.

Cummings, J. H. (1997). The large intestine in nutrition and disease. Danone Chair Monograph, Institut Danone, Brussels, Belgium.

Cummings, J. H. and G. T. Macfarlane. (1997). Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. J. Parenter. Enteral. Nutr. 21:357–365.

Cummings, J.H. (1995). Short chain fatty acids. In Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Health [ed. Gibson, G.R. and Macfarlane, G.T.]. Boca Raton: CRC Press pp. 101–130

D. Bosscher, A. Breynaept, L. Pieters, N. Hermans. (2009). Food –based strategies to modulate the composition of the intestinal microbiota and their associated health effects.

D. Topping and P. Clifton. (2001). Short-chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. Physiological Reviews.

D.R. Cosgrove, E.A. Oelke, J.D. Doll, D.W. Davis, D.J. Undersander, and E.S. Oplinger. (2016). Jerusalem Artichoke. Alternative Field Crops Manual

Dewey, C. E., B. D. Cox, B. E. Straw, E. J. Bush, and H. S. Hurd. (1997). Associations between off-label feed additives and farm size, veterinary consultant use, and animal age. Preventive Veterinary Medicine. 31:133-146.

Dibner, J. J. and J. D. Richards. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture, history, and mode of action. Poult. Sci. 84: 634-643.

Donovan, D.C., S. T. Franklin, C. C. Chase, and A. R. Hippen. (2002). Growth and health of holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard. J. Dairy Sci. 85:947-950.

Donskey, C. J., A. M. Hujer, S. M. Das, N. J. Pultz, R. A. Bonomo, and L. B. Rice. (2003). Use of denaturing gradient gel electrophoresis for analysis of the stool microbiota of hospitalized patients. J. Microbiol. Methods 54:249-256.

Dubert-Ferrandon, A., D.S. Newburg, and A.W. Walker. (2008). Immune Functions and Mechanisms in the Gastrointestinal Tract. In Handbook of Prebiotics, pp. 115-141

E. Metchnikoff. (1908). Optimistic studies New York: Putman's Sons. 161-183.

E. Pomare, W. Branch and J. Cummings. (1985). Carbohydrate Fermentation in the Human Colon and its Relation to Acetate Concentrations in Venous Blood. The Journal of Clinical Investigation

Eckburg, P.B., E.M. Bik, C.N. Bernstein, E. Purdom, L. Dethlefsen, M. Sargent, S.R. Gill, K.E. Nelson, and D.A. Relman. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 38:1635-1638.

Edrington, T.S., S.E. Dowd, R.F. Farrow. G.R. Hagevoort, T.R. Callaway, R.C. Anderson, and D.J. Nisbet. (2012). Development of colonic microflora as assessed by pyrosequencing in dairy calves fed waste milk. J. Dairy Sci. 95:4519-4525.

EFSA -European Food Safety Authority. (2009). The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal. 223: 1-320.

Ellinger DK, Muller LD and Glandz PJ. (1978). Influence of feeding fermented colostrum and Lactobacillus acidophilus on faecal flora and selected blood parameters of young dairy calves. Journal of Dairy Science 61(Suppl. 1), 126.

FAO (2007) FAO technical meeting on prebiotics, available at http://www.fao.org/ag/agn/files/prebiotics_tech_meeting_report.pdf

Fauci, A.S., D.C. Dale, and J.E. Balow. (1976). Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. Ann. Intern Med. 84:304-315.

Fennestad, K.L. and C. Borg-Petersen. (1962). Antibody and plasma cells in bovine fetuses infected with leptospira saxkoebing. J. Infect. Dis. 110:63-69.

Fernando U, Biswas D, Allan B, Wilson P and Potter AA. (2007). Influence of Campylobacter jejuni fliA, RpoN and Flgk genes on colonization of the chicken gut. International. Journal of Food Microbiology. 118(2): 194-200.

Fey, P. D., T. J. Safreanek, M. E. Rupp, E. F. Dunne, E. Ribot, P. C. Iwen, P. A. Badford, F. J. Angulo, and S. H. Hinrichs. (2000). Ceftiaxone-R-salmonella infection acquired by a child from cattle. N. Engl. J. Med. 342(17):1242-9

Firth, M.A., P.E. Shewen, D.C. Hodgins. (2005). Passive and active components of neonatal innate immune defenses. Anim. Health Res. Rev. 6:143-158.

Flickinger, EA, Van Loo J, and Fahey GC. (2003). Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: A review. Crit Rev Food Sci Nutr. 43:19–60.

Foley, J. A. and D. E. Otterby. (1978). Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: A review. J. Dairy Sci. 61:1033–1060

Franck, AME. (2000). Inulin and oligofructose. In: Gibson G, Angus F, editors. LFRA Ingredient Handbook: Prebiotics and Probiotics. Leatherhead Publishing; Surrey: pp. 1–18.

Fraser, D, Milligan BN, Pajor EA, Philips PA, Taylor AA, and Weary MA. (1998). Behavioral perspectives on weaning in domestic pigs. In: Varley MA, Chadwick JP, editors. Pig Science. Nottingham University Press; Nottingham: pp. 121–138.

Gaggia, F., P. Mattarelli, and B. Biavati. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe foods production. Int. J. Food Microbiol. 141:15-28.

Gibson and M Roberfroid, editors. London: CRC Press. Takahashi, I. and H. Kiyono. (1999). Gut as the largest immunologic tissue. J. Parenter. Enteral Nutr. 23(Suppl.):S7-12.

Gibson, G. R. and Roberfroid M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. The American Journal Clinical Nutrition.125: 1401-1412.

Gibson, G.R., Beatty E.B., Wang X., Cummings J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroentorology.108, 975–982.

Gibson, G.R., Probert, H.M.,van Loo., J. Rastall, R.A. and Roberfroid, M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. Nutr. Res. Rev. 17, 259–275.

Gill, S.R., M. Pop, R.T. DeBoy, P.B. Eckburg, P.J. Turnbaugh, B.S. Samuel, J.I. Gordon, D.A. Relman, C.M. Fraser-Liggett, and K.E. Nelson. (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science. 312:1355-1359.

Greg, Kelly, ND. (2008). Inulin-Type Prebiotics – A Review: Part 1. Alternative Medicine Review. Volume 13, Number 4

Grizard, D and Barthomeuf C. (1999). Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. Reproduction Nutrition Development. 39: 5-6.

Guarner, F. and J.R. Malagelada. (2003). Gut flora in health and disease. The Lancet. 361:512-519.

H. Cheng and M. Lai. (2000). Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic Cholesterol in Rats. The Journal of Nutrition

H. Vondruskova, R. Slamova, M. Trckova, Z. Zraly, I. Pavlik. (2010). Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. Veterinarni Medicina, 55(5): 199–224

Hakan ÖZTÜRK. (2008). Effects of inulin on rumen metabolism in vitro. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 55: 79-82

Halliwell, R.E.W. and N.T. Gorman. (1989). Neonatal Immunology. In: Veterinary clinical immunology. Philadelphia: WB Saunders Co p. 193-205.

Hauser, M.A., M.S. Koob, and J.A. Roth. (1986). Variation of neutrophil function with age in calves. Am. J. Vet. Res. 47:152-153.

Hawthorne, K. M. and S. A. Abrams. (2007). Prebiotics and the absorption of minerals: a review of experimental and human data. In Handbook of Prebiotics, pp. 105–113 [GR Gibson and M Roberfroid, editors]. London: CRC Press

Hobson, N.P., Hobson, P.N. and Stewart C.S. (1988). Rumen Microbial Ecosystem. Springer, Netherlands. 540 pp

Hold G.L., Schweitz A., Aminow R.I., Blaut M., and Flint H.J. (2003). Oligonucleotide probes that detect quantitatively significant groups of butyrate-producing bacteria in human faeces. Apll. Environ. Microbiol. 69, 4320–4324.

Hungate, R.E. (1966). The Rumen and its Microbes. Academic Press, New York. 533 pp.

Husband, A.J. and A.K. Lascelles. (1975). Antibody responses to neonatal immunization in calves. Res. Vet. Sci. 18: 201-207.

I., A. Sghir, and H. R. Gaskins. (1999). Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am. J. Clin. Nutr. 69:1035S–1045S.

Iji PA and Tivey DR. (1998). Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. World Poultry Science Journal; 54: 129-43.

Ishihara, N., D.C. Chu, S. Akachi, and L.R. Juneja. (2000). Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. Livest. Prod. Sci. 68:217-229.

J. H. Cummings. (1981). Short Chain Fatty Acids in the Human Colon. GUT. 22(9): 763–779.

J. J. Hadad and Carlton Gyles. Enterotoxigenic *Escherichia coli* adhering to the intestine of a 2-day-old calf.

J. Wong, R. De Souza, C. Kendall, A. Emam and D. Jenkins. (2006). Health. Colonic, Fermentation, Chain. Short, Acids. Fatty, Journal of Clinical Gastroenterology

J.-P. Jouany and D. P. Morgavi. (2007). Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. Animal, 1:10, pp 1443–1466

Jean-Marc Delroisse Anne-Lise Boulvin, Isabelle Parmentier, Robin Dubois Dauphin, Micheline Vandenbol, and Daniel Portetelle. (2008). Quantification of Bifidobacterium spp. and Lactobacillus spp. in rat fecal samples by real-time PCR. Microbiological Research. 163: 663—670

Jenny, B.F., H. J. Vandijk, and J.A. Collins. (1991). Performance and fecal flora of calves fed a Bacillus subtilis concentrate. J. Dairy Sci. 74: 1968-73.

Kampen, A.H., I. Olsen, T. Tollersrud, A.K. Storset, and A. Lund. (2006). Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. Vet. Immunol. Immunopathol. 113:53-63.

Kaneene, J. B., L. D. Warnick, C. A. Bolin, R. J. Erksine, K. May, and R. A. Miller. (2008). Changes in tetracycline susceptibility of enteric bacteria following switching to nonmedicated milk replacer for dairy calves. J. Clin. Micro. 46(6):1968-1977.

Kaufhold JN, Hammon HM, Blum JW. (2000). Fructooligosaccharides supplementation effects on metabolic, endocrine and hematological traits in vela calves. J. Vet Med A. 47:17–29.

Kaur, N. and A. K. Gupta. (2002). Application of inulin and oligofructose in health and nutrition. J. Biosci. 27Z7X: 703-714.

Kruse, V. (1970). Absorption of immunoglobulin from colostrum in newborn calves. Anim. Prod. 12:627

Kushida, Y., S. Kumagai, K. Gotoh, M. Fujii, M. Touma, and M. Hosono. (2012). T cells affect thymic involution during puberty by inducing regression of the adrenal reticularus. J. Physiol. Sci. 62:173-184.

Langendijk, P. S., F. Schut, G. J. Jansen, G. C. Raangs, G. R. Kamphuis, M. H. F. Wilkinson, and G. W. Welling. (1995). Quantitative fluorescence in situ hybridization of *Bifidobacterium* spp. with genus-specific 16S rRNA-targeted probes and its application in fecal samples. Appl. Environ. Microbiol. 61:3069-3075

Langford, F. M., D. M. Weary, and L. Fisher. (2003). Antibiotic resistance in gut bacteria from dairy calves: a dose response to the level of antibiotics fed in milk. J. Dairy Sci. 86:3963-3966.

Ley, R.E., D.A. Peterson, and J.I. Gordon. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell. 124: 837-848.

Liggitt, H.D., J.C. DeMartini, and D. Pearson. (1982). Immunologic responses of the bovine fetus to parvovirus infection. Am. J. Vet. Res. 43:1355-1359.

Losinger, W. C., S. J. Wells, L. P. Garber, H. S. Hurd, and L. A. Thomas. (1995). Management factors related to Salmonella shedding by dairy heifers. J. Dairy Sci. 78:2464-2472.

Macfarlane, G. T., H. Steed, and S. Macfarlane. (2008). Bacterial metabolism and healthrelated effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. J. Appl. Microbiol. 104 (2): 305–344.

Mackie, R. Bruce BB, Gilliland SE, Bush LJ and Staley TE. (1979). Influence of feeding cattle cells of Lactobacillus acidophilus on faecal flora of young dairy calves. Annual Oklahoma Animal Science Research Report. p. 207.

Malinen, E., Kassinen, A., Rinttila, T. and Palva, A. (2003). Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5_nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. Microbiology. 149: 269–277.

Marchetti, G. (1993). Chicory (Cichorium intybus) and Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) as sources of inulin. Industria. Saccarifera Italiana. 86 (2): 47 – 53.

Matsuki, T., Watanabe, K., Fujimoto, J., Miyamoto, Y., Takada, T., Matsumoto, K., Oyaizu, H., Tanaka, R., (2002). Development of 16S rRNA gene targeted groupspecific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces. Appl. Environ. Microbiol. 68: 5445–5451.

Matsuki, T., Watanabe, K., Tanaka, R., Fukuda, M. and Oyaizu, H. (1999). Distribution of bifido-bacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA gene-targeted species-specific primers. Appl. Environ. Microbiol. 65: 4506–4512.

Matte, J. J., C. L. Girard, J. R. Seoane, and G. J. Brisson. (1982). Absorption of colostral immunoglobulin G in the newborn dairy calf. J. Dairy Sci. 65:1765–1770

Menne, E., N. Guggenbuhl, and M. Roberfroid. (2000). Fn-type chicory inulin hydrosylate has a prebiotic effect in humans. J. Nutr. 130:1197-1199.

Mohsen, Pourabedin and Xin Zhao. (2015). Prebiotics and gut microbiota in chickens. FEMS Microbiology Letters. Vol. 362, No. 15

Morein, B., I. Abusugra, G. Blomqvist. (2002). Immunity in neonates. Vet. Immunol. Immunopathol. 87:207-213.

Morrill, J. L., A. D. Dayton, and R. Mickelson. (1977). Cultured milk and antibiotics for young calves. J. Dairy Sci. 60:1105-1109.

Mul, AJ. (1997). Proceedings of International Symposium Non-Digestible Oligosaccharides: Healthy Food for colon? Wageningen; The Netherlands: Application of oligofructose in animal feeds. p. 106.

Mwenya, B, Santoso B, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, Arai I. and Takahashi J. (2004). Effects of including beta 1,4- galactooligosaccharides, lactic acid bacteria or yeasts culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. Anim Feed Sci Technol. 115: 313–326.

Mwenya, B, Sar C, Santoso B, Gamo Y, Kobayashi T, Morikawa R, Takura K, Umetsu K, Kogawa S, Kimura K, Mizukoshi H. and Takahashi J. (2005). Comparing the effects of beta 1,4-galactooligosaccharides, and L-cysteine to monensin on energy and nitrogen utilization in steers fed a very high concentrate diets. Anim Feed Sci Technol. 118: 19–30.

Nabuurs, M.J.A. (1998). Weaning piglets as a model for studying pathophysiology of diarrhoea. Vet Q. 20: 42–45.

Niness, K.R. (1999). Nutritional and health benefits of inulin and oligofructose. J. Nutr. 129:1402S–1406S.

Nugent, A. R. (2005). Health properties of resistant starch. Br. Nutr. Foundation Nutr. Bull. 30: 27-54.

Ozutsumi, Y., H. Hayashi, M. Sakamoto, H. Itabashi, and Y. Benno. (2005). Culture-independent analysis of fecal microbiota in cattle. Biosci. Biotechnol. Biochem. 69: 1793-1797.

Pancosma. (2016). Finding alternatives to antibiotics. World Poultry

Papatsiros, V.G., Katsoulos, P.D., Koutoulis, K.C., Karatzia, M., Dedousi, A. and Christodoulopoulos, G. (2012). Alternatives to antibiotics for farm animals. Department of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, 43100, Karditsa, Greece

Patkai, G.Y. and Barta J. (2002). Nutritive value of different Jerusalem artichoke varieties. In: 9th Seminar on Inulin. 18–19. April, Budapest.

Patterson, J.A. and Burkholder, K.M. (2003). Prebiotic feed additives: rationale and use in pigs. Proceedings of the 9th International Symposium on Digestive Physiology in pigs, Banff, Alberta, Canada. pp. 319-31.

Pearson, L.D., M.W. Simpson-Morgan, and B. Morris. (1976). Lymphopoiesis and lymphocyte recirculation in the sheep fetus. J. Exp. Med. 143: 167-186.

Penders, J., Vink, C., Driessen, C., London, N., Thijs, C. and Stobberingh, E.E., (2005). Quantification of *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* and *Clostridium difficile* in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. FEMS Microbiol. Lett. 243 (1), 141–147.

Pereira, S., D. Webster, and T. Platts-Mills. (1982). Immature B cells in fetal development and immunodeficiency: studies of IgM, IgG, IgA, and IgD production in vitro using Epstein-Barr virus activation. Eur. J. Immunol. 12: 540-546.

Phillips I. (1999). Assessing the evidence that antibiotic growth promoters influence human infections. Journal of Hospital Infections. 43: 173-8.

Quigley, J. D. III, J. J. Drewry, L. M. Murray, and S. J. Ivey. (1997). Effects of lasalocid in milk replacer or calf starter on health and performance of calves challenged with Eimeria species. J. Dairy Sci. 80:2972-2976

Quigley, J. D., C. J. Kost, and T. M. Wolfe. (2002). Absorption of protein and Ig G in calves fed a colostrum supplement or replacer. J. Dairy Sci. 85:1243–1248

Raschka, L. and Deniel H. (2005). Mechanism underlying the effects of inulin types fructans on calcium absorption in the large intestine of rats. Bone. 37: 728-735

Redman, D. R. (1979). Prenatal influence on immunocompetence of the neonate. J. Anim. Sci. 49: 258–267

Rinttila, T., Kassinen, A., Malinen, E., Krogius, L. and Palva, A., (2004). Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. J. Appl. Microbiol. 97 (6), 1166–1177.

Roberfroid, M. (2007) Prebiotics: The concept revisited. J Nutr. 137:830S-837S.

Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. Diges Liver. 34(suppl 2):105–110.

Roberfroid, M. (1993). Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 33:103-148.

Roberfroid, M. (2008). General Introduction: Prebiotics in Nutrtion. In Handbook of Prebiotics. pp. 1-11 [GR Gibson and M Roberfroid, editors]. London: CRC Press.

Roberfroid, M. B. (1998). Background paper for a workshop on the role of intestinal flora and nutrient bioavailability. BIOAVAILABILITY 97: Wageningen, The Netherlands, 25–28 May

Roberfroid, M. B., Gibson, G. R. and Delzenne, N. (1993). Biochemistry of oligofructose, a non-digestible fructo-oligosaccharide: an approach to estimate its caloric value. Nutr. Rev. 51: 137-146

Rowland, I. and C. Gill. (2008). Prebiotics and Nutrition in the Elderly: the Concept of Healthy Ageing. In Handbook of Prebiotics, pp. 405–420 [GR Gibson and M Roberfroid, editors].London: CRC Press

Rycroft, C.E., Jones, M.R., Gibson, G.R. and Rastall, R.A. (2001). A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. J. Appl Microbiol. 91:878–887.

S. Cook and J. Sellin. (1998). Short Chain Fatty Acids in Health and Disease. Alimentary Pharmacology and Therapeutics

S. Pryde, S. Duncan, G. Hold, C. Stewart and H. Flint. (2002). The Microbiology of Butyrate Formation in the Human Colon. FEMS Microbiology Letters. 217: 133-139

Sakata, T. (1989). Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation of isolated and denervated jejuna segment of the rat. Scand. J. Gastroenterol. 24: 886-90.

Salvemini, D., P.T. Manning, B.S. Zweifel, K. Seibert, J. Connor, M.G. Currie, P. Needleman, and J.L. Masferrer. (1995). Dual inhibition of nitric oxide and prostaglandin production contributes to the anti-inflammatory properties of nitric oxide synthase inhibitors. J. Clin. Invest. 96: 301-308.

Samanta, A.K., Kolte, A.P., Chandrasekharaiya, M., Thulasi A., Sampath K.T. and Prasad C.S. (2007). Prebiotics: The rumen modulator for enhancing the productivity of dairy animals. Indian Dairyman 59: 58-61

Samanta, A.K., Senani, S, Kolte, A.P., Manpal S. and Natasha J. (2010). Application of prebiotics in poultry. Agrovet Buzz. 3: 38–42.

Samanta, AK, Senani S, Kolte AP, Sridhar Manpal Bhatta R and Natasha Jayapal. (2012). Effect of prebiotic on digestibility of total mixed ration. Indian Vet J. 89: 41–42.

Samanta, AK, Singh KK, Das MM, Maity SB and Kundu SS. (2003). Effect of complete feed block on nutrient utilization and rumen fermentation in Barbari goats. Small Ruminant Res. 48: 95-102.

Samanta, Natasha Jayapal, S. Senani, A.P. Kolte and Manpal Sridhar. (2013). Prebiotic inulin: Useful dietary adjuncts to manipulate the livestock gut microflora. Brazilian Journal of Microbiology. 44(1): 1-14

Sangeetha, PT, Ramesh MN and Prapulla SG. (2005). Maximization of fructooligosaccharides production by two stage continuous process and its scale up. J. Food Eng. 68: 57–64.

Sansak Nakavisut and Suwit Anothaisinthawee. (2014). Dairy Goat Production in Thailand. *The 2nd Asian-Australasian Dairy Goat Conference, April 25-27th, 2014, Bogor, Indonesia*

Sansak Nakavisut. (2016). Current status of dairy goat farming in Thailand. *3rd Asian-Australasian Dairy Goat Conference, May 9-13, 2016, Yangling,China*

Santoso, B, Kume S, Nonaka K, Gamo Y, Kimura K. and Takashi J. (2003). Influence of beta galactooligosaccharide supplementation on nitrogen utilization, rumen fermentation, and microbial nitrogen supply in dairy cows fed silage. Asia Austr J. Anim Sci. 26:1137–1142.

Schultz, R.D., H.W. Dunne, and C.E. Heist. (1973). Ontogeny of the bovine immune response. Infect. Immun. 7: 981-991.

Senogles, D.R., P.S. Paul, D.W. Johnson, and C.C. Muscoplat. (1979). Ontogeny of T cells, B cells and monocytes in the bovine foetus. Clin. Exp. Immunol. 36: 299-303.

Shahani, K.M. and A.D. Ayebo. (1980). Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. Am. J. Clin. Nutr. 33:2448-2457.

Sharon Donovan, G. Gibson, D. Newburg. (2008). Prebiotics in Infant Nutrition. Mead Johnson Nutr.

Silva, R.F. (1996). Use of inulin as a natural texture modifier, Cereal Foods World. 41 (10): 792 –795

Smith, B.P. (2002). Salmonellosis in ruminants. in Large Animal Internal Medicine. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, MO. pp. 770 -775

Tanjor S, Judprasong K, Chaito C. and Jogloy S. (2012) Inulin and fructooligosaccharides in different varieties of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). KKU Res J. 17(1):25-34.

Tizard, I.R. (1982). Immunity in the fetus and newborn animal. An Introduction to veterinary Immunology. 165-177

Tizard, I.R. (2013). Veterinary Immunology. 9th edn. Elsevier, St. Louis

Tollefson, L., P. J. Fedorka-Gray, and F. J. Angulo. (1999). Public health aspects of antibiotic resistance monitoring in the USA. Acta. Vet. Scand. Suppl. 92: 67-75.

Tomomatsu, H. (1994). Health effects of oligosaccharides. A review. Food Technol., 48:61-65.

Topping, D. L. and P. M. Clifton. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiological Reviews. 81 (3): 1031–64.

Topping, D. L., M. Fukushima, and A. R. Bird. (2003). Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. Proceedings of the Nutrition Society. 62:171-176.

Tract Ecosystem. In Prebiotics and Probiotics Science and Technology. [ed. Charalampopoulos, D. and R. A. Rastall]. New York, NY: Springer Science+Business Media. LLC. pp. 1–32

US Office of Technology Assessment. (1995). Chap 1, 2, 7. In: Impacts of antibiotic resistant bacteria. Washington (DC): US Government Printing Office.

USDA. (2007). Part I: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, 2007 USDA:APHIS:VS,CEAH, National Animal Health Monitoring System, Fort Collins, CO #N480.1007

USDA. (2010). Dairy 2007, Heifer Calf Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations. 2007. USDA:APHIS:VS, CEAH. Fort Collins, CO #550.0110

US-DHHS. (2010). The Judicious Use of Medically Important Antimicrobial drugs in Food-Producing Animals. US-DHHS:FDA:CVM. Draft Guidance #209.

Van den Heuvel E.G, Muys T., van Dokkum W. and Schaafsma G. (1999). Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. Am. J. Clin. Nutr. 69: 544–548.

Van loo, J., Coussement, P., Deleenheer, L., Hoebregs, H. and Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. Crit. Rev. Food Sci., Nutr. 35: 525 – 552.

Verdonk JMA.J, Beelan GM., Jansman AJM. and Huisman J. (1998). Effect of soya carbohydrate fractions on the ileal digestibility and endogenous flow of nitrogen in veal calves. In: Jansman AJM, Hill GD, Huisman J, Vander Poel AFB, editors. Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Wageningen; The Netharlands: pp. 341–343.

Verdonk JMAJ. and Van Leeuwen P. (2004). The application of inulin type fructans in diets for veal calves and broilers. Inulin and Oligofructose Feed Good Factors for Health and Well Being; 4th Orafti Research Conference; Paris.

Visek, W. J. (1978). The mode of growth promotion by antibiotics. J. Anim. Sci. 46:1447-1469.

Vondruskova H, Slamova R, Trckova M, Zraly Z and Pavlik I. (2010). Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. Veterinarni Medicina; 55(5): 199-224.

Vos, P. A., Haarman, M., Buco, A., Govers, M.; Knol, J., Garssen, J., Stahle, B., Boehm, G. and M'Rabet, L. (2006). A specific prebiotic oligosaccharide mixture stimulates delayedtype hyper sensitivity in murine influenza vaccination model. International ImmunoPharmacology. 6: 1277 – 1286.

Walker, W. A. and L. C. Duffy. (1998). Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics. J. Nutr. Biochem. 9:668-675.

Walter Gruenberg. (2014). Diarrhea in Neonatal Ruminants. The merck veterinary manual

Wang, R. F., Cao, W. W., Campbell, W.L., Hairston, L., Franklin, W. and Cerniglia, C.E. (1994). The use of PCR to monitor the population abundance of six human intestinal bacterial species in an in vitro semicontinuous culture system. FEMS Microbiol. Lett. 124: 229–238.

Wang, R. F., Cao, W. W., and Cerniglia, C.E. (1996). PCR detection and quantitation of predominant anaerobic bacteria in human and animal fecal samples. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1242–1247

Wierup M. (2001). The Swedish experience of the 1986 ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. Microbial Drug Resistance. 7: 183-90.

Windeyer, M.C., K.E. Leslie, S.M. Godden, D.C. Hodgins, K.D. Lissemore, and S.J. LeBlanc. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of heifer calves up to 3 months of age. Prev. Med. 113: 231-240

Yildiz, G. Sacakli, P. and Gungor, T. (2006). The effect of dietary Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) on performance, egg quality characteristics and egg cholesterol content in laying hens. Czech J. Anim. Sci. 51 (8): 349-354

Younes. H., K. Garleb, H. Behr, C. Remesy, C. Remesy and C. demigne. (1995). Fermentable fiber of oligosaccharide reduce urinary nitrogen excretion by increasing urea disposal in the rat cecum. J. Nutr. 125: 1010-1016.

# ประวัติหัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ - นามสกุล (Name): ดร. ปราโมทย์ แพงคำ (Dr. Pramote Paengkoum)

2. ตำแหน่ง (Position):

2003-2005: อาจารย์ (lecturer)

2006-2012: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (Assistant Professor)

2013-ปัจจุบัน: รองศาสตราจารย์ (Associate Professor)

3. หมายเลขบัตรประชาชน (National Card): 3 4016 00684 xxx

4. หน่วยงานที่ติดต่อได้: สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

111 ถ. มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ต. สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 224575 โทรสาร (044) 224151 E-mail: pramote@sut.ac.th

**5. ประวัติการศึกษา (Education)**

| ปีที่จบการศึกษา (Year) | ระดับปริญญา (Level) | อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม (Full name) | สาขาวิชา (field) | วิชาเอก (minor) | สถาบันการศึกษา (University) | ประเทศ (Country) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2536 (1993) | ปริญญาตรี (B.Sc.) | วท.บ. (เกษตรศาสตร์) | เกษตรศาสตร์ (Agriculture) | Animal Science | Khon Kaen University | Thailand |
| 2541 (1998) | ปริญญาโท (M.Sc.) | วท.ม. (สัตวศาสตร์) | Animal Nutrition | Ruminant Nutrition | Khon Kaen University | Thailand |
| 2546 (2003) | ปริญญาเอก (Ph.D.) | Ph.D. (Animal Nutrition) | Animal Nutrition | Ruminant Nutrition | Universiti Putra Malaysia | Malaysia |

**6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (Field Interest/Teaching)**

- โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง (Ruminant Nutrition)
- การผลิตแพะ-แกะ (Goat and Sheep Production)
- Nutritional management related to environmental friendly
- The utilization of local feed resources for ruminants
- Protein and energy in ruminants
- Animal production and sustainable farming system
- Animal feed biotechnology

**7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ**

**7.1.1 International Committee:**

- International Advisory Committee: (2017-2019) – International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries (SAADC).

- International Advisory Committee: (2013-2015) – International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries (SAADC).
- Secretary (2009-2011) – The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries.
- Scientific Chair (2012) – The 1st International Conference on Animal Nutrition and Environment (ANINUE).

**7.1.2 หนังสือ/ book/เอกสาร**

**- ปราโมทย์ แพงคำ.** 2555. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 275 หน้า.

**- ปราโมทย์ แพงคำ.** 2546. เอกสารประกอบการสอน วิชาการผลิตแพะ-แกะ. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 150 หน้า.

**- ปราโมทย์ แพงคำ.** 2547. เอกสารประกอบการสอน วิชาปฏิบัติการอาหารสัตว์. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 141 หน้า.

**7.1.3 Invited speaker**

**Paengkoum, P.** and C. Yuangklang. 2013. Converting agro-by products for sustainable livestock production. Proc. Of The 4th International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries (SAADC2013), July 27-31, 2013, Lanzhou University, China. 49-54.
(Plenary paper).

Yuangklang, C., **P. Paengkoum** & C. Wachirapakorn. 2009. Supplementation of Vegetable Oil on Performance of Ruminants. Kuala-Lumpur, Malaysia, 8th – 11th November, 2009. The 2rd international conference on Sustainable Animal Agriculture for developing countries (SAADC2009). (Lead paper).

**Pramote Paengkoum**. 2006. Using rumen degradation model to evaluate microbial protein yield and intestinal digestion of grains in cattle. In: Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals. E. Kebread, J. Dijkstra, A. Bannink, W.J.J. Gerrits and J. France, eds. **CABI Publishing, CAB Internationa**l, Wallingford, UK. p 28-32.

**7.1.4 ประเภทวารสาร/journal**

Tian, X.Z., **P.Paengkoum**, S. Paengkoum, S. Chumpawadee, C.Ban and S. Thongpae. 2019. Effects of anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) stover silage on nutrient utilization, rumen fermentation, plasma antioxidant capacity, and mammary gland gene expression in dairy goats. Journal of Animal Science. 97: 1384–1397 (Q1; IF=1.711)

Tian, X.Z., **P.Paengkoum**, S. Paengkoum, S. Chumpawadee, C.Ban and S. Thongpae. 2019.

*Short communication*: Purple corn (*Zea may*, L.) stover silage with aboundant anthocyanins transferring anthocyanin composition to the milk and increasing antioxidant status of lactating dairy goats. Journal of Dairy Science. 102: 413-418. (Q1; IF=2.749)

**Paengkoum**, **P.**, T. Phonmun, J. B. Liang, X. D. Huang, H. Y. Tan, M. F. Jahromi. 2015. Molecular Weight, Protein Binding Affinity and Methane Mitigation of Condensed Tannins from Mangosteen-peel (*Garcinia mangostana* L). Asian Australasian Journal of Animal Sciences. 28(10): 1442-1448. (Q1; IF=1.243)

TIAN, X.-Z., **P. Paengkoum**, S. Paengkoum, S. Thongpea, C. BAN. 2018. Comparison of forage yield, silage fermentative quality, anthocyanin stability, antioxidant activity, and *in vitro* rumen fermentation of anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) stover and sticky corn stover. Journal of Integrative Agriculture. 17(9): 2082-2095. (Q2; IF= 1.042)

**Paengkoum, P**. S. Traiyakun and S. Paengkoum. 2013. Intestinal digestibility of enriched-protein fodders measured by mobile bag incubated with or without pepsin-HCl and three-step techniques. South African Journal of Animal Science. 42(4): 511-518. (Q2; IF= 0.981)

Raksasiri B.V., S. Paengkoum, K. Poonsuk, P. Thitisak and **P. Paengkoum**. 2019. Effect of Synbiotics in Creep Feed on Productive Performance and Selected Fecal Characteristics of Goat Kids. International Journal of Agriculture Biology. 21(5): 1019-1023. (Q2; IF=0.869)

**Paengkoum** P., S. Chen, S. Paengkoum. 2019. Effects of crude protein and undegradable intake protein on growth performance, nutrient utilization, and rumen fermentation in growing Thai-indigenous beef cattle. Tropical Animal Health and Production. 51: 1151-1159. https://doi.org/10.1007/s11250-019-01799-0 (Q2; IF=0.975)

Tiengtam, N., **Paengkoum, P**., Sirivoharn, S., Phonsiri, K., Boonanuntanasarn, S. **2017.** The effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber on the growth performance, haematological, blood chemical and immune parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings**.** Aquaculture Research. 48(10): 5280-5288 (Q2; 1.475)

Purba, R.A.P. and **P. Paengkoum**. 2019. Bioanalytical HPLC method of *Piper betle* L. for quantifying phenolic compound, water-soluble vitamin, and essential oil in five different solvent extracts. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 9(5): 33-39. DOI:10.7324/JAPS.2019.90504. (Q2; IF=0.244)

**Paengkoum, P**., Thongpea, S., Paengkoum, S.2017. Utilization of concentrate supplements containing varying levels of cassava leaf pellet by growing goats fed a basal diet of pangola hay. Indian Journal of Animal Research. 51 (6): 1091-1096. (Q3; IF=0.201)

Vorlaphim, T., Yaungklang, C., Paengkoum, S., Preston, T.R., **Paengkoum, P.** 2018. Effect of *pleurotus spp* pretreatment on the biodegradation of rice stubble. Livestock Research for Rural Development. 30 (12): (Q3)

**Paengkoum**, **P**., P. Tatsapong, O. Pimpa, S. Traiyakun and M.D. Hare. 2013. Nitrogen

equirements for maintenance of growing Thai native buffalo fed with rice straw as roughage. Buffalo Bulletin. 32(1): 35-40. (Q3; 0.119)

**Paengkoum**, **P**., P. Tatsapong, O. Pimpa, M.D. Hare and S. Paengkoum. 2013. Effect of protein on microbial protein synthesis and productive performances of Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Buffalo Buletin. 32 (Suppl.2): 966-969. (Q3; 0.119)

Yuangklang, C., Vasupen, K., Bureenok, S., Wongsuthavas, S., Beynen, A.C., Wachirapakorn, C., **Paengkoum, P**., Vorlaphim, T. 2013. Effect of roughage sources and fibrolytic enzyme supplementation on nutrient digestion and rumen fermentation in buffaloes. Buffalo Bulletin. 32:993 - 997 (Q3; 0.119)

**Paengkoum, P**. S. Traiyakun and S. Paengkoum. 2013. Intestinal digestibility of enriched-protein fodders measured by mobile bag incubated with or without pepsin-HCl and three-step techniques. South African Journal of Animal Science. 42(4): 511-518.

**Paengkoum**, **P**., P. Tatsapong, O. Pimpa, M.D. Hare and S. Paengkoum. 2013. Effect of protein on microbial protein synthesis and productive performances of Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Buffalo Buletin. 32 (Suppl.2): 966-969.

**Paengkoum**, **P**., P. Tatsapong, O. Pimpa, S. Traiyakun and M.D. Hare. 2013. Nitrogen equirements for maintenance of growing Thai native buffalo fed with rice straw as roughage. Buffalo Bulletin. 32(1): 35-40.

**Paengkoum P**. and K. Bunnakit. 2012. Nutritional evaluation of extrusion-processed mixture of cassava pulp and urea using *in vitro* gas production technique. Animal Nutrition and Feed Technology. 12: 315-324.

**Pramote Paengkoum.** 2011. Effects of *Streblus asper* Lour foliage on digestibility, rumen fermentation, and nitrogen balance of growing goats**.** Tropical Animal Health and Production. 43 (2), pp. 491-494.

**Pramote Paengkoum.** 2011. Utilization of concentrate supplements containing varying levels of coconut meal by Thai native Anglo-Nubian goats. Livestock Research for Rural Development. 23 (2). 1-7.

**Pramote Paengkoum** and S. Paengkoum**.** 2010. Effects of supplementing rice straw with Leucaena (*Leucaena leucocephala*) and Madras thorn (*Pithecellobium dulce*) foliages on digestibility, microbial N supply and nitrogen balance of growing goats. Animal Physiology and Animal Nutrition. 94 (5): e59-e65.

Kanin Bunnakit, **Pramote Paengkoum**, Wisitiporn Suksombat and Opart Pimpa. 2008. Effect of Caspurea as a protein source replacement for sotbean meal in diets on performance of Thai native x Brahman beef cattle. Suranaree Journal of Science and Technology, 15 (1): 57-68.

**Pramote Paengkoum** and S. Paengkoum. 2007. Effects of cassava chips used as non-structural carbohydrate source for lactation dairy cows fed urea-treated rice straw. KMUTT Research and Development J. 30(3):435-448.

**Pramote Paengkoum.** 2007. Sunflower seed meal as rumen-undegradable protein sources for lactating dairy cows fed urea-treated rice straw. Chiang Mai J. Sci. 34(1): 119-125.

**Pramote Paengkoum**, J.B. Liang, Z.A. Jelan and M. Baserry. 2006. Utilization of steamed-treated oil palm fronds in growing Saanen goats: I. Supplementation with dietary urea. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 19(9): 1305-1313. (Impact Factor = 0.854)

**Pramote Paengkoum**, J.B. Liang, Z.A. Jelan and M. Baserry. 2006. Utilization of steamed-treated oil palm fronds in growing Saanen goats: II. Supplementation with energy and urea. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 19(11): 1623-1631. (Impact Factor = 0.854)

Wanapat, M., Chumpawadee, S. and **Paengkoum, P**. Utilization of urea-treated rice straw and whole sugar cane crop as roughage sources for dairy cattle during the dry season. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 2000; 13 (4): 474-477.

**Paengkoum, P**., Liang,J.B., Basery, M. and Jelan, Z.A. Ruminal and intestinal digestibilities of oil palm (Elaeis guineesis) fronds in cattle. Songklanakarin Journal Science and Technology. 2001; 23 (2): 343-350**.**

**Paengkoum, P**., Liang,J.B., Basery, M. and Jelan, Z.A. Ruminal and intestinal digestibilities of protein foliages in crossbred cattle. Chiang Mai Journal Science. 2001; 28: 45-49.

**Paengkoum P**., Liang,J.B., Basery, M. and Jelan, Z.A. Ruminal and intestinal digestibility of Leucaena foliage (Leucaena leucocephala) and kenaf foliage (Habiscus cannabinas) in cattle. Suranaree Journal Science and Technology. 2001; 8: 154-159.

**Paengkoum, P**., Liang, J.B., Basery, M. and Jelan, Z.A. Nitrogen and phosphorus balance in Saanen goats fed different levels of nitrogen and energy rations containing oil palm fronds as roughage sources. Suranaree Journal Science and Technology. 2003; 9: 293-300.

**8. รางวัลที่เคยได้รับ** (ด้านวิชาการโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับงานวิจัย):

**1.** รางวัลพนักงานดีเด่น ด้านบริการวิชาการ ประจำปี 2562 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. The best poster presentation award: Srisaikham S. and P.Paengkoum. Effect of Siam neem leaves on ruminal protozoa, rumen fermentation and productivity performance of goats. 2014. In: AAAP 2014, Indonesia. The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies.

3. The best poster presentation award: Pramote Paengkoum and Somnuk Sornnok. Various Time and Temperature Treatments of full-fat soybeans on Intestinal digestibility in Ruminants. International Symposium on Animal and Plant Production for Food and Environmental Security. 9-11 Aug 2004, Bangkok, Thailand. 2004: p 65-67."

# ผลงานจากการวิจัย

Kamkajon, K., P. Paengkoum, S. Paengkoum and Z. Yu. 2020. Effects of Jerusalem artichoke-rich inulin prebiotic mixed in milk replacer on faecal score of newborn goats.Wulfenia. 27(2): 108-113. (Q4, IF = 0.886)

Kamkajon, K., P. Paengkoum, S. Paengkoum and Z. Yu. 2020. Effects of inulin from Jerusalem artichoke on hematological traits of goat kids. Sylwan. 16492): 370-377. (Q2, IF = 0.691)

**ผลิตบัณฑิตปริญญาเอก 1 คน**

Kanokwan Kamkajon. 2017. A STUDY ON THE EFFECT OF INULIN FROM JERUSALEM ARTICHOKE IN DAIRY GOAT. Thesis of Doctor of Philosophy in Animal Production Technology, Suranaree University of Technology