



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลการเสริมหน้าส้มควั่นไม้ไผ่ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่
การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่
ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

**Effects of Dietary Bamboo Vinegar Supplementation on Performance,
Eggshell Quality, Alterations of Intestinal Villi and Intestinal Microflora
Populations of Laying Hens in the Late Phase of Production**

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ

เมษายน 2561

สัญญาเลขที่ MRG6080083

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่
การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่
ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

**Effects of Dietary Bamboo Vinegar Supplementation on Performance,
Eggshell Quality, Alterations of Intestinal Villi and Intestinal Microflora
Populations of Laying Hens in the Late Phase of Production**

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ: MRG6080083
 ชื่อโครงการ: ผลการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต
 ชื่อนักวิจัย: เจษฎา รัตนวุฒิ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 อีเมลติดต่อ: jassada.r@psu.ac.th
 ระยะเวลาโครงการ: เมษายน 2560 – เมษายน 2561

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการทดสอบผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ จุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็กของไก่ไข่ โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ไฮเชก บราวน์ อายุ 70 สัปดาห์ จำนวน 320 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว ไก่ไข่จะได้รับอาหารที่เสริมด้วยน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับ 0, 0.2, 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองจนกระทั่งไก่ทดลองมีอายุ 86 สัปดาห์ ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ย มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ($P>0.10$) การเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลงในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต (อายุ 79-86 สัปดาห์) ($P<0.05$) และช่วยปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่ให้ดีขึ้นที่อายุ 82 และ 86 สัปดาห์ นอกจากนั้นการเสริมที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ยังมีผลช่วยยับยั้งการเจริญของอีโคไล และซัลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลาย ($P<0.05$) และการเสริมทั้ง 2 ระดับยังสามารถช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวการดูดซึมของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นได้ ($P<0.05$) ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการลดการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค การกระตุ้นการทำหน้าที่ของวิลไลในลำไส้ และการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ในไก่ไข่ที่อยู่ในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต

คำสำคัญ: ไก่ไข่อายุมาก น้ำส้มควันไม้ไฟ ลำไส้ วิลไล

Project Code: MRG6080083
Project Title: Effects of dietary bamboo vinegar supplementation on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora populations of laying hens in the late phase of production
Investigator: Jessada Rattanawut, Prince of Songkla University
E-mail Address: jassada.r@psu.ac.th
Project Period: April 2017 – April 2018

ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the effect of dietary supplementation of different levels of bamboo vinegar (BV) on performance, eggshell quality, ileal microflora and intestinal villus morphology in laying hens. A total of 320 Hisex Brown laying hens (70 weeks old) were randomly divided into four dietary treatments with ten replicates of eight hens each. The birds were fed *ad libitum* a basal diet supplemented with BV at 0, 0.2, 0.4 or 0.8% level until 86 weeks of age. The level of BV in the diet had no effect on egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency ($P>0.10$). Damaged egg rate decreased significantly in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets during the late laying period (79 to 86 weeks of age) ($P<0.05$). Eggshell thickness and eggshell strength were higher in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets at week 82 and 86 compared with controls. In the ileal content, population of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. decreased significantly with 0.4 and 0.8% BV in the diet. ($P<0.05$). Tissue observations by light microscopy revealed that villus height and villus areas of duodenum were also higher in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets ($P<0.05$). The results of this study demonstrate that a level of 0.4% BV in a layer's diet is sufficient for reducing pathogenic bacteria, stimulating intestinal functions and improving eggshell quality of laying hens in the late phase of production.

Keywords: aged hen, bamboo vinegar, intestine, villus

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive summary)

ในการเลี้ยงไก่ไข่ทางการค้า เกษตรกรผู้เลี้ยงมักจะปลดไก่ออกจากฟาร์มเมื่ออายุการให้ไข่ประมาณ 12 เดือน (อายุไข่ 72 สัปดาห์) แต่ในปัจจุบันพบว่าเกษตรกรมักจะยืดเวลาการปลดไก่ออกไป คุณภาพเปลือกไข่เป็นปัญหาหนึ่งที่มักพบในไข่ไก่อายุมาก ซึ่งมีผลทำให้ไข่ที่แตกเสียหายมีมากในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต นักวิจัยได้พยายามหาวิธีการต่างๆ ในการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ การศึกษาเกี่ยวกับผลของโภชนาการต่อคุณภาพของเปลือกไข่จะมุ่งเน้นไปที่การจัดการแคลเซียมในอาหารเป็นหลัก อย่างไรก็ตามพบว่าการเพิ่มระดับแคลเซียมในอาหารไม่ได้ช่วยทำให้ผลผลิตไข่และคุณภาพของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ก็พบว่าการเพิ่มระดับแคลเซียมยังมีผลกระทบต่อกรกินอาหาร และการดูดซึมของแร่ธาตุอื่นๆ อีกด้วย การเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและการเพิ่มการดูดซึมในทางเดินอาหารอาจจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในทางปฏิบัติสำหรับการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ ข้อมูลจากงานวิจัยพบว่า สารเพิ่มความเป็นกรดสามารถช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุในทางเดินอาหารของไก่ไข่ และอาจมีผลทำให้คุณภาพของเปลือกไข่ดีขึ้น

น้ำส้มคว้นไม้ไผ่เป็นสารเพิ่มความเป็นกรดชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ น้ำส้มคว้นไม้ไผ่เป็นของเหลวที่ได้จากกระบวนการเผาถ่านไม้ไผ่และประกอบด้วยสารที่สำคัญมากกว่า 200 ชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอล อัลเคน แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยกรดอะซิติกเป็นสารประกอบหลักที่พบมากที่สุด น้ำส้มคว้นไม้ไผ่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารได้หลายชนิด และช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ นอกจากนี้ น้ำส้มคว้นไม้ไผ่ยังมีผลช่วยส่งเสริมการดูดซึมของแคลเซียมในทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยวโดยการเพิ่มการละลายของแคลเซียม ดังนั้น ถ้านำน้ำส้มคว้นไม้ไผ่มาใช้เสริมในอาหารไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิตก็อาจจะทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและแร่ธาตุอื่นๆ เพิ่มขึ้น และมีผลทำให้คุณภาพของเปลือกไข่ดีขึ้น

การศึกษาผลการเสริมน้ำส้มคว้นไม้ไผ่ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ จุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ ทำการทดสอบในไก่ไข่พันธุ์ไฮเชกบราวน์ ช่วงอายุ 70-86 สัปดาห์ จำนวน 320 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว ไก่ไข่ทดลองจะได้รับอาหารสูตรพื้นฐานและมีการเสริมน้ำส้มคว้นไม้ไผ่ที่ระดับ 0, 0.2, 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ในช่วงของการทดลองจะมีการบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราการแตกเสียหายของไข่ ปริมาณอาหารที่กิน ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร และคุณภาพไข่ เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กของไก่ไข่ เพื่อนำไปหาการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ และเก็บตัวอย่างอาหารที่ย่อยในลำไส้เล็กส่วนปลายไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์

ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริมน้ำส้มคว้นไม้ไผ่ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร

การเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลง ในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต (อายุไก่ไข่ 79-86 สัปดาห์) และช่วยปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่ให้ดีขึ้น นอกจากนี้การเสริมที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ยังมีผลช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค แต่ไม่มีผลกระทบต่อการดำรงอยู่ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และการเสริมทั้ง 2 ระดับยังสามารถช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวการดูดซึมของวิลโลในลำไส้เล็กส่วนต้นได้ ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการลดการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค การกระตุ้นการทำหน้าที่ของวิลโลในลำไส้ และการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ในไก่ไข่ที่อยู่ในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนสนับสนุนการวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณ Prof. Dr. Koh-en Yamauchi และ รองศาสตราจารย์ ดร. โอภาส พิมพา ที่ให้คำปรึกษาด้านต่างๆ ในระหว่างการทำวิจัย ทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ให้ข้อเสนอแนะและคำแนะนำสำหรับการทำวิจัย ขอขอบคุณนักศึกษาศาสาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตรที่คอยช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลองและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

เมษายน 2561

ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(2)
ABSTRACT	(3)
บทสรุปผู้บริหาร (Executive summary)	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(8)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสารเกี่ยวกับน้ำส้มควันไม้ไผ่	3
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	8
บทที่ 4 ผลการทดลอง	15
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	21
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	27

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	11
2 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้	12
3 ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่	16
4 ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อคุณภาพไข่	18
5 ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่	20
6 ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของไวรัสในลำไส้	20

บทที่ 1

บทนำ

โดยทั่วไปเกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ไข่มักจะปลดไก่ออกจากฟาร์มเมื่ออายุการให้ไข่ประมาณ 12 เดือน (อายุไข่ 72 สัปดาห์) แต่ในปัจจุบันพบว่าเกษตรกรมักจะยืดเวลาการปลดไก่ออกไป คุณภาพเปลือกไข่เป็นปัญหาที่มักพบในไก่ไข่อายุมาก เมื่อไก่มีอายุมากขึ้นจะมีน้ำหนักของฟองไข่ที่เพิ่มขึ้น แต่การสะสมของแคลเซียมในเปลือกไข่ไม่ได้เพิ่มขึ้นตาม ดังนั้นจึงมีผลทำให้สัดส่วนของเปลือกและความหนาของเปลือกลดลง นอกจากนั้นเมื่อไก่มีอายุมากขึ้น ประสิทธิภาพในการดูดซึมแคลเซียมจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับไก่ที่อายุน้อยกว่า ด้วยเหตุนี้ไข่ที่แตกเสียหายจึงมีมากในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต นักวิจัยได้พยายามหาวิธีการต่างๆ ในการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ ในปัจจุบันพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับผลของโภชนาตาคู่คุณภาพของเปลือกไข่นั้นจะมุ่งเน้นไปที่การจัดการแคลเซียมในอาหารเป็นหลัก อย่างไรก็ตามพบว่า การเพิ่มระดับแคลเซียมในอาหารไม่ได้ช่วยทำให้ผลผลิตไข่และคุณภาพของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นก็พบว่าการเพิ่มระดับแคลเซียมเพียงอย่างเดียวก็มีผลกระทบต่อการทำงานของอาหาร และการดูดซึมแร่ธาตุอื่นๆ อีกด้วย Skrivan et al. (2010) ได้รายงานว่าการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมในลำไส้ในช่วงที่มีการสร้างเปลือกไข่มีความสำคัญมากกว่าระดับของแคลเซียมที่เก็บสะสม และการเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจะมีผลทำให้คุณภาพของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการเพิ่มระดับของแคลเซียมในอาหารจึงไม่สามารถแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ แต่การเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและการเพิ่มการดูดซึมในทางเดินอาหารอาจจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในทางปฏิบัติ

จุลินทรีย์ในลำไส้มีบทบาทสำคัญต่อการรักษาความสมบูรณ์ของเยื่อผนังลำไส้ ถ้าความสมบูรณ์นี้ลดลงจะทำให้ติดเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น เมื่อไก่มีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้ และเยื่อของผนังลำไส้จะมีความไวต่อการสูญเสียความสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งมีผลทำให้แบคทีเรียที่ก่อโรคเข้าแทนที่แบคทีเรียที่มีประโยชน์ได้มากขึ้น (Lambert, 2009) ดังนั้น การหาวิธีเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์และลดแบคทีเรียที่เป็นโทษจึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยรักษาความสมดุลของลำไส้ นอกจากนั้นการใช้สารเสริมบางชนิดที่มีประโยชน์ก็อาจจะทำให้ความสมบูรณ์ของเยื่อผนังลำไส้ดีขึ้น ซึ่งอาจจะมีผลในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาตารวมทั้งมีผลช่วยในการดูดซึมโภชนาตารวมมากขึ้น มีงานวิจัยที่ได้รายงานว่าการเพิ่มความเป็นกรด (acidifiers) สามารถช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุในทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Lutz and Scharrer, 1991; Boling et al., 2000; Mroz et al., 2000; Liem et al., 2008) โดยมีผลช่วยลดความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหาร ซึ่งมีผลช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และช่วยเพิ่มการละลายของแร่ธาตุต่างๆ ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุเพิ่มขึ้น การใช้สารเพิ่มความเป็นกรดในอาหารไก่ไข่พบว่า มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิต และคุณภาพเปลือกไข่เพิ่มขึ้น (Park et al., 2002; Yesilbag and Colpan, 2006; Soltan, 2008)

น้ำส้มควันไม้ไผ่ (bamboo vinegar) เป็นสารเพิ่มความเป็นกรดชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบฟีนอล อัลเคน แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ส่วนประกอบหลักของน้ำส้มควันไม้ไผ่ประกอบด้วยน้ำ และกรดอะซิติก ซึ่งมีปริมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ และ 3.5-4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Velmurugan et al., 2009) กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (*Enterococcus* และ *Bifidobacterium*) และช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (*Salmonella* species) (Watarai and Tana, 2005) นอกจากนั้นน้ำส้มควันไม้ยังช่วยส่งเสริมการดูดซึมของแคลเซียมในลำไส้ของหนูทดลองโดยการเพิ่มการละลายของแคลเซียม (Kishi et al., 1999)

ด้วยคุณสมบัติที่ดีของน้ำส้มควันไม้ไผ่ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะใช้น้ำส้มควันไม้ไผ่เสริมในอาหารไก่ไข่เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพเปลือกไข่ การศึกษาครั้งนี้จะทำการทดสอบเกี่ยวกับผลของน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต
2. ศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก
3. ศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum)

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

น้ำส้มควันไม้ไผ่ (Bamboo vinegar liquid)

น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ (*Phyllostachys pubescens*) ภายใต้สภาพอับอากาศ (airless condition) และที่อุณหภูมิเหมาะสม (ประมาณ 700 °C) ควันที่ออกมาเมื่อกระทบความเย็นก็จะกลั่นตัวเป็นไอน้ำจนเป็นของเหลวในที่สุด น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก สารประกอบฟีนอล คีโตน และอัลดีไฮด์ โดยพบว่ามีกรดอะซิติกประกอบอยู่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของสารอินทรีย์ทั้งหมด (Akakabe et al., 2006) น้ำส้มควันไม้ไผ่มีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าน้ำส้มควันไม้ทั่วไปประมาณ 3-4 เท่า สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ได้รับความสนใจในปัจจุบันเนื่องจากมีผลต่อการป้องกันการหืน (antioxidant) ป้องกันการอักเสบ (anti-inflammatory) และมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค น้ำส้มควันไม้ไผ่ได้มีการใช้เป็นยาพื้นบ้านสำหรับการรักษาโรคผิวหนัง ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ รวมทั้งใช้เป็นสารดับกลิ่น การนำไปใช้ส่วนใหญ่จะทำการผสมด้วยน้ำ (Velmurugan et al., 2009)

การเผาถ่านเพื่อทำน้ำส้มควันไม้ไผ่

วินัย และคณะ (2547) ได้อธิบายว่า การเผาถ่าน คือ กระบวนการเปลี่ยนให้ไม้ไผ่กลายเป็นถ่าน มี 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การไล่ความชื้นหรือคายความร้อน (Dehydration)

เริ่มจุดไฟบริเวณที่อยู่หน้าเตา โดยใส่เชื้อเพลิงให้ความร้อนกระจายเข้าสู่เตาเพื่อไล่ความชื้นที่อยู่ในเตาและเนื้อไม้ ในช่วงที่ 1 มีอุณหภูมิประมาณ 20-160 องศาเซลเซียส ควันที่ออกมาจากปล่องควันจะเป็นสีขาวและมีกลิ่นเหม็น ซึ่งเป็นกลิ่นของกรดประเภทเมทานอลที่อยู่ในเนื้อไม้ อุณหภูมิบริเวณปากปล่องควันประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายในเตาประมาณ 160 องศาเซลเซียส เมื่อใส่เชื้อเพลิงต่อไปควันสีขาวตรงปล่องควันจะเพิ่มขึ้น ในช่วงที่ 2 จะมีอุณหภูมิประมาณ 160-270 องศาเซลเซียส และจะเริ่มคลายตัวออกมาจนสลายตัวหมดที่อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส ควันที่ออกมาในช่วงนี้จะมีสีเหลืองจางๆ ปนอยู่บ้าง ควันมีกลิ่นเหม็นจนเพราะจะมีก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ กรดน้ำส้ม และเมทานอลเจือปนออกมากับควันด้วย แต่มีปริมาณต่ำมากๆ ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อะไรได้

ขั้นตอนที่ 2 การเปลี่ยนจากไม้ไฟเป็นถ่านหรือปฏิกิริยาคายความร้อน (Carbonization)

อุณหภูมิประมาณ 270-300 องศาเซลเซียส ช่วงนี้ในเตาสะสมความร้อนไว้มากพอที่จะเกิดปฏิกิริยาคายความร้อนโดยไม่ต้องเติมพื้นหน้าเตาอีก ไม้ไฟจะลุกไหม้และสลายตัวโดยความร้อนที่สะสมไว้ในตัวเอง ในช่วงนี้เซลล์โลสจะเริ่มสลายตัวที่อุณหภูมิประมาณ 275 องศาเซลเซียส การสลายตัวจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ควันที่ออกมาจากปล่องจะมีสีขาวปนเหลืองมีกลิ่นฉุนจัด ผู้ผลิตถ่านในประเทศไทยเรียกควันนี้ว่า “ควันบ้ำ” หลังจากควันบ้ำมีปริมาณน้อยลงและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาแล้ว จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องควบคุมอุณหภูมิไว้ให้คงที่เป็นเวลานานพอสมควรเพื่อให้ขั้นตอนนี้เป็นไปอย่างช้าๆ และสม่ำเสมอ ความร้อนจากไม้ด้านบนหน้าเตาจะค่อยๆ ถ่ายความร้อนไปยังจุดต่างๆ ทุกทั้งเตาอย่างช้าๆ หากปล่อยให้อุณหภูมิขึ้นสูงเร็วเกินไปจะทำให้ไม้ที่สะสมความร้อนไว้มากกว่ากลายเป็นเถ้าเสียก่อน ต้องมีการควบคุมอากาศที่หน้าเตาควบคู่กับการใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ การวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ (thermometer) เพียงอย่างเดียวอาจผิดพลาดได้ โดยเฉพาะเมื่อมีการเติมพื้นไม้ที่หน้าเตามากและเร็วเกินไป ดังนั้นการดูสีควันสามารถทำได้โดยการนำกระบี่งอเคลือบสีขาวมาอังที่ปล่องควันเพื่อดูสีของควัน

ขั้นตอนที่ 3 การทำให้ถ่านบริสุทธิ์ (Refinement หรือ Refining)

ขั้นตอนการเปลี่ยนไม้เป็นถ่านจะเสร็จสิ้นสมบูรณ์แล้วที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส ต้องทำการเพิ่มอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว โดยการเปิดหน้าเตาประมาณ 1 ใน 3 ของหน้าเตาทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เมื่อควันสีน้ำเงินเป็นสีฟ้าแสดงว่าไม้เริ่มเป็นถ่านใกล้เคียงหมดจากนั้นควันสีฟ้าอ่อนลง อาจสังเกตได้จากสีของควันที่เริ่มใส ผู้ควบคุมการผลิตถ่านจะปิดช่องอากาศเข้าแล้ว รอให้ความร้อนถ่ายเทจากด้านบนของเตาลงมาที่พื้นเตา อุณหภูมิที่อยู่ในเตาจะเท่ากันประมาณ 600-700 องศาเซลเซียส จะไม่มีควันเหลืออยู่อีกแล้วจึงเริ่มทำการปิดหน้าเตา โดยใช้ดินเหนียวปิดรอยร้าวและรอยต่อ จากนั้นทำการปิดปล่องควันให้สนิทและอุดรอยร้าวทั้งหมดไม่ให้อากาศภายนอกผ่านเข้าไปได้

ขั้นตอนที่ 4 การทำให้ถ่านในเตาเย็นลง (Cooling)

หลังจากปิดปล่องเตาทุกปล่องแล้วต้องปล่อยให้เย็นจึงจะนำถ่านออกมาใช้ได้ ก่อนที่จะเปิดเตาต้องให้อุณหภูมิในเตาต่ำกว่า 35 องศาเซลเซียส เพราะถ่านไม้ที่อุณหภูมิประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส จะสามารถติดไฟเองได้ถ้าได้รับออกซิเจนจากอากาศ ดังนั้นการเปิดเตาต้องเริ่มเปิดที่ปล่องควันก่อนเพื่อระบายความร้อนและก๊าซที่ค้างอยู่ในเตาระบายให้หมด หลังจากนั้นจึงเปิดหน้าเตาแล้วเกลี่ยดินบนเตาออกให้เห็นหลังเตาเพื่อระบายความร้อนในเตา จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 1 คืน หรือประมาณ 8 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อย เพื่อให้ถ่านดับสนิทแล้วจึงเริ่มการเปิดเตาเพื่อนำถ่านออกจากเตาไปใช้ประโยชน์

การเก็บสะสมน้ำส้มควันไม้ไฟ

น้ำส้มควันไม้ไฟสามารถเก็บได้โดยใช้เครื่องมืออย่างง่าย อาศัยการถ่ายเทความร้อนจากปล่องดักควันที่มีอุณหภูมิสูงสู่อากาศรอบปล่องดักควันที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า ความชื้นในควันก็จะควบแน่นเป็นหยดน้ำ นำมารวบรวมและทำให้บริสุทธิ์ขึ้นก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ จุดสำคัญของการเก็บน้ำส้มควันไม้ไฟก็คือ ต้องให้ปล่องดักควันอยู่ห่างจากปากปล่องควันของเตาผลิตถ่าน 20-30 เซนติเมตร หากทั้งสองส่วนเชื่อมต่อกันโดยตรงจะเท่ากับเป็นการต่อความยาวให้กับปล่องควันของเตา ซึ่งจะมีผลกระทบไปถึงการไหลเวียนของอากาศภายในเตา และส่งผลถึงคุณภาพและผลผลิตของถ่านไม้ไฟด้วย (จิระพงษ์, 2553)

การให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์

น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากการควบแน่นจากกระบวนการผลิตถ่านยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที เนื่องจากการเปลี่ยนเป็นถ่านไม้ได้เกิดขึ้นพร้อมกันทั้งเตา แต่จะเริ่มก่อนที่หน้าเตาด้านบนแล้วแผ่กระจายมายังหลังเตาด้านล่าง ดังนั้นควันที่ออกมาจากปล่องควันจึงเป็นควันที่ผสมกันระหว่างควันอุณหภูมิต่ำและสูง ทำให้น้ำส้มควันไม้ที่ได้มีทั้งสารที่มีประโยชน์และสารที่เป็นโทษ จึงต้องนำมาทำให้บริสุทธิ์ก่อน จิระพงษ์ (2553) ได้กล่าวว่า การให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์สามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. ปลอ่ยให้ตกตะกอน โดยนำน้ำส้มควันไม้มาเก็บในถังทรงสูงที่มีความสูงมากกว่าความกว้างประมาณ 3 เท่า โดยทิ้งให้ตกตะกอนประมาณ 90 วัน น้ำส้มควันไม้ก็จะตกตะกอนแบ่งเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นบนสุดจะเป็นน้ำมันใส ชั้นกลางเป็นของเหลวใสสีน้ำตาลมีกลิ่นควันไฟซึ่งเป็นน้ำส้มควันไม้ และชั้นล่างสุดเป็นของเหลวข้นสีดำซึ่งเป็นน้ำมันดิน

2. การกรอง โดยใช้ผ้ากรองหรือถังกรองที่ใช้ผงถ่านกัมมันต์ ซึ่งจะได้คุณสมบัติแตกต่างกันไป เพราะถ่านกัมมันต์จะลดความเป็นกรดของน้ำส้มควันไม้ และจะใช้วิธีนี้เพื่อนำไปเป็นวัตถุดิบในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เท่านั้น

3. การกลั่น โดยกลั่นได้ทั้งในความดันบรรยากาศปกติและการกลั่นแบบลดความดัน รวมทั้งการกลั่นลำดับส่วนเพื่อแยกเฉพาะสารหนึ่งสารใดในน้ำส้มควันไม้มาใช้ประโยชน์ ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยา อย่างไรก็ตาม ทั้งการกรองและการกลั่นต้องทำหลังจากการตกตะกอนก่อนเท่านั้น

คุณสมบัติของน้ำส้มควันไม้ (จิระพงษ์, 2553)

น้ำส้มควันไม้แตกต่างจากน้ำส้มสายชูหรือน้ำส้มอื่นๆ ที่ได้จากการหมักหรือสารสังเคราะห์อื่นๆ คือ มีสารประกอบต่างๆ หลากหลายกว่า น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากไม้ต่างชนิดก็จะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยทั่วไปน้ำส้มควันไม้มีสารประกอบที่สำคัญได้แก่ น้ำประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ กรดอินทรีย์ 3 เปอร์เซ็นต์ และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ประมาณ 3 และความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.012-1.024 ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของไม้ที่นำมาเผาถ่าน

การใช้ประโยชน์จากน้ำส้มควันไม้

1. ใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่

- ใช้ผลิตสารดับกลิ่นตัว
- ใช้ผลิตอุตสาหกรรมรมควัน
- ใช้ในอุตสาหกรรมย้อมผ้า
- ใช้ผลิตสารป้องกันรักษาเนื้อไม้จากราและแมลง
- ใช้ผลิตสารช่วยย่อย

2. ใช้ในครัวเรือน ได้แก่

- ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ใช้รักษาแผลสด แผลถูกน้ำร้อนลวก รักษาโรคน้ำกัดเท้าและเชื้อราที่ผิวหนัง

- ผสมน้ำ 20 เท่า ใช้ราดทำลายปลวกและมด
- ผสมน้ำ 100 เท่า ใช้ฉีดพ่นถึงขยะเพื่อดับกลิ่นและป้องกันแมลงวัน ใช้ดับกลิ่นในกรงเลี้ยงสัตว์

3. ใช้ในการเกษตร น้ำส้มควันไม้ที่มีความเข้มข้นสูงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อที่รุนแรงเนื่องจากมีความเป็นกรดสูง และมีสารประกอบ เช่น เมทานอล และฟีนอล ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อได้ดี

- ใช้ผสมน้ำ 20 เท่า พ่นลงดิน เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และแมลงในดิน
- ใช้ผสมน้ำ 200 เท่า ฉีดพ่นที่ใบพืช รวมทั้งพื้นดินรอบต้นพืชทุกๆ 7-15 วัน เพื่อขับไล่แมลง ป้องกันและกำจัดเชื้อรา

- ใช้ผสมน้ำ 1,000 เท่า เป็นสารจับใบ ช่วยลดการใช้สารเคมี เนื่องจากสารเคมีสามารถออกฤทธิ์ได้ดีในสารละลายที่เป็นกรดอ่อนๆ

- ใช้ทำปุ๋ยคุณภาพสูง โดยใช้น้ำส้มควันไม้เข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ หมักกับหอยเชอรี่ บด เศษปลา เศษเนื้อหรือกากถั่วเหลือง โดยใช้โปรตีนต่างๆ 1 กิโลกรัมต่อน้ำส้มควันไม้ 2 ลิตร หมักนาน 1 เดือน แล้วกรองกากออก

- ใช้หมักกับสมุนไพร เช่น เมล็ดและใบสะเดา หางไหลแดง ข่าแก่ ตะไคร้หอม เพื่อเพิ่มฤทธิ์ของน้ำส้มควันไม้ในการไล่แมลงและป้องกันโรค

4. การนำน้ำส้มควันไม้ไปใช้ด้านปศุสัตว์

4.1) ใช้ในการลดกลิ่นและป้องกันแมลงในฟาร์มปศุสัตว์

4.2) ใช้ผสมอาหารสัตว์ เพื่อช่วยในการย่อยอาหารและป้องกันโรคท้องเสีย แต่การให้โดยตรงโดยการผสมน้ำจะมีกลิ่นคาวไฟซึ่งสัตว์อาจจะไม่ชอบ ควรนำไปผสมกับผงถ่านก่อน โดยนำน้ำส้มควันไม้ 2 ลิตรผสมกับผงถ่าน 8 กิโลกรัม แล้วนำผงถ่านที่ชุ่มด้วยน้ำส้มควันไม้ไปผสมกับอาหารสัตว์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะมีประโยชน์ ดังนี้

- ช่วยทำให้การย่อยและการใช้ประโยชน์จากอาหารดีขึ้น ทำให้สัตว์โตเร็วกว่าปกติ

- ช่วยยับยั้งการเกิดแก๊ส และดูดซึมโลหะหนักในกระเพาะอาหารทำให้สัตว์สุขภาพดี
- ช่วยป้องกันและรักษาอาการท้องเสีย
- ช่วยปรับปรุงคุณภาพ และลดปริมาณน้ำในเนื้อสัตว์ ทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ดีขึ้นทั้งรสชาติ สี และกลิ่น
- ช่วยยับยั้งการเกิดแก๊สแอมโมเนีย และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ทำให้ลดกลิ่นของมูลสัตว์ ซึ่งช่วยให้สัตว์ไม่เครียด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยคอกที่ได้จากมูลสัตว์ให้ดีขึ้นด้วย

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้น้ำส้มควันไม้ไผ่ในปศุสัตว์

Watarai and Tana (2005) ได้รายงานไว้ว่า กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด ในขณะเดียวกันก็สามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ตามปกติได้ เช่น *Enterococcus faecium* และ *Bifidobacterium thermophilum* นอกจากนี้ Yan et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ และปริมาณจุลินทรีย์ในมูลสุกรพบว่า สูตรอาหารที่เสริมด้วยน้ำส้มควันไม้ไผ่มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว การย่อยได้ของโภชนะมากกว่ากลุ่มอื่นๆ และมีปริมาณของเชื้อ *E. coli* ในมูลลดลง Yamauchi et al. (2010) ได้ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในลำไส้พบว่า การเสริมที่ระดับ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น และมีผลช่วยทำให้พื้นที่การดูดซึมของวิลไลเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ Choi et al. (2009) ได้รายงานว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารมีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตและการย่อยได้ของโภชนะดีขึ้น และสามารถลดจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ให้ลดลงได้

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

การศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟ (Bamboo vinegar, BV) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ไฮเช็ก บราวน์ อายุ 65 สัปดาห์ จำนวน 320 ตัว เลี้ยงในกรงที่ความหนาแน่น 900 ตารางเซนติเมตรต่อตัว ในช่วงอายุ 65-70 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงปรับตัวจะมีการบันทึกผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่ เมื่อไก่ไข่มีอายุ 70 สัปดาห์ ทำการแบ่งไก่ไข่ออกเป็น 4 กลุ่ม (treatment) แต่ละกลุ่มมี 10 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว โดยจัดให้แต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวและผลผลิตไข่ใกล้เคียงกัน ไก่ไข่จะได้รับอาหารทดลองที่ประกอบสูตรตามความต้องการหรือเกินความต้องการของ NRC (1994) (ตารางที่ 1) และเสริมด้วย BV 4 ระดับ คือ 0, 0.2, 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร สำหรับ BV ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าของบริษัท (pH = 2.7) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไฟแสดงในตารางที่ 2 ไก่ทดลองจะได้รับอาหารและน้ำแบบเต็มที และได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 4 ช่วงๆ ละ 4 สัปดาห์

การวัดสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

การชั่งน้ำหนักตัวทำเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (อายุไก่ 70 สัปดาห์) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไก่ 86 สัปดาห์) เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง สำหรับการทดสอบสมรรถภาพการผลิตจะทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยมีการบันทึกผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราไข่ที่แตกเสียหาย ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไข่ที่เก็บได้ในแต่ละวันจะนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักไข่เฉลี่ย จากนั้นนำมาแยกประเภทว่าเป็นไข่ปกติหรือไข่ที่เสียหาย โดยไข่ที่เสียหายประกอบด้วยไข่แตก ไข่ร้าว และไข่ที่ไม่มีเปลือก สำหรับค่ามวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้อาหารจะคำนวณจากสูตร ดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned}\text{มวลไข่} &= \text{น้ำหนักไข่} \times \text{ผลผลิตไข่} \\ \text{ประสิทธิภาพการใช้อาหาร} &= \text{มวลไข่} / \text{ปริมาณอาหารที่กิน}\end{aligned}$$

สำหรับการตรวจสอบคุณภาพไข่จะกระทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตรวจสอบน้ำหนักฟองไข่ ความแข็งแรงของเปลือกไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit โดยไข่ที่จะนำมาตรวจสอบคุณภาพเป็นไข่ที่เก็บในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง (อายุไก่ไข่ 74, 78, 82 และ 86 สัปดาห์) น้ำหนักของไข่ทำการชั่งด้วย

เครื่องชั่งดิจิตอล ความแข็งแรงของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเครื่องทดสอบความแข็งแรงของเปลือกไข่ (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan) น้ำหนักเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักไข่แดงทำการวัดด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล เปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่คำนวณจากน้ำหนักเปลือกไข่หารด้วยน้ำหนักไข่และคูณด้วยหนึ่งร้อย ความหนาของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเวอร์เนียไมโครมิเตอร์ โดยทำการวัด 3 จุด คือ ด้านป้าน ตรงกลาง ด้านแหลม และนำมาหาค่าเฉลี่ย สำหรับสีของไข่แดง และค่า Haugh unit ทำการวัดด้วยเครื่องวัดคุณภาพไข่อัตโนมัติ (Digital egg tester, DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan)

การเก็บตัวอย่างลำไส้และการวัดการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไก่ 86 สัปดาห์) ทำการฆ่าไก่และเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กทั้งส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย เพื่อนำไปทำการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก โดยเก็บชิ้นละ 1 ตัว โดยลำไส้เล็กในแต่ละส่วนถูกเก็บในสารละลาย 10% neutral-buffered formalin เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70, 80, 90, 95, 99 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง และนำไปหล่อในพาราฟินเพื่อเตรียมสำหรับการตัด เมื่อตัวอย่างลำไส้ในพาราฟินแข็งดีแล้วจึงทำการตัดด้วยไมโครโทมให้มีความหนา 4 ไมโครเมตร และวางบนสไลด์ หลังจากนั้นทำการย้อมสีด้วยสี haematoxylin และ eosin และนำไปวัดค่าความสูงและความกว้างของวิลไลด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ติดตั้งร่วมกับกล้องดิจิตอลและคอมพิวเตอร์ (Olympus DP73 camera, Olympus Corporation, Tokyo, Japan)

การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย

การเก็บตัวอย่างอาหารที่ย่อยในลำไส้ (fresh digesta) ของลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) จะทำการเก็บทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างลำไส้แล้ว โดยทำการเก็บชิ้นละ 1 ตัว (กลุ่มละ 10 ตัว) จากนั้นนำตัวอย่างในแต่ละชิ้นจำนวน 1 กรัมมาใส่หลอดทดลอง และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงให้เป็นเนื้อเดียวกัน 30 วินาที และเจือจางตั้งแต่ 10^{-2} - 10^{-6} จากนั้นนำตัวอย่างไปลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็น 3 ชนิด คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* spp. อาหารเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* และอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. ทำการเกลี่ยตัวอย่างที่ใส่ลงไปให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ การบ่มเชื้อ *Lactobacillus* spp. ใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ สมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ คุณภาพไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลโลในลำไส้ และปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) นอกจากนั้นผลของระดับน้ำส้มควันไม้ผงที่ใช้จะนำมาวิเคราะห์โดยใช้ orthogonal polynomial contrast โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ผลการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน จากค่าเฉลี่ย ค่า $P < 0.05$ จะถูกพิจารณาว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า $P < 0.1$ จะถูกพิจารณาว่ามีแนวโน้ม

สถานที่ทำการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการที่ฟาร์มปฏิบัติการ และศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 1. สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.63
Soybean meal	24.35
Rice bran	5.35
Fish meal	3.00
Oyster shell	8.44
Dicalcium phosphate	1.57
Plant oil	2.86
DL-Methionine	0.20
Salt	0.30
Premix*	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.50
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	5.90
Calcium	4.00
Available phosphorus	0.40
Lysine	0.93
Methionine	0.50

* Premix: 2.0 MIU vitamin A, 0.32 MIU vitamin D₃, 2,000 mg vitamin E, 330 mg vitamin K₃, 220 mg vit B₁, 450 mg vitamin B₂, 4.5 mg vitamin B₁₂, 600 mg niacin, 100 mg copper, 150 mg iodine, 130 mg cobalt, 10 g iron, 8.8 g manganese, 8.8 g zinc, 25 g preservative, up to 1 kg filter.

ตารางที่ 2. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไฟ

Compound	Relative concentration (%)
Organic acid	
Acetic acid	60.29
Propanoic acid	6.75
2-Propenoic acid	0.08
Butanoic acid	0.07
2-Thiophenecarboxylic acid	0.07
Guanidine	0.07
2-Hydroxy-4-oxohexanoic acid	0.04
Total organic acid	67.37
Alcohols	
Benzene methanol	1.07
Ethanol 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)	0.30
1,2-Diphenylethan-1-ol	0.23
Benzaldehyde	0.18
Benzene 1-Acetyl-2-(tert-butoxycarboxyloxy)	0.10
1,4-Ehtanonaphthalene	0.09
Methanol	0.08
Benzene amine	0.07
Benzene ethanol	0.04
Total alcohols	2.16
Phenol derivatives	
Phenol	4.18
Phenol, 2,6-dimethoxy	3.53
Phenol, 2-methoxy	1.76
Total phenol derivatives	9.47

ตารางที่ 2. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไฟ (ต่อ)

Methoxy phenol derivatives

P-ethyl-phenol	1.36
4 - methyl-syringol	0.71
2-methoxy-4-methyl-phenol	0.49
M-Cresol	0.33
N1-Methyluracil	0.22
2-Methylaminophenol	0.07
Total methoxy phenol derivatives	3.18

Aldehyde and ketone

2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl	1.65
2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl	1.17
2-Propanone, 1-hydroxy	0.62
Acetoin	0.35
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl	0.26
1-Hydroxybutan-2-one	0.25
2-Hydroxy-3,5-Dimethyl-2-Cyclopenten1-one	0.21
1,3-Dimethyl-tetraadeuteriobenzene	0.03
Total aldehyde and ketone	4.54

Heterocyclic aromatic compound

Pyridine	1.30
3-methoxy-pyridine	0.92
2-methyl-pyridine	0.22
4-Pyridinol	0.15
Total heterocyclic aromatic compound	2.59

Furans

Furan,3-methyl	0.19
2-(2,3-epoxypropyl)-tetrahydrofuran	0.10

ตารางที่ 2. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไฟ (ต่อ)

5-Methyldihydro-2(3H)-Furanone	0.10
2(3H)-Furanone, dihydro	2.14
2-methyl-2,3-dihydro-furan-3-one	0.05
3-Furancarboxaldehyde,4,5-dihydro	0.10
1-(Furan-2-yl)propan-1-ol	0.09
2(3H)-Furanone, dihydro-4-methyl	0.10
4-Propyl-2,3-dihydrofuran	0.03
2(5H)-Furanone,3,4-diethyl	0.08
1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	0.26
2,4-dihydro-pyran-3-one	0.11
2-Acetyl-2-methyltetrahydrofuran	0.07
Total furan	3.42
Other compound	
Guaiacol, 4-ethyl	0.35
Anhydro-sugar	0.49
diethyl [3-(5,5,9,9-tetramethyl-1-oxo-3-thioxo2-azaspiro[3,5]nonan-2-yl)propyl]phosphonate	0.12
Methane	0.14

บทที่ 4

ผลการทดลอง

สมรรถภาพการผลิต

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่เลี้ยงด้วย BV ที่ระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 3 การเสริม BV ในอาหารที่ระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ไข่ ($P>0.10$) การเสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้อัตราไข่ที่แตกเสียหายในช่วงสุดท้ายของการให้ผลผลิต (อายุไก่ 79-86 สัปดาห์) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และการเสริม BV ในอาหารทุกระดับมีแนวโน้มทำให้อัตราไข่ที่แตกเสียหายตลอดการทดลองลดลง (linear; $P<0.10$)

คุณภาพไข่

ผลการเสริม BV ที่ระดับต่างๆ ต่อคุณภาพไข่ไก่แสดงในตารางที่ 4 การเสริม BV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักฟองไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit ($P>0.10$) การเสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทำให้น้ำหนักเปลือกไข่ และเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่เพิ่มขึ้นที่อายุ 86 สัปดาห์ (linear; $P<0.10$) และมีผลทำให้ความหนาของเปลือกไข่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 82 ($P<0.05$) และ 86 สัปดาห์ (linear; $P = 0.037$) ความแข็งแรงของเปลือกไข่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P<0.10$) ในกลุ่มที่เสริม BV ที่อายุ 82 สัปดาห์ และเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง ($P = 0.014$) ในกลุ่มที่เสริม BV ที่อายุ 86 สัปดาห์

จำนวนของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

จำนวนของ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Lactobacillus* spp. ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) แสดงในตารางที่ 5 การเสริม BV ในอาหารที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับจำนวนของ *Lactobacillus* spp. มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (linear; $P<0.10$) ในกลุ่มที่เสริมน้ำส้มควันไม้

การเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก

การเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็กแสดงในตารางที่ 6 การเสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$ และ $P<0.05$ ตามลำดับ) ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P<0.10$) ในกลุ่มที่เสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ($P>0.10$)

ตารางที่ 3. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Initial body weight (g)	1694.80	1699.25	1676.50	1698.60	22.72	0.980	0.996	0.803
Final body weight (g)	1908.50	1902.75	1914.50	1932.00	25.90	0.983	0.715	0.891
Body weight change (g)	213.70	203.50	238.00	233.40	27.27	0.969	0.731	0.938
Egg production (%)								
71-74 week	81.78	80.24	81.78	81.60	1.37	0.976	0.929	0.882
75-78 week	78.22	78.12	78.62	80.54	0.96	0.804	0.362	0.719
79-82 week	80.00	79.35	81.78	78.75	1.80	0.946	0.866	0.702
83-86 week	77.85	75.77	79.10	77.85	2.14	0.962	0.880	0.976
71-86 week	79.46	78.37	80.32	79.68	1.28	0.965	0.867	0.957
Egg weight (g)								
71-74 week	62.85	62.20	62.80	62.04	0.37	0.841	0.561	0.911
75-78 week	62.38	62.24	62.56	62.48	0.28	0.981	0.826	0.957
79-82 week	63.88	62.86	63.51	63.25	0.39	0.898	0.860	0.803
83-86 week	63.21	62.52	63.07	63.03	0.35	0.913	0.972	0.743
71-86 week	63.08	62.45	62.98	62.70	0.30	0.901	0.856	0.895
Egg mass (g/hen/day)								
71-74 week	51.39	49.91	51.36	50.62	0.84	0.931	0.963	0.970
75-78 week	48.79	48.62	49.18	50.32	0.67	0.815	0.367	0.785
79-82 week	51.10	49.88	51.94	49.81	1.18	0.873	0.813	0.622
83-86 week	49.21	47.37	49.88	49.07	1.36	0.923	0.909	0.933
71-86 week	50.12	48.94	50.59	49.95	0.77	0.904	0.868	0.946
Damaged egg rate (%)								
71-74 week	1.68	1.36	1.15	1.13	0.31	0.927	0.564	0.733
75-78 week	2.85	1.91	2.01	1.82	0.39	0.784	0.445	0.590
79-82 week	3.02 ^a	2.79 ^a	1.79 ^b	1.41 ^b	0.23	0.032	0.005	0.614
83-86 week	3.15 ^a	3.10 ^a	1.43 ^b	1.47 ^b	0.29	0.034	0.013	0.412
71-86 week	2.67	2.29	1.60	1.46	0.23	0.276	0.072	0.523

ตารางที่ 3. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ผงในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ (ต่อ)

Feed intake (g/d)								
71-74 week	103.85	104.58	105.70	103.64	0.41	0.300	0.818	0.275
75-78 week	103.20	103.41	103.84	104.08	0.20	0.418	0.107	0.761
79-82 week	106.36	105.65	105.56	105.91	0.37	0.890	0.771	0.479
83-86 week	107.08	105.64	106.58	106.77	0.36	0.565	0.906	0.381
71-86 week	105.12	104.82	105.42	105.10	0.25	0.884	0.870	0.845
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)								
71-74 week	0.495	0.477	0.486	0.488	0.007	0.924	0.912	0.688
75-78 week	0.472	0.470	0.474	0.483	0.006	0.909	0.513	0.768
79-82 week	0.480	0.472	0.492	0.470	0.011	0.831	0.847	0.527
83-86 week	0.460	0.448	0.468	0.459	0.012	0.949	0.562	0.569
71-86 week	0.476	0.467	0.480	0.475	0.007	0.918	0.879	0.932

^{a,b} Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.

ตารางที่ 4. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อคุณภาพไข่ที่อายุ 74, 78, 82 และ 86 สัปดาห์

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Egg weight (g)								
74 week	62.26	62.17	62.36	62.24	0.31	0.990	0.980	0.947
78 week	62.67	62.74	62.84	62.47	0.40	0.991	0.855	0.802
82 week	63.52	63.07	63.05	63.40	0.48	0.983	0.987	0.697
86 week	62.52	62.64	62.35	62.86	0.37	0.973	0.786	0.792
Eggshell weight (g)								
74 week	6.73	6.84	6.83	6.79	0.05	0.854	0.791	0.440
78 week	7.01	7.00	6.97	7.04	0.08	0.993	0.898	0.810
82 week	7.13	7.05	7.30	7.32	0.07	0.545	0.254	0.963
86 week	6.92	6.91	7.17	7.20	0.06	0.215	0.066	0.720
Eggshell percent (%)								
74 week	10.80	11.01	10.96	10.91	0.06	0.692	0.713	0.325
78 week	11.16	11.15	11.10	11.27	0.11	0.952	0.712	0.683
82 week	11.21	11.17	11.59	11.56	0.10	0.337	0.148	0.652
86 week	11.08	11.02	11.49	11.45	0.09	0.152	0.071	0.587
Eggshell thickness (mm)								
74 week	0.387	0.386	0.392	0.388	0.003	0.873	0.726	0.647
78 week	0.372	0.386	0.376	0.388	0.004	0.482	0.301	0.985
82 week	0.365 ^b	0.370 ^{ab}	0.386 ^a	0.390 ^a	0.003	0.040	0.008	0.473
86 week	0.366	0.375	0.377	0.386	0.003	0.199	0.037	0.815
Eggshell strength (kg/cm ²)								
74 week	4.43	4.30	4.63	4.47	0.08	0.613	0.660	0.691
78 week	4.37	4.22	4.31	4.45	0.14	0.950	0.750	0.680
82 week	3.83	3.88	4.23	4.54	0.15	0.323	0.072	0.968
86 week	3.81	3.91	4.01	4.29	0.07	0.100	0.014	0.845

ตารางที่ 4. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อคุณภาพไข่ที่อายุ 74, 78, 82 และ 86 สัปดาห์ (ต่อ)

Albumen weight (g)								
74 week	39.75	39.83	39.59	39.74	0.27	0.991	0.940	0.901
78 week	39.35	39.24	39.58	39.19	0.36	0.984	0.923	0.810
82 week	40.53	40.55	39.43	39.98	0.39	0.717	0.525	0.553
86 week	39.38	39.55	38.94	39.43	0.31	0.912	0.947	0.698
Yolk weight (g)								
74 week	15.78	15.50	15.94	15.71	0.12	0.661	0.901	0.870
78 week	16.31	16.50	16.29	16.24	0.21	0.978	0.818	0.864
82 week	15.86	15.47	16.32	16.10	0.18	0.437	0.402	0.846
86 week	16.22	16.18	16.24	16.23	0.14	0.990	0.948	0.989
Yolk color score								
74 week	8.18	8.03	8.06	8.13	0.08	0.927	0.954	0.547
78 week	8.45	8.53	8.63	8.42	0.18	0.722	0.844	0.282
82 week	8.20	8.27	8.26	8.14	0.07	0.917	0.693	0.564
86 week	8.06	8.16	8.06	8.18	0.06	0.868	0.617	0.903
Haugh unit								
74 week	87.29	87.02	87.49	86.65	0.50	0.946	0.701	0.775
78 week	85.63	84.16	84.61	85.77	0.52	0.663	0.717	0.276
82 week	86.60	85.75	85.86	86.87	0.51	0.850	0.739	0.426
86 week	84.69	84.56	84.63	84.88	0.56	0.998	0.883	0.893

^{a,b} Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.

ตารางที่ 5. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
<i>Escherichia coli</i>	4.23 ^a	4.22 ^{ab}	4.21 ^b	4.20 ^b	0.004	0.039	0.011	0.200
<i>Salmonella</i> spp.	3.86 ^a	3.84 ^a	3.81 ^b	3.80 ^b	0.006	0.001	0.001	0.060
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.14	4.15	4.16	4.16	0.003	0.239	0.065	0.391

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05).

Values are means of 10 replicates.

ตารางที่ 6. ผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Villus height (mm)								
Duodenum	1.38 ^b	1.37 ^b	1.44 ^a	1.42 ^a	0.007	0.001	0.008	0.123
Jejunum	0.86	0.87	0.90	0.89	0.005	0.189	0.160	0.208
Ileum	0.46	0.45	0.47	0.46	0.004	0.466	0.649	0.709
Villus area (mm ²)								
Duodenum	0.117 ^b	0.120 ^{ab}	0.125 ^a	0.123 ^a	0.001	0.043	0.024	0.116
Jejunum	0.074	0.074	0.078	0.077	0.001	0.052	0.054	0.290
Ileum	0.032	0.031	0.034	0.033	0.001	0.563	0.559	0.656

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05). Values are means of 10 replicates.

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

งานทดลองเมื่อเร็วๆ นี้ได้พบว่า การเสริมสารเพิ่มความเป็นกรด (กรดซัลฟิวริกผสมกับน้ำส้มคว้นไม้ไผ่) ในอาหารที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผลผลิตไข่และมวลไข่ของไก่ไข่ในช่วงแรกของการให้ผลผลิต (อายุไก่ 25-41 สัปดาห์) เพิ่มขึ้น โดยผลผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากผลดีของกรดซัลฟิวริกและน้ำส้มคว้นไม้ไผ่ในการช่วยปรับปรุงสิ่งแวดล้อมในลำไส้และการกระตุ้นการทำหน้าที่ของลำไส้ (Rattanawut et al., 2018) ในการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าผลผลิตไข่จะไม่ได้เพิ่มขึ้น แต่อัตราไข่ที่แตกเสียหายในช่วงสุดท้ายของการทดลอง (อายุไก่ 79-86 สัปดาห์) ลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่มที่เสริมด้วย BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ และการเสริม BV มีแนวโน้ม ($P = 0.072$) ทำให้อัตราไข่ที่แตกเสียหายตลอดการทดลอง (70-86 สัปดาห์) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม การลดลงของไข่ที่แตกเสียหายเมื่อเสริม BV ในงานทดลองครั้งนี้อาจเป็นผลโดยตรงจากคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีขึ้น ซึ่งประกอบด้วยความหนาเปลือกไข่และความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งความหนาและความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่อายุ 82 และ 86 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ผลของการทดลองนี้เป็นไปในทางเดียวกันกับงานทดลองของ Sengor et al. (2007) ที่รายงานว่า การเสริมสารเพิ่มความเป็นกรด (short-chain fatty acids) ในอาหารไก่พ่อแม่พันธุ์ที่มีอายุมากมีผลทำให้ความแข็งแรงของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น และมีการแตกเสียหายของไข่ลดลง Soltan (2008) ก็ได้รายงานเช่นกันว่า การเสริมกรดอินทรีย์รวม (formic acid, propionic acid, lactic acid) ในอาหารที่ระดับ 780 พีพีเอ็ม ในไก่ไข่อายุ 70 สัปดาห์ มีผลทำให้ความหนาเปลือกไข่เพิ่มขึ้น และลดจำนวนของไข่ที่แตกเสียหาย ซึ่งผู้ทดลองได้อธิบายว่า การเพิ่มคุณภาพเปลือกไข่ที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมในเลือด ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากผลดีของกรดอินทรีย์ในการเพิ่มการละลายและการดูดซึมของแคลเซียม Abdel-Fattah et al. (2008) ได้รายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์มีผลทำให้ความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลง และมีผลทำให้การดูดซึมของแร่ธาตุหลักเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นการเสริมสารเพิ่มความเป็นกรดยังมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารลดลง ซึ่งเป็นการช่วยกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงซิโนเจนไปเป็นเปปซิน ที่ซึ่งทำให้การดูดซึมของโปรตีนและแร่ธาตุเพิ่มขึ้น (Omogbenigun et al., 2003; Swiatkiewicz et al., 2010) ดังนั้น ผลดีของการเสริม BV ต่อคุณภาพเปลือกไข่ในการศึกษาครั้งนี้ อาจจะเกี่ยวข้องกับการดูดซึมและการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุที่เพิ่มขึ้น

ในการทำหน้าที่ของลำไส้ที่เหมาะสมจะมีแบคทีเรียที่มีประโยชน์ช่วยดำรงรักษาสังแวดล้อมในลำไส้ให้อยู่ในสภาพที่สมดุล ซึ่งนอกจากจะเป็นตัวควบคุมแบคทีเรียที่ก่อโรคแล้ว ยังมีผลช่วยเพิ่มการดูดซึมโภชนะ และช่วยส่งเสริมสุขภาพของสัตว์ เมื่อไก่ไข่มีอายุมากขึ้นจะมีความไวในการเปลี่ยนแปลงของสมดุลในลำไส้ ซึ่งมีผลทำให้แบคทีเรียที่ก่อโรคเพิ่มจำนวนและทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อของลำไส้ ดังนั้นการเสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ก็อาจจะช่วยรักษาความสมดุลของลำไส้

โดยการลดแบคทีเรียก่อโรค และอาจจะช่วยเพิ่มการดูดซึมและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการ กรดอะซิติกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหลักที่พบในน้ำส้มควันไม้ไฟ (ตารางที่ 2) กรดอะซิติกช่วยควบคุมสมดุลของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรค (Sorrells and Speck, 1970) และมีผลต่อเมแทบอลิซึมและการทำหน้าที่ของลำไส้ (Lutz and Scharrer, 1991) งานวิจัยของ Watarai and Tana (2005) ได้รายงานว่าน้ำส้มควันไม้มีผลช่วยยับยั้งการเจริญของ *Salmonella enteritidis* ในขณะเดียวกันก็ช่วยเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ตามปกติ (*Enterococcus faecium* และ *Bifidobacterium thermophilum*)

ในไก่ไข่ที่มีอายุมาก เนื้อเยื่อชั้นในของลำไส้จะมีความอ่อนแอ และจะมีวิลไลของลำไส้ที่สั้น ซึ่งมีผลกระทบต่อ การดูดซึมโภชนาการต่าง ๆ ทำให้มีผลต่อคุณภาพเปลือกไข่เช่นเดียวกัน ในการศึกษาครั้งนี้ ความสูงของวิลไลและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ของไก่ไข่เพิ่มขึ้นหลังจากการเสริม BV ที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ผิวการดูดซึมของวิลไลที่เพิ่มขึ้นมีผลช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโภชนาการและอาจจะเป็นการเพิ่มการดูดซึมของแร่ธาตุและโภชนาการอื่นๆ ด้วยเช่นกัน Garcia et al. (2007) ก็ได้รายงานไว้เช่นกันว่า การเสริมกรดอินทรีย์สายสั้นมีผลช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวผนังลำไส้และเพิ่มความสูงของวิลไล ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการดูดซึมเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Gilmore and Ferretti (2003) ได้พบว่า แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้สามารถช่วยกระตุ้นการพัฒนาของวิลไลในลำไส้ และมีผลต่อความสูงของวิลไลในลำไส้ ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริม BV ในอาหารที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลช่วยลดการเจริญของ *E. coli* และ *salmonella* spp. ในลำไส้เล็กส่วนปลาย ในขณะที่การเจริญของ *Lactobacillus* spp. มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากการเสริม BV ในอาหาร การลดลงของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้เล็กส่วนปลายอาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ของกรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไฟที่ทำให้สภาวะของลำไส้อยู่ในสภาพความเป็นกรดมากขึ้น ผลจากการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับ Brzoska et al. (2007) ที่รายงานว่าการเสริมสารเพิ่มความเป็นกรดในอาหาร (กรดฟอสฟอริก) ช่วยเพิ่มปริมาณของ *Streptococcus* และ *Lactobacillus* ในลำไส้เล็กส่วนปลาย นอกจากนั้น Entani et al. (1998) ก็ได้รายงานว่าการเติมกรดอะซิติกที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ทั้งหมด 17 ชนิด (species) ดังนั้น จากข้อมูลการศึกษาจึงพบว่าน้ำส้มควันไม้ไฟช่วยลดแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ แต่ไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ สิ่งเหล่านี้มีผลทำให้สภาพแวดล้อมในลำไส้อยู่ในสภาวะที่สมดุล และมีผลต่อความสมบูรณ์ของลำไส้ ทำให้สามารถดูดซึมโภชนาการต่าง ๆ ได้ดีขึ้น ดังนั้น คุณภาพเปลือกไข่ที่เพิ่มขึ้นในการทดลองครั้งนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ เช่น การลดลงของความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ การกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และการเพิ่มการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริม BV ในอาหารที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลช่วยกระตุ้นการทำงานของลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าโภชนาการส่วนใหญ่มีการดูดซึมในส่วนบนของลำไส้เล็ก

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากข้อมูลการทดลองสรุปได้ว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ใผ่ในอาหารที่ระดับ 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น มีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง และส่งผลทำให้คุณภาพเปลือกไข่ดีขึ้น ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ใผ่ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการลดการแตกเสียหายของไข่ไก่ในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต

เอกสารอ้างอิง

- จิระพงษ์ คูหากาญจน์. 2553. การผลิตถ่านและน้ำส้มควันไม้. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์เกษตรกรรม
ธรรมชาติ. กรุงเทพฯ.
- วินัย ปัญญาธัญญะ จิระพงษ์ คูหากาญจน์ และมยุรี จิตต์แก้ว. 2547. เทคนิคการผลิตถ่านไม้ไผ่. พิมพ์
ครั้งที่ 1. หจก. อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ.
- Abdel-Fattah S.A., M.H. El-Sanhoury, N.M. El-Mednay and F. Abdel-Azeem. 2008. Thyroid
activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks
fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7: 215-222.
- Akakabe Y., Y. Tamura, S. Iwamoto, M. Takabayashi and T. Nyuugaku. 2006. Volatile organic
compounds with characteristic odor in bamboo vinegar. *Bioscience, Biotechnology, and
Biochemistry*, 70: 2797-2799.
- Boling S.D., D.M. Webel, I. Mavromichalis, C.M. Parsons and D.H. Baker. 2000. The effects
of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of
Animal Science*, 78: 682-689.
- Brzoska F., S. Buluchevskij, K. Steckka and B. Sliwinski. 2007. The effects of lactic acid
bacteria and mannan oligosaccharide, with or without fumaric acid, on chicken
performance, slaughter yield and digestive tract microflora. *Journal of Animal and Feed
Science*, 16: 241-251.
- Choi J.Y., P.L. Shinde, I.K. Kwon, Y.H. Song and B.J. Chae. 2009. Effect of wood vinegar on
the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. *Asian-
Australasian Journal of Animal Science*, 22: 267-274.
- Entani E., M. Asai, S. Tsujihata, Y. Tsukamoto and M. Ohta. 1998. Antibacterial action of
vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* 0157:H7.
Journal of Food Protection, 61: 953-959.
- Garcia V., P. Catala-Gregori, F. Hernandez, M.D. Megias and J. Madrid. 2007. Effect of formic
acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology,
and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
- Gilmore M.S. and J.J. Ferretti. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen.
Science, 299: 1999-2002.
- Kishi M., M. Fukaya, Y. Tsukamoto, T. Nagasawa, K. Takehana and N. Nishizawa. 1999.

- Enhancing effect of dietary vinegar on the intestinal absorption of calcium in ovariectomized rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63: 905-910.
- Lambert G.P. 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *Journal of Animal Science*, 87: E101-E108.
- Liem A., G.M. Pesti and H.M. Edwards. 2008. The effect of several organic acids on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chicks. *Poultry Science*, 87: 689-693.
- Lutz T. and E. Scharrer. 1991. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. *Experimental Physiology*, 76: 615-618.
- Mroz Z., A.W. Jongbloed, K.H. Partanen, K. Vreman, P.A. Kemme and J. Kogut. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *Journal of Animal Science*, 78: 2622-2632.
- NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Omogbenigun F.O., C.M. Nyachoti and B.A. Slominski. 2003. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 81: 1806-1813.
- Park J.H., G.H. Park and K.S. Ryu. 2002. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on performance and egg quality of laying hens. *Korean Journal of Poultry Science*, 29: 109-115.
- Rattanawut J., A. Todsadee and K. Yamauchi. 2018. Effect of dietary supplementation of silicic acid powder containing bamboo vinegar on production performance, egg quality, intestinal microflora, and morphology of laying hens. *Canadian Journal of Animal Science*, 98: 119-125.
- Sengor E., M. Yardimci, S. Cetingul, I. Bayram, H. Sahin and I. Dogan. 2007. Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. *South African Journal of Animal Science*, 37: 158-163.
- Skrivan M., M. Marounek, I. Bubancova and M. Podsednicek. 2010. Influence of limestone particle size on performance and egg quality in laying hens aged 24-36 weeks and 56-68 weeks. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 110-114.
- Soltan M.A. 2008. Effect of organic acid supplementation on egg production, egg quality, and

- some blood serum parameters in laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 7: 613-621.
- Sorrells K.M. and M.L. Speck. 1970. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. *Journal of Dairy Science*, 53: 239-241.
- Swiatkiewicz S., J. Koreleski and A. Arczewska. 2010. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech Journal of Animal Science*, 55: 294-306.
- Velmurugan N., S.S. Chun, S.S. Han and Y.S. Lee. 2009. Characterization of chikusaku-eki and mokusaku-eki and its inhibitory effect on sapstaining fungal growth in laboratory scale. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 6: 13-22.
- Watarai S. and Tana. 2005. Eliminating the carriage of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in domestic fowls by feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-rich). *Poultry Science*, 84: 515-521.
- Yamauchi K., J. Ruttanavut and S. Takenoyama. 2010. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on chicken performance and histological alterations of intestine. *Journal of Animal and Feed Science*, 19: 257-268.
- Yan L., I.H. Kim and K. Huh. 2012. Influence of bamboo vinegar supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility, blood characteristics, meat quality, fecal noxious gas content, and fecal microbial concentration in finishing pigs. *Livestock Science*, 144: 240-246.
- Yesilbag D. and I. Colpan. 2006. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Revue de Medicine Veterinaire*, 157: 280-284.

ภาคผนวก
Manuscript ที่ส่งไปตีพิมพ์

Effects of dietary bamboo vinegar supplementation on performance, eggshell quality, ileal microflora composition, and intestinal villus morphology of laying hens in the late phase of production

Jessada RATTANAWUT¹, Opart PIMPA¹ and Koh-en YAMAUCHI²

¹*Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani, Thailand*

²*Laboratory of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki-cho, Kagawa-ken, Japan*

Running title: CHICKENS FED BAMBOO VINEGAR

Correspondence: Jessada Rattanawut, Faculty of Science and Industrial Technology,
Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand.
(E-mail: jassada.r@psu.ac.th)

ABSTRACT

This study investigated the effects of bamboo vinegar (BV) supplementation on performance, eggshell quality, ileal microflora and villus morphology in aged laying hens. A total of 320 hens (70 weeks old) were divided into four dietary treatments with ten replicates of eight hens each. They were fed a basal diet supplemented with BV at 0, 0.2, 0.4 or 0.8% level until 86 weeks of age. The level of BV in the diet had no effect on egg performance, feed intake or feed efficiency ($p > 0.10$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets during 79-86 weeks of age ($p < 0.05$). Eggshell thickness and eggshell strength were higher in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets at weeks 82 and 86 compared to the controls. In the ileal content, population of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. decreased with 0.4 and 0.8% BV ($p < 0.05$). Villus height and areas of duodenum were higher in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets ($p < 0.05$). The results indicate that a level of 0.4% BV in a layer's diet is sufficient for reducing pathogenic bacteria, stimulating intestinal functions and improving eggshell quality of laying hens in the late phase of production.

Key words: aged hen, bamboo vinegar, intestine, villus

INTRODUCTION

In commercial egg-laying hen production, the hens have usually been removed from the production system at approximately 72 weeks of age. However, currently there is a trend to keep the hens even longer until 90 weeks of age. As the hen ages, the thickness of the shell usually declines, due to an increase in egg size without matching increase in the amount of calcium carbonate deposited in the shells. Also, the ability to absorb calcium (Ca) from the intestine diminishes in aged hens. For these reasons, the incidence of cracked eggs could increase in late laying period. Most of the studies on nutrition effects on eggshell quality in laying hens have focused on dietary Ca manipulation as the primary means to improve eggshell quality. Supplying the hen with an optimal Ca intake is most crucial to ensure the proper calcification of eggshells, but increasing the Ca level in the diet beyond 3.6–3.9% usually has no beneficial effects on eggshell quality (Swiatkiewicz *et al.* 2015). In addition, an excess of dietary Ca exerts a negative effect on feed consumption, leading to deficiencies of other nutrients (Sengor *et al.* 2007). Recently, Jiang *et al.* (2013) reported that laying hens fed diets with high Ca concentrations (4.4%) had decreased shell thickness in comparison to the control group (3.7% Ca). Therefore, increasing Ca level in the diet to improve eggshell quality might not be a practical solution, but enhancing Ca availability and absorption in the gut would be a practical alternative. The results of some studies have indicated that acidifiers may improve the utilization of minerals in the gut of monogastric animals (Lutz & Scharer 1991; Boling *et al.* 2000; Mroz *et al.* 2000; Liem *et al.* 2008). One factor connected with the mechanisms of this is the reduction of intestinal pH, which increases the activity of digestive enzymes and the solubility of minerals (Swiatkiewicz *et al.* 2015). Some experiments with laying hens have demonstrated that acidifiers can

have a positive effect on laying performance and eggshell quality (Park *et al.* 2002; Yesilbag & Colpan 2006; Soltan 2008). Bamboo vinegar (BV) is a brown-red transparent liquid produced during the pyrolysis of bamboo charcoal, and it contains more than 200 chemical components, such as acetic acid, phenolic compounds, alkane compounds, alcohol compounds and aldehyde compounds, among which acetic acid as the main component (Wang *et al.* 2018). The acid in wood vinegar enhances the growth of *Bifidobacterium* and *Enterococcus* but inhibits the growth of *Salmonella* species (Watarai & Tana 2005). In addition, dietary vinegar enhances intestinal Ca absorption in rats by improving Ca solubility and by the trophic effect of acetic acid in the vinegar (Kishi *et al.* 1999). We hypothesized that dietary supplementation of BV would be effective in increasing the availability of Ca and other minerals, and may improve eggshell quality of aged laying hen. In this study, the effects of BV treatment on production performance, eggshell quality, ileal microflora composition, and intestinal villus morphology were examined in late-phase laying hens.

MATERIALS AND METHODS

Birds and management

The current experiment was approved by the Animal Ethics Committee of Prince of Songkla University, based on the Ethics of Animal Experimentation of the National Research Council of Thailand. A total of 320 Hisex Brown hens, 65-week-old, obtained from a local commercial flock, were placed in layered wire-floored cages at a density of 900 cm² per bird in an environmentally controlled room under a photoperiod of 16 h of light. During the pre-experimental period (65 to 70 weeks of age), the hens were fed *ad*

libitum with a conventional layer mash diet, and the daily egg production and the egg weights were recorded. At 70-week-old, the hens were randomly divided into four dietary treatments with 10 replicates and 8 birds in each replicate. The replicates had initially similar mean body weights and egg production levels. The basal diet (Table 1) was in mash form and was formulated to meet or exceed the NRC (1994) requirements for laying hens. The control group was fed a basal diet, and the other groups were fed the basal diet supplemented with BV at 0.2, 0.4 or 0.8%. Commercial BV (pH = 2.7) was purchased from a company located in Prachinburi province, Thailand. Select physicochemical characteristics of bamboo vinegar are shown in Table 2. Each cage was equipped with an individual nipple drinker. A continuous feed trough was divided by replicate to ensure that the hens were not able to consume feed assigned to the adjoining replicate. The hens were fed an experimental diet until 86 weeks of age.

Performance and egg quality

Body weight was measured at the beginning (70 weeks of age) and at the end of the experiment (86 weeks of age) to assess body weight changes. Laying performance was determined every 4 weeks by monitoring egg production, egg weight, egg mass, damaged egg rate, feed intake and feed efficiency. Eggs were collected daily and the weight was recorded to calculate mean egg weight. Egg production was expressed on a hen-day basis (%hen-day). The collected eggs were classified as either normal or damaged for calculating the damaged egg rate; the latter included broken eggs, cracked eggs and shell-less eggs. Egg mass was calculated by multiplying egg weight by egg production. Feed intake was determined by subtracting the remaining feed from the original amount of feed at the end of each week. Feed efficiency was calculated by

dividing egg mass by the feed intake. At weeks 74, 78, 82 and 86, one egg from each replicate (10 eggs from each treatment) was collected to determine egg quality indices, i.e. egg weight, eggshell weight, eggshell percent, eggshell thickness, eggshell strength, yolk weight, albumen weight, yolk color, and Haugh unit score. The weight of the collected eggs from each group was recorded. The eggshell breaking strength was measured using an eggshell strength tester (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan), and the force required to crack the shell surface was recorded. After the eggs were broken on a plate, the weights of the shell, albumen and egg yolk were measured using an electronic digital balance. Eggshell percent was calculated by dividing dry shell weight by egg weight and multiplying by 100. Eggshell thickness was estimated as the mean from three measured locations (air cell, equator and sharp end), and was measured by an electronic micrometer (Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan). Yolk color score (color intensity from 1 to 15) and Haugh units were automatically measured using the digital egg tester (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan).

Tissue sampling and measurement

At the end of feeding period (86 weeks of age), 10 birds per group were used for morphometrical and histological observations of the villi in each intestinal segment. After decapitation, their intestine and cecum were removed. The midpoint of the duodenum, the midpoint between the bile duct entry and Meckel's diverticulum (jejunum) and the midpoint between Meckel's diverticulum to the ileo-caecal junction (ileum) were fixed in 10% neutral-buffered formalin. After dehydration in graded alcohol, each intestinal segment was embedded in Paraplast. Transverse 4 μ m sections were cut, and stained with haematoxylin and eosin. Villus height and villus area were

determined using an automatic image analyzer (Olympus DP73 camera, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) connected to a light microscope. Villus height was measured from the villus tip to the bottom. The mean villus height from 10 birds (16 villi from 8 different sections in each segment per bird) is given as the mean villus height for one group. Villus area was calculated from the villus height, basal width and apical width. A total of 16 calculations of the villus area were made for each bird. The average of these was recorded as the mean for each bird. Finally the mean across 10 birds was calculated and considered the mean villus area for one group.

Ileal microflora composition

Samples of Ileal digesta (10 samples/diet) were immediately collected after intestinal tissue sampling and then aseptically placed in sterile bags, later blended to obtain a homogeneous mass of digesta, and a 1 g sample was transferred to a test tube. Samples were taken to assays within 1 h after collection. Each sample was mixed with 9 mL sterile 0.9% NaCl, and homogenized at 2,500 rpm for 30 sec. Homogenates of digesta samples were then serially diluted with phosphate-buffered saline from 10^{-2} to 10^{-6} . One-tenth milliliter of each diluted sample was coated on the appropriate agar media, in duplicate for enumeration of the selected microbial populations. Bacterial counts were performed using the appropriate dilution and plate culture techniques under aerobic or anaerobic conditions. *Lactobacillus* spp. was anaerobically assayed using lactobacillus MRS agar (HiMedia LAB, Mumbai, India) and incubated at 37 °C for 48 h. *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. were aerobically assayed using Eosin Methylene Blue agar (BBL, Sparks, MD, USA) and *Salmonella-Shigella* agar (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA), respectively, and incubated at 37 °C for 24 h. Numbers of

bacterial colonies were calculated, and results are expressed as log 10 CFU per gram of fresh sample.

Statistical analysis

All analyses were performed using SPSS version 16.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL). Data were analyzed using one-way analysis of variance, and significant differences between treatments were determined with Duncan's multiple range test. The dose-related effects of supplemental BV were determined using orthogonal polynomial contrast for linear and quadratic effects. $P < 0.05$ was considered significant, $p < 0.1$ was considered a trend, and $p > 0.1$ was considered not significant. The results are expressed as the mean and the pooled standard error of the mean (SEM).

RESULTS

Laying performance

Laying performance is summarized in Table 3. There were no significant linear or quadratic trends of dietary BV levels affecting body weight change, egg production, egg weight, egg mass, feed intake or feed efficiency ($p > 0.10$). Compared to the control group, damaged egg rate decreased significantly in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets during 79-82 and 83-86 weeks of age ($p < 0.05$). The damaged egg rate tended to be lower in the BV-fed groups for the whole experiment (linear; $p < 0.10$).

Egg quality traits

The effects of dietary BV supplementation on egg quality are presented in Table 4. The levels of dietary BV had no significant effect on whole egg weight, albumen weight, yolk weight, yolk color, or Haugh unit. Compared to the control group, at week 86, eggshell weight and eggshell percent tended to increase linearly in hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets ($p < 0.10$). Eggshell thickness increased significantly in hens fed 0.4 and 0.8% BV diets at week 82 ($p < 0.05$) and increased linearly ($p = 0.037$) with the level of dietary BV on week 86. Eggshell strength tended to be higher (linear; $p < 0.10$) in BV-fed hens at week 82 and increased linearly ($p = 0.014$) in BV-fed groups at week 86.

Ileal microflora composition

As presented in Table 5, dietary inclusion of BV at 0.4 and 0.8% levels significantly reduced the populations of *E. coli* ($p < 0.05$) and *Samonella* spp. ($p < 0.01$) in ileal contents compared to the controls. The ileal *Lactobacillus* colony counts did not differ significantly between the treatments. However, the populations of *Lactobacillus* spp. tended to increase linearly ($p = 0.065$) in the BV-supplemented groups compared to the control group.

Intestinal villus morphology

Villus height and villus area of the control and actual treatment groups are shown in Table 6. Villus height and villus area of duodenum increased significantly in hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively). Villus area of jejunum also tended to increase in hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets ($p < 0.10$). There were no

significant differences in ileal villus height and area between hens fed BV-supplemented diets and hens fed the control diet ($p > 0.10$).

DISCUSSION

In the recent study with laying hens (from 25 to 41 weeks of age), we demonstrated that feeding the acidifier (silicic acid powder containing bamboo vinegar) at 0.2% of the diet beneficially effected laying rate and egg mass (Rattanawut *et al.* 2018). Such effects were attributed to the beneficial effects of silicic acid and bamboo vinegar in improving gut health and stimulating intestinal functions. In the present study, egg production did not improve after feeding BV, but the rate of damaged eggs was significantly reduced in the hens fed 0.4 and 0.8% BV diets during the late laying period (79 to 86 weeks of age), and tended ($p = 0.072$) to decrease linearly in BV-fed groups for the whole experiment. The decrease in the damaged egg rate with BV supplementation observed in the present study correlated with the improved eggshell quality, including eggshell thickness and eggshell strength. Eggshell thickness increased linearly in the hens fed the 0.4 and 0.8% BV diets, and eggshell strength also tended to increase linearly in the both groups at week 82 and 86. The results of the present study are similar to those reported by Sengor *et al.* (2007), who in an experiment with old breeder White Bovans hens found that eggshell breaking strength was increased and cracked eggs decreased after the inclusion of short-chain fatty acids (mainly butyrate) in the diet. Soltan (2008) also stated that organic acids (a mixture of formic acid and salts of butyric, propionic and lactic acids) added to the diet in the amount of 780 ppm improved eggshell thickness at 70 weeks of age and reduced the number of broken eggs. The authors indicated that the

observed improvement in eggshell quality was connected with an increase in Ca concentration in serum, which can be attributed to the beneficial effect of organic acids on Ca absorption. Abdel-Fattah *et al.* (2008) reported that chickens fed a diet supplemented with organic acids had significantly higher Ca and P blood concentrations, which the authors attributed to the lowering of intestinal pH and the increase in the absorption of these macro elements by the utilization of these acids. It has also been proposed that organic acids (citric acid) improve Ca availability by chelating Ca and reducing the formation of insoluble Ca-phytate-complexes (Boling *et al.* 2000). In addition, adding acidifiers to feed can lower the gastric pH, accelerates the conversion of pepsinogen to pepsin, which improves the absorption rates of protein and minerals (Omogbenigun *et al.* 2003; Swiatkiewicz *et al.* 2010). Therefore, the positive effects of BV supplementation on eggshell quality observed in this study are probably connected with enhanced mineral absorption and availability. A properly functioning intestine contains beneficial bacteria that help maintain a healthy gut environment. This microbial microflora not only protects against invading pathogenic organisms but also leads to greater nutrient absorption and improved overall animal health. As a hen gets older, its gut microflora changes and the gut mucosal system becomes more susceptible to lose its integrity (Burel & Valat 2009). Damaging the intestinal integrity encourages pathogenic gut bacteria at the expense of beneficial bacteria. Supplementing BV to the diet at 0.4 and 0.8% levels may help recover the intestinal integrity and thus increases nutrient bioavailability and absorption. Acetic acid is the main organic acid component in bamboo vinegar (Table 2). It can control the balance of intestinal microflora and pathogens (Sorrells & Speck 1970) and affects intestinal functions and metabolism (Lutz & Scharrer 1991). Watarai and Tana (2005) reported that wood vinegar could

inhibit *Salmonella enteritidis* growth, whereas growth of normal bacterial flora such as *Enterococcus faecium* and *Bifidobacterium thermophilum* was enhanced by it. As a hen ages, mucosal cells in the intestinal wall weaken, and villi on the inner wall surface of the small intestine shorten: absorption of the nutrients required for eggshell formation becomes impaired, leading to weak eggshells. In this study, intestinal villus height and area in the duodenum of aged laying hens increased after feeding BV at 0.4 and 0.8% levels. The increased villus absorptive area could increase nutrient digestibility and might stimulate the absorption of minerals and other nutrients. Garcia *et al.* (2007) also reported that short chain fatty acids stimulated intestinal epithelial cell proliferation and villus height, which increased absorption efficiency. Gilmore and Ferretti (2003) reported that villus height is increased by the enhanced efficiency of digestion and absorption in the small intestine, when a population of beneficial bacteria supplies nutrients and stimulates vascularisation and development of the intestinal villi. In the present study, dietary supplementation of BV at 0.4 and 0.8% levels markedly decreased the ileal *E. coli* and *Salmonella* spp. populations, while the growth of *Lactobacillus* spp. tended to increase after feeding BV. This may be due to the organic acids in bamboo vinegar reducing the growth of pathogenic bacteria while enhancing the growth of beneficial bacteria in the low-pH environment. Consistent with our findings, Brzoska *et al.* (2007) observed that dietary acidifier (fumaric acid) supplementation increased *Streptococcus* and *Lactobacillus* counts in the ileal digesta, while Entani *et al.* (1998) reported that acetic acid contained in vinegar at 0.1% inhibited the activity of *E. coli* in 17 different species. Therefore, while BV could diminish intestinal pathogenic bacteria, it does not strongly inhibit useful bacteria, including *Lactobacillus* spp. This helps maintain a healthy gut environment and

intestinal integrity, which allow assimilating more nutrients. In this study, therefore, BV may have improved eggshell quality through several possible mechanisms, including decreasing gut pH, selecting for beneficial intestinal organisms, inhibiting the growth of pathogens, and enhancing the digestion and utilization of minerals. The present results showed that 0.4 and 0.8% BV could effectively stimulate intestinal function in the duodenum, indicating that mainly the nutrients are absorbed in the upper segment of the intestine.

Conclusions

In conclusion, 0.4 and 0.8% levels of dietary BV increased the size of intestinal villi in the duodenum, decreased ileal pathogenic bacteria counts, and improved eggshell quality. The results of this study demonstrate that a level of 0.4% BV in a layer's diet is sufficient for reducing the rate of damaged eggs during the late laying period.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by Office of the Higher Education Commission and the Thai Research Fund under Grant No. MRG6080083 and also by the Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, 2016. The authors would like to thank Associate Professor Seppo Karrila, Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus for critical review and valuable comments on the manuscript prior to submission.

REFERENCES

- Abdel-Fattah SA, El-Sanhoury MH, El-Mednay NM, Abdel-Azeem F. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science* **7**, 215–222.
- Boling SD, Webel DM, Mavromichalis I, Parsons CM, Baker DH. 2000. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science* **78**, 682–689.
- Brzoska F, Buluchevskij S, Stecka K, Sliwinski B. 2007. The effects of lactic acid bacteria and mannan oligosaccharide, with or without fumaric acid, on chicken performance, slaughter yield and digestive tract microflora. *Journal of Animal and Feed Science* **16**, 241–251.
- Burel C, Valat C. 2009. The effect of the feed on the host-microflora interactions in poultry: an overview, in: Aland A, Madec F, (Eds.), Sustainable animal production. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 365-385.
- Entani E, Asai M, Tsujihata S, Tsukamoto Y, Ohta M. 1998. Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* 0157:H7. *Journal of Food Protection* **61**, 953-959.
- Garcia V, Catala-Gregori P, Hernandez F, Megias MD, Madrid J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research* **16**, 555–562.
- Gilmore MS, Ferretti JJ. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen.

- Science* **299**, 1999-2002.
- Jiang S, Cui L, Shi C, Ke X, Luo J, Hou J. 2013. Effects of dietary energy and calcium levels on performance, egg shell quality and bone metabolism in hens. *The Veterinary Journal* **198**, 252-258.
- Kishi M, Fukaya M, Tsukamoto Y, Nagasawa T, Takehana K, Nishizawa N. 1999. Enhancing effect of dietary vinegar on the intestinal absorption of calcium in ovariectomized rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **63**, 905-910.
- Liem A, Pesti GM, Edwards HM. 2008. The effect of several organic acids on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chicks. *Poultry Science* **87**, 689–693.
- Lutz T, Scharrer E. 1991. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. *Experimental Physiology* **76**, 615-618.
- Mroz Z, Jongbloed AW, Partanen KH, Vreman K, Kemme PA, Kogut J. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *Journal of Animal Science* **78**, 2622–2632.
- NRC. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Omogbenigun FO, Nyachoti CM, Slominski BA. 2003. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early weaned pigs. *Journal of Animal Science* **81**, 1806–1813.
- Park JH, Park GG, Ryu KS. 2002. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on performance and egg quality of laying hens. *Korean Journal of Poultry Science* **29**, 109–115.
- Rattanawut J, Todsadee A, Yamauchi K. 2018. Effect of dietary supplementation of

- silicic acid powder containing bamboo vinegar on production performance, egg quality, intestinal microflora, and morphology of laying hens. *Canadian Journal of Animal Science* **98**, 119-125.
- Sengor E, Yardimci M, Cetingul S, Bayram I, Sahin H, Dogan I. 2007. Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. *South African Journal of Animal Science* **37**, 158-163.
- Soltan M.A. 2008. Effect of organic acid supplementation on egg production, egg quality, and some blood serum parameters in laying hens. *International Journal of Poultry Science* **7**, 613–621.
- Sorrells KM, Speck ML. 1970. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. *Journal of Dairy Science* **53**, 239-241.
- Swiatkiewicz S, Arczewska-Wlosek A, Krawczyk J, Puchala M, Jozefiak D. 2015. Dietary factors improving eggshell quality: an updated review with special emphasis on microelements and feed additives. *World's Poultry Science Journal* **71**, 83-93.
- Swiatkiewicz S, Koreleski J, Arczewska A. 2010. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech Journal of Animal Science* **55**, 294-306.
- Wang L, Ge S, Liu Z, Zhou Y, Yang X, Yang W, Li D, Peng W. 2018. Properties of antibacterial bioboard from bamboo macromolecule by hot press. *Saudi Journal of Biological Sciences* **25**, 465-468.
- Watarai S, Tana S. 2005. Eliminating the carriage of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in domestic fowls by feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-rich). *Poultry Science* **84**, 515-521.

Yesilbag D, Colpan I. 2006. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Revue de Medicine Veterinaire* **157**, 280–284.

Table 1 Feed formulation and chemical composition of the basal diet

Item	Amount (%)
Ingredient (as-fed basis)	
Corn	53.63
Soybean meal	24.35
Rice bran	5.35
Fish meal	3.0
Oyster shell	8.44
Dicalcium phosphate	1.57
Plant oil	2.86
DL-Methionine	0.2
Salt	0.3
Premix [†]	0.3
Calculated analysis	
Crude protein	17.5
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	5.9
Calcium	4.0
Available phosphorus	0.4
Lysine	0.93
Methionine	0.5

[†]Premix: 2.0 MIU vitamin A, 0.32 MIU vitamin D₃, 2,000 mg vitamin E, 330 mg vitamin K₃, 220 mg vit B₁, 450 mg vitamin B₂, 4.5 mg vitamin B₁₂, 600 mg niacin, 100 mg copper, 150 mg iodine, 130 mg cobalt, 10 g iron, 8.8 g manganese, 8.8 g zinc, 25 g preservative, up to 1 kg filter.

Table 2 Chemical properties of bamboo vinegar compound liquid

Compound	Relative concentration (%)
Organic acid	
Acetic acid	60.29
Propanoic acid	6.75
2-Propenoic acid	0.08
Butanoic acid	0.07
2-Thiophenecarboxylic acid	0.07
Guanidine	0.07
2-Hydroxy-4-oxohexanoic acid	0.04
Total organic acid	67.37
Alcohols	
Benzene methanol	1.07
Ethanol 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)	0.30
1,2-Diphenylethan-1-ol	0.23
Benzaldehyde	0.18
Benzene 1-Acetyl-2-(tert-butoxycarboxyloxy)	0.10
1,4-Ehtanonaphthalene	0.09
Methanol	0.08
Benzene amine	0.07
Benzene ethanol	0.04
Total alcohols	2.16
Phenol derivatives	
Phenol	4.18
Phenol, 2,6-dimethoxy	3.53
Phenol, 2-methoxy	1.76
Total phenol derivatives	9.47

Methoxy phenol derivatives

P-ethyl-phenol	1.36
4 - methyl-syringol	0.71
2-methoxy-4-methyl-phenol	0.49
M-Cresol	0.33
N1-Methyluracil	0.22
2-Methylaminophenol	0.07
Total methoxy phenol derivatives	3.18

Aldehyde and ketone

2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl	1.65
2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl	1.17
2-Propanone, 1-hydroxy	0.62
Acetoin	0.35
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl	0.26
1-Hydroxybutan-2-one	0.25
2-Hydroxy-3,5-Dimethyl-2-Cyclopenten1-one	0.21
1,3-Dimethyl-tetraadeuteriobenzene	0.03
Total aldehyde and ketone	4.54

Heterocyclic aromatic compound

Pyridine	1.30
3-methoxy-pyridine	0.92
2-methyl-pyridine	0.22
4-Pyridinol	0.15
Total heterocyclic aromatic compound	2.59

Furans

Furan,3-methyl	0.19
2-(2,3-epoxypropyl)-tetrahydrofuran	0.10

5-Methyldihydro-2(3H)-Furanone	0.10
2(3H)-Furanone, dihydro	2.14
2-methyl-2,3-dihydro-furan-3-one	0.05
3-Furancarboxaldehyde,4,5-dihydro	0.10
1-(Furan-2-yl)propan-1-ol	0.09
2(3H)-Furanone, dihydro-4-methyl	0.10
4-Propyl-2,3-dihydrofuran	0.03
2(5H)-Furanone,3,4-diethyl	0.08
1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	0.26
2,4-dihydro-pyran-3-one	0.11
2-Acetyl-2-methyltetrahydrofuran	0.07
Total furan	3.42
Other compound	
Guaiacol, 4-ethyl	0.35
Anhydro-sugar	0.49
diethyl [3-(5,5,9,9-tetramethyl-1-oxo-3-thioxo2-azaspiro[3,5]nonan-2-yl)propyl]phosphonate	0.12
Methane	0.14

Table 3 Effects of dietary bamboo vinegar (BV) on performance of laying hens during 70-86 weeks of age

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Initial body weight (g)	1694.80	1699.25	1676.50	1698.60	22.72	0.980	0.996	0.803
Final body weight (g)	1908.50	1902.75	1914.50	1932.00	25.90	0.983	0.715	0.891
Body weight change (g)	213.70	203.50	238.00	233.40	27.27	0.969	0.731	0.938
Egg production (%)								
71-74 week	81.78	80.24	81.78	81.60	1.37	0.976	0.929	0.882
75-78 week	78.22	78.12	78.62	80.54	0.96	0.804	0.362	0.719
79-82 week	80.00	79.35	81.78	78.75	1.80	0.946	0.866	0.702
83-86 week	77.85	75.77	79.10	77.85	2.14	0.962	0.880	0.976
71-86 week	79.46	78.37	80.32	79.68	1.28	0.965	0.867	0.957
Egg weight (g)								
71-74 week	62.85	62.20	62.80	62.04	0.37	0.841	0.561	0.911
75-78 week	62.38	62.24	62.56	62.48	0.28	0.981	0.826	0.957
79-82 week	63.88	62.86	63.51	63.25	0.39	0.898	0.860	0.803
83-86 week	63.21	62.52	63.07	63.03	0.35	0.913	0.972	0.743
71-86 week	63.08	62.45	62.98	62.70	0.30	0.901	0.856	0.895
Egg mass (g/hen/day)								
71-74 week	51.39	49.91	51.36	50.62	0.84	0.931	0.963	0.970
75-78 week	48.79	48.62	49.18	50.32	0.67	0.815	0.367	0.785
79-82 week	51.10	49.88	51.94	49.81	1.18	0.873	0.813	0.622
83-86 week	49.21	47.37	49.88	49.07	1.36	0.923	0.909	0.933
71-86 week	50.12	48.94	50.59	49.95	0.77	0.904	0.868	0.946
Damaged egg rate (%)								
71-74 week	1.68	1.36	1.15	1.13	0.31	0.927	0.564	0.733

75-78 week	2.85	1.91	2.01	1.82	0.39	0.784	0.445	0.590
79-82 week	3.02 ^a	2.79 ^a	1.79 ^b	1.41 ^b	0.23	0.032	0.005	0.614
83-86 week	3.15 ^a	3.10 ^a	1.43 ^b	1.47 ^b	0.29	0.034	0.013	0.412
71-86 week	2.67	2.29	1.60	1.46	0.23	0.276	0.072	0.523
Feed intake (g/d)								
71-74 week	103.85	104.58	105.70	103.64	0.41	0.300	0.818	0.275
75-78 week	103.20	103.41	103.84	104.08	0.20	0.418	0.107	0.761
79-82 week	106.36	105.65	105.56	105.91	0.37	0.890	0.771	0.479
83-86 week	107.08	105.64	106.58	106.77	0.36	0.565	0.906	0.381
71-86 week	105.12	104.82	105.42	105.10	0.25	0.884	0.870	0.845
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)								
71-74 week	0.495	0.477	0.486	0.488	0.007	0.924	0.912	0.688
75-78 week	0.472	0.470	0.474	0.483	0.006	0.909	0.513	0.768
79-82 week	0.480	0.472	0.492	0.470	0.011	0.831	0.847	0.527
83-86 week	0.460	0.448	0.468	0.459	0.012	0.949	0.562	0.569
71-86 week	0.476	0.467	0.480	0.475	0.007	0.918	0.879	0.932

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.

Table 4 Effects of dietary bamboo vinegar (BV) on egg quality traits of laying hens at 74, 78, 82 and 86 weeks of age

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Egg weight (g)								
74 week	62.26	62.17	62.36	62.24	0.31	0.990	0.980	0.947
78 week	62.67	62.74	62.84	62.47	0.40	0.991	0.855	0.802
82 week	63.52	63.07	63.05	63.40	0.48	0.983	0.987	0.697
86 week	62.52	62.64	62.35	62.86	0.37	0.973	0.786	0.792
Eggshell weight (g)								
74 week	6.73	6.84	6.83	6.79	0.05	0.854	0.791	0.440
78 week	7.01	7.00	6.97	7.04	0.08	0.993	0.898	0.810
82 week	7.13	7.05	7.30	7.32	0.07	0.545	0.254	0.963
86 week	6.92	6.91	7.17	7.20	0.06	0.215	0.066	0.720
Eggshell percent (%)								
74 week	10.80	11.01	10.96	10.91	0.06	0.692	0.713	0.325
78 week	11.16	11.15	11.10	11.27	0.11	0.952	0.712	0.683
82 week	11.21	11.17	11.59	11.56	0.10	0.337	0.148	0.652
86 week	11.08	11.02	11.49	11.45	0.09	0.152	0.071	0.587
Eggshell thickness (mm)								
74 week	0.387	0.386	0.392	0.388	0.003	0.873	0.726	0.647
78 week	0.372	0.386	0.376	0.388	0.004	0.482	0.301	0.985
82 week	0.365 ^b	0.370 ^{ab}	0.386 ^a	0.390 ^a	0.003	0.040	0.008	0.473
86 week	0.366	0.375	0.377	0.386	0.003	0.199	0.037	0.815
Eggshell strength (kg/cm ²)								

74 week	4.43	4.30	4.63	4.47	0.08	0.613	0.660	0.691
78 week	4.37	4.22	4.31	4.45	0.14	0.950	0.750	0.680
82 week	3.83	3.88	4.23	4.54	0.15	0.323	0.072	0.968
86 week	3.81	3.91	4.01	4.29	0.07	0.100	0.014	0.845
Albumen weight (g)								
74 week	39.75	39.83	39.59	39.74	0.27	0.991	0.940	0.901
78 week	39.35	39.24	39.58	39.19	0.36	0.984	0.923	0.810
82 week	40.53	40.55	39.43	39.98	0.39	0.717	0.525	0.553
86 week	39.38	39.55	38.94	39.43	0.31	0.912	0.947	0.698
Yolk weight (g)								
74 week	15.78	15.50	15.94	15.71	0.12	0.661	0.901	0.870
78 week	16.31	16.50	16.29	16.24	0.21	0.978	0.818	0.864
82 week	15.86	15.47	16.32	16.10	0.18	0.437	0.402	0.846
86 week	16.22	16.18	16.24	16.23	0.14	0.990	0.948	0.989
Yolk color score								
74 week	8.18	8.03	8.06	8.13	0.08	0.927	0.954	0.547
78 week	8.45	8.53	8.63	8.42	0.18	0.722	0.844	0.282
82 week	8.20	8.27	8.26	8.14	0.07	0.917	0.693	0.564
86 week	8.06	8.16	8.06	8.18	0.06	0.868	0.617	0.903
Haugh unit								
74 week	87.29	87.02	87.49	86.65	0.50	0.946	0.701	0.775
78 week	85.63	84.16	84.61	85.77	0.52	0.663	0.717	0.276
82 week	86.60	85.75	85.86	86.87	0.51	0.850	0.739	0.426
86 week	84.69	84.56	84.63	84.88	0.56	0.998	0.883	0.893

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.

Table 5 Ileal bacteria counts of hens fed 0, 0.2, 0.4 and 0.8% dietary bamboo vinegar (BV) (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
<i>Escherichia coli</i>	4.23 ^a	4.22 ^{ab}	4.21 ^b	4.20 ^b	0.004	0.039	0.011	0.200
<i>Salmonella</i> spp.	3.86 ^a	3.84 ^a	3.81 ^b	3.80 ^b	0.006	0.001	0.001	0.060
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.14	4.15	4.16	4.16	0.003	0.239	0.065	0.391

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.

Table 6 Villus height and villus area of the duodenum, jejunum and ileum in hens fed 0, 0.2, 0.4 and 0.8% dietary bamboo vinegar (BV)

Parameters	Dietary BV (%)				SEM	ANOVA	P-value	
	0	0.2	0.4	0.8			Linear	Quadratic
Villus height (mm)								
Duodenum	1.38 ^b	1.37 ^b	1.44 ^a	1.42 ^a	0.007	0.001	0.008	0.123
Jejunum	0.86	0.87	0.90	0.89	0.005	0.189	0.160	0.208
Ileum	0.46	0.45	0.47	0.46	0.004	0.466	0.649	0.709
Villus area (mm ²)								
Duodenum	0.117 ^b	0.120 ^{ab}	0.125 ^a	0.123 ^a	0.001	0.043	0.024	0.116
Jejunum	0.074	0.074	0.078	0.077	0.001	0.052	0.054	0.290
Ileum	0.032	0.031	0.034	0.033	0.001	0.563	0.559	0.656

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Values are means of 10 replicates.