



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อ
สมรรถภาพ คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณแบคทีเรีย
ในลำไส้ของไก่ไข่

**Effects of Dietary Supplementation of Bamboo Charcoal Powder, Bamboo
Vinegar and their Combination on Performance, Egg Quality, Relative
Organ Weights and Intestinal Bacterial Populations of Laying Hens**

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ

พฤษภาคม 2563

สัญญาเลขที่ MRG6280254

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหาร
ต่อสมรรถภาพ คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณ
แบคทีเรียในลำไส้ของไก่ไข่

**Effects of Dietary Supplementation of Bamboo Charcoal Powder, Bamboo
Vinegar and their Combination on Performance, Egg Quality, Relative
Organ Weights and Intestinal Bacterial Populations of Laying Hens**

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ: MRG6280254
 ชื่อโครงการ: ผลการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อ
 สมรรถภาพ คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณแบคทีเรีย
 ในลำไส้ของไก่ไข่
 ชื่อนักวิจัย: เจษฎา รัตนวุฒิ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 อีเมลติดต่อ: jassada.r@psu.ac.th
 ระยะเวลาโครงการ: พฤษภาคม 2562 – เมษายน 2563

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของไก่ไข่ โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ไฮเช็ก บราวน์ อายุ 36 สัปดาห์ จำนวน 320 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว ไก่ไข่ได้รับอาหารดังนี้ 1) อาหารควบคุม 2) อาหารควบคุมเสริมด้วยผงถ่านไม้ไผ่ที่ระดับ 0.8% 3) อาหารควบคุมเสริมด้วยน้ำส้มควันไม้ไผ่ที่ระดับ 0.4% 4) อาหารควบคุมเสริมด้วยผงถ่านไม้ไผ่ 0.8% + น้ำส้มควันไม้ไผ่ 0.4% ทำการทดลองตั้งแต่อายุ 36-51 สัปดาห์ ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันมีผลทำให้ผลผลิตไข่ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง (48-51 สัปดาห์) เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) และมีผลทำให้อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลง ($P<0.01$) การใช้ร่วมกันของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่มีผลทำให้ความหนาของเปลือกไข่ที่อายุ 43 สัปดาห์เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารมีผลทำให้ความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่อายุ 51 สัปดาห์ เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) การเสริมผงถ่านไม้ไผ่และการใช้ร่วมกันมีผลช่วยลดปริมาณไขมันในช่องท้องของไก่ไข่ ($P<0.05$) การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่และการใช้ร่วมกันมีผลทำให้จำนวนของซิลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง ($P<0.05$) และการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่มีผลช่วยเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ ($P<0.05$) ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่และการใช้ร่วมกันมีผลช่วยเพิ่มผลผลิตไข่ ลดอัตราการแตกเสียหายของไข่ และลดแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ ในขณะที่การเสริมผงถ่านไม้ไผ่มีผลช่วยลดไขมันในช่องท้องของไก่ไข่

คำสำคัญ: ผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ จุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย ลำไส้ ไก่ไข่

Project Code: MRG6280254

Project Title: Effects of Dietary Supplementation of Bamboo Charcoal Powder, Bamboo Vinegar and their Combination on Performance, Egg Quality, Relative Organ Weights and Intestinal Bacterial Populations of Laying Hens

Investigator: Jessada Rattanawut, Prince of Songkla University

E-mail Address: jassada.r@psu.ac.th

Project Period: May 2019 – April 2020

ABSTRACT

This experiment examines the effects of bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination (BCV) in the diet of laying hens on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations. A total of 320 Hisex Brown hens (36 weeks of age) were divided into 4 treatment groups, with 10 replicates per treatment and 8 hens per replicate. They were fed on a control diet, the control diet supplemented with 0.8% BC, the control diet supplemented with 0.4% BV or the control diet supplemented with a combination of BC (0.8%) and BV (0.4%) from 36 to 51 weeks of age. Egg production increased in the hens fed the BV and BCV diets during the late feeding stage (48-51 weeks of age) ($P<0.05$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the BV and BCV diets for the whole experiment ($P<0.01$). Shell thickness was highest in the BCV-fed group at week 43 and shell strength was higher in the BV-fed group at week 51 when compared to the control group ($P<0.05$). Supplementation of BC or BCV in diet resulted in decreased abdominal fat pad ($P<0.05$). In the ileal content, population of *Salmonella* spp. decreased in the BV and BCV groups and the population of *Lactobacillus* spp. increased in the BV group ($P<0.05$). The present results indicate that feeding BV or BCV improves egg production, alleviates damaged egg rate and decreases intestinal pathogenic bacteria, while feeding BC benefits by reducing abdominal fat.

Keywords: bamboo charcoal, bamboo vinegar, ileal microflora, intestine, laying hen

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive summary)

ในการผลิตสัตว์ปีกได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เพื่อที่จะปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตและดำรงรักษาสุขภาพของสัตว์ อย่างไรก็ตาม การใช้ยาปฏิชีวนะในระดับต่ำอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานได้ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา เช่น เกิดการดกค้ำของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ รวมทั้งเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์และมนุษย์ ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นในการค้นหาทางเลือกที่มีประสิทธิภาพเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ การใช้สารที่ได้จากธรรมชาติเพื่อปรับปรุงสิ่งแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นไปได้สำหรับการเพิ่มสมรรถภาพการผลิต และปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารให้ดีขึ้น ถ่านไม้ไผ่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการเผาไม้ไผ่ มีคุณสมบัติพิเศษในการดูดซับสารพิษต่างๆ ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของถ่านไม้ไผ่จะมีรูพรุนมากกว่าถ่านทั่วไป จึงทำให้มีพลังการดูดซับมาก และได้มีการนำมาใช้ในรูปแบบผงเพื่อลดการดูดซึมของสารพิษที่กินเข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ได้รับเกินขนาด สำหรับน้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด ส่วนประกอบหลักของน้ำส้มควันไม้ไผ่ประกอบด้วยน้ำ กรดอะซิติก และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ มี pH 2.5-3.0 กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไผ่สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ด้วยคุณสมบัติที่ดีของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่ ดังนั้นจึงได้มีการนำผงถ่านไม้ไผ่มาผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่และใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต ข้อมูลจากงานทดลองที่ผ่านมาพบว่า การนำผงถ่านไม้ไผ่มาผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่และใช้เสริมในอาหารมีผลช่วยให้สมรรถภาพการผลิตของสัตว์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เป็นที่สงสัยว่าสมรรถภาพการผลิตที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลของผงถ่านไม้ไผ่หรือน้ำส้มควันไม้ไผ่ หรือเกิดจากอิทธิพลร่วมของสารทั้ง 2 ชนิดนี้ ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบเกี่ยวกับสมมติฐานนี้ โดยมีการแยกใช้ผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่ รวมทั้งมีการนำมาใช้ร่วมกัน โดยใช้เสริมในอาหารเพื่อดูผลต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ของไก่ไข่ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะต่อไป

ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันมีผลทำให้ผลผลิตไข่ในช่วงสุดท้ายของการทดลองเพิ่มขึ้น และมีผลทำให้อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลง การใช้ร่วมกันของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่มีผลทำให้ความหนาของเปลือกไข่ที่อายุ 43 สัปดาห์ เพิ่มขึ้น การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารมีผลทำให้ความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่อายุ 51 สัปดาห์ เพิ่มขึ้น การเสริมผงถ่านไม้ไผ่และการใช้ร่วมกันมีผลช่วยลดปริมาณไขมันในช่องท้องของไก่ไข่ การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่และการใช้ร่วมกันมีผลทำให้ปริมาณของซัลโฟนาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง และการเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่มีผลช่วยเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้เล็ก ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการ

เสริมน้ำส้มควันไม้ไฟและการใช้ร่วมกันมีผลช่วยเพิ่มผลผลิตไข่ ลดอัตราการแตกเสียหายของไข่ และ
ลดแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ ในขณะที่การเสริมผงถ่านไม้ไฟมีผลช่วยลดไขมันในช่องท้องของไก่ไข่

กิตติกรรมประกาศ

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

พฤษภาคม 2563

ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(2)
ABSTRACT	(3)
บทสรุปผู้บริหาร (Executive summary)	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(8)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสารเกี่ยวกับถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่	3
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	10
บทที่ 4 ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	23
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	30

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	13
2 องค์ประกอบของผงถ่านไม้ไผ่	14
3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่	15
4 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่	18
5 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหาร ต่อคุณภาพไข่	20
6 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหาร ต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน และความยาวของลำไส้เล็ก	22
7 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหาร ต่อปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่	22

บทที่ 1

บทนำ

ในการผลิตสัตว์ปีกได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เพื่อที่จะปรับปรุงสมรรถภาพการผลิต และดำรงรักษาสุขภาพของสัตว์ อย่างไรก็ตาม การใช้ยาปฏิชีวนะในระดับต่ำอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานได้ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา เช่น เกิดการดกค้ำของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ รวมทั้งเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์และมนุษย์ ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นในการค้นหาทางเลือกที่มีประสิทธิภาพเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ การใช้สารที่ได้จากธรรมชาติเพื่อปรับปรุงสิ่งแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นไปได้สำหรับการเพิ่มสมรรถภาพการผลิต และปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารให้ดีขึ้น ถ่านไม้ไผ่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการเผาไม้ไผ่ มีคุณสมบัติพิเศษในการดูดซับสารพิษต่างๆ ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของถ่านไม้ไผ่จะมีรูพรุนมากกว่าถ่านทั่วไป จึงทำให้มีพลังการดูดซับมาก (Zhao et al., 2008) และได้มีการนำมาใช้ในรูปแบบผงเพื่อลดการดูดซึมของสารพิษหรือสารเคมีที่กินเข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ได้รับเกินขนาด (Anjaneyulu et al., 1993) อย่างไรก็ตาม ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ในไก่ไข่ยังไม่มีรายงานการใช้ สำหรับน้ำส้มควันไม้ไผ่ (bamboo vinegar) เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นฉุน ไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด ส่วนประกอบหลักของน้ำส้มควันไม้ไผ่ประกอบด้วยน้ำ กรดอะซิติก และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ มี pH 2.5-3.0 (Velmurugan et al., 2009) กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (Watarai and Tana, 2005) งานทดลองเมื่อเร็วๆ นี้ได้พบว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0.4% มีผลทำให้การแตกเสียหายของไข่ลดลงในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต (Rattanawut et al., 2018) ด้วยคุณสมบัติที่ดีของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่ ดังนั้นจึงได้มีการนำผงถ่านไม้ไผ่มาผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่และใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต ข้อมูลจากหลายๆ งานทดลองพบว่า การนำผงถ่านไม้ไผ่มาผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ (น้ำส้มควันไม้ไผ่ 3 ลิตร ผสมกับผงถ่าน 8 กิโลกรัม) และใช้เสริมในอาหารเปิดเนื้อ (Ruttanavut et al., 2009) อาหารไก่ไข่ (Yamauchi et al., 2010) และอาหารไก่เบตง (Rattanawut, 2014) มีผลช่วยทำให้สมรรถภาพการผลิตเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เป็นที่สงสัยว่าสมรรถภาพการผลิตที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลของผงถ่านไม้ไผ่หรือน้ำส้มควันไม้ไผ่ หรือเกิดจากอิทธิพลร่วมของสารทั้ง 2 ชนิดนี้ ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการทดสอบเกี่ยวกับสมมติฐานนี้ โดยมีการแยกใช้ผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่ รวมทั้งมีการนำมาใช้ร่วมกัน โดยใช้เสริมในอาหารเพื่อดูผลต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่
2. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อน้ำหนักอวัยวะภายในที่เกี่ยวข้อง
3. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ถ่านและผงถ่าน (Charcoal and charcoal powder)

ถ่าน หมายถึง วัสดุที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอนซึ่งได้รับหลังจากการให้ความร้อนสารอินทรีย์ในสภาพไร้อากาศ ซึ่งได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การใช้เป็นเชื้อเพลิง การดูดซับกลิ่นและความชื้น สารขจัดพิษในร่างกาย การทำน้ำให้บริสุทธิ์ การบำบัดน้ำเสีย รวมทั้งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ถ่านเป็นตัวดูดซับสารต่างๆ ได้ดี และพลังการดูดซับจะสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการกระตุ้นทางเคมีหรือการกระตุ้นด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิที่อยู่ในช่วง 500-1,000 °C ซึ่งถ่านที่ได้นั้นจะเรียกว่า ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) Asada et al. (2002) ได้รายงานไว้ว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดระหว่างประสิทธิภาพในการดูดซับของถ่านกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเผา โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 900 – 1,000 °C พื้นที่ผิวของการดูดซับจะสูงสุด อย่างไรก็ตาม Kitamura and Katayama (2001) ได้พบว่า การใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 1,100 °C จะทำให้พื้นที่ผิวของการดูดซับลดลง เนื่องจากการหดตัวและการหายไปของโครงสร้างภายใน (pore structure) Hille and Ouden (2005) พบว่า ถ่านกัมมันต์มีรูพรุนภายในที่มากกว่าถ่านปกติประมาณ 5 เท่า ซึ่งทำให้มีประสิทธิภาพการดูดซับที่มากกว่า

จิระพงษ์ (2553) ได้รายงานไว้ว่า ถ่านไม้สามารถจำแนกได้ตามวิธีการผลิต ดังนี้

1. ถ่านดำหรือถ่านอ่อน (Black or Soft charcoal) เป็นถ่านไม้ที่ใช้กันโดยทั่วไป โดยใช้เป็นเชื้อเพลิงในครัวเรือน ใช้ดูดกลิ่นความชื้น บำบัดน้ำเสีย รวมทั้งใช้ปรับปรุงบำรุงดิน ผลิตโดยใช้ความร้อนประมาณ 400-700 °C ใช้เวลาเผาสั้น จากนั้นปิดเตาไม่ให้อากาศเข้าและปล่อยให้ถ่านไว้ในเตาจนกว่าจะเย็นเอง ถ่านที่ได้จะมีสีดำ มีความแข็งแรงน้อยกว่าถ่านขาว ถ่านดำจะสุกไม่เท่ากันทั้งแท่ง ปริมาณคาร์บอนเสถียร (fixed carbon) ของถ่านที่ได้รับความร้อนสูงกว่าจะมีค่ามากกว่าถ่านที่ได้รับความร้อนต่ำกว่า เช่น ถ่านส่วนบนเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 85% ถ่านส่วนกลางเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 80% และถ่านส่วนพื้นเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 75-78% ถ่านดำเป็นวัตถุดิบที่สำคัญสำหรับการผลิตถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) โดยนำถ่านดำไปเผาด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 1,000 – 1,100 °C และสามารถนำถ่านกัมมันต์ไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้ในการดูดซับกลิ่น ดูดความชื้น หรือการกรองน้ำ ฯลฯ

2. ถ่านขาวหรือถ่านแข็ง (White or Hard charcoal) เป็นถ่านที่มีความแข็งแรงมากกว่าถ่านดำ ผลิตโดยใช้ความร้อนที่ประมาณ 1,000 – 1,100 °C จากนั้นนำถ่านที่กำลังสุกไหม้อยู่ออกมาดับบนกองเตา โดยใช้ขี้เถ้าผสมดินและน้ำประมาณ 10-20% ขี้เถ้าดังกล่าวจะติดแน่นอยู่ที่ผิวถ่านเป็นสีขาวปนเทา จึงเรียกว่า ถ่านขาว เนื้อถ่านสุกเท่ากันและมีปริมาณคาร์บอนเสถียรเท่ากันทั้งแท่ง จุดติดไฟยากแต่ลุกไหม้ได้นาน สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงและเป็นถ่านเพื่อสุขภาพ เช่น ใส่ในหม้อหุงข้าว ทำน้ำแร่ ใช้ในการอาบน้ำ เป็นต้น คุณสมบัติของถ่านดำและถ่านขาวแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. คุณสมบัติของถ่านดำและถ่านขาวจากไม้ชนิดเดียวกัน

ชนิดของถ่าน	คาร์บอนเสถียร (%)	สารระเหย (%)	ขี้เถ้า (%)	ระดับความแข็ง	ค่าความร้อน (Kcal/kg)
ถ่านดำ	68.6	24.5	0.9	8	6,983
ถ่านขาว	77.6	9.8	2.4	10	7,023

ที่มา: จิระพงษ์ (2553)

ถ่านไม้ไผ่ (Bamboo charcoal)

ถ่านไม้ไผ่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการเผาไม้ไผ่ มีคุณสมบัติในการดูดซับสารต่างๆ ได้ดีกว่าถ่านไม้ทั่วไป โดยทั่วไปมักใช้เป็นสารควบคุมความชื้น สารดูดซับกลิ่น รวมทั้งใช้ร่วมในกระบวนการทำน้ำให้สะอาด Jiang (2004) ได้รายงานว่าการเผาไม้ไผ่ที่อุณหภูมิ 500 °C จะได้เป็นถ่านไม้ไผ่ 30% น้ำส้มควันไม้ไผ่ 51% แก๊ส 18% และสูญเสีย 1% และเพื่อให้ได้คุณภาพของถ่านไม้ไผ่ที่ดี ไม้ไผ่ที่จะนำมาใช้ต้องโตเต็มที่ (อายุมากกว่า 4 ปี) มีความชื้นอยู่ในช่วง 15-20% ลำต้นต้องไม่แห้งเกินไป นอกจากนั้นอุณหภูมิที่ใช้เผาก็มีผลต่อพื้นที่ผิวและความสามารถในการดูดซับ โดยการเผาไม้ไผ่ที่อุณหภูมิ 700 °C จะมีพื้นที่ผิวสูงสุด (385 ตารางเมตร/กรัม) การเผาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 500 °C จะมีรูพรุนน้อยเนื่องจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ ในขณะที่การเผาที่อุณหภูมิสูงกว่า 800 °C จะทำให้มีรูพรุนน้อยลงเช่นกันเนื่องจากช่องว่างที่อยู่ภายในจะถูกเผาไหม้ วินัย และคณะ (2547) กล่าวว่าไว้ว่าถ่านไม้ไผ่จะมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุนเล็กๆ มากมาย โดยกลืนต่างๆ จะแพร่เข้าสู่รูพรุน หากถ่านมีรูพรุนมากก็จะทำให้ดูดซับกลิ่นได้มากตามไปด้วย นอกจากนั้นยังมีการ์บอนเสถียร (fixed carbon) สูงมากกว่า 85% มีสารระเหยง่ายต่ำ มีแร่ธาตุมาก ดังนั้นถ่านไม้ไผ่ที่ผลิตได้จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย สำหรับผงถ่านได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการป้องกันการดูดซึมของสารที่เป็นพิษที่กินเข้าไป Watarai and Tana (2005) ได้ทดลองในห้องปฏิบัติการและพบว่า การใช้ผงถ่านที่ระดับ 1% มีความสามารถในการดูดซับแบคทีเรียที่ก่อโรคได้มากกว่าแบคทีเรียที่มีประโยชน์สำหรับในด้านการผลิตสัตว์นั้น Kutlu et al. (2001) ได้รายงานไว้ว่า การใช้ผงถ่านเสริมในอาหารไก่ไข่ที่ระดับต่างๆ (0, 1, 2 และ 4%) ไม่มีผลทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น แต่การเสริมผงถ่านมีผลทำให้การแตกของเปลือกไข่ลดลงตามระดับการใช้ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากในผงถ่านมีแร่ธาตุต่างๆ อยู่ในระดับสูง อย่างไรก็ตามจากข้อมูลของ Kutlu et al. (2001) ก็ได้พบว่า การใช้ผงถ่านในระดับที่มากกว่า 1% มีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงเนื่องจากผงถ่านมีผลทำให้ความน่ากินของอาหารลดลง การใช้ผงถ่านในด้านปศุสัตว์นั้นพบว่า ในบางครั้งได้มีการนำเอาผงถ่านมาเสริมในอาหารเพื่อรักษาอาการท้องเสีย รวมทั้งใช้เป็นตัวดูดซับสารพิษและผลิตผลจากกระบวนการต่างๆ ที่เป็นอันตรายในทางเดินอาหารของสัตว์ นอกจากนั้น ผงถ่านก็ยังสามารถใช้ควบคุมแบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารอีกด้วย นอกจากการ

ใช้ผงถ่านเสริมในอาหารสัตว์แล้วยังมีการใช้ผงถ่านหว่านบนพื้นของโรงเรือนสัตว์เพื่อลดกลิ่นแอมโมเนียอีกด้วย

ผลกระทบของการใช้ผงถ่านในอาหารสัตว์

การใช้ผงถ่านในระดับสูงเกินไปมีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงเนื่องจากมวลต่อหน่วยปริมาตรที่สูงของผงถ่าน (high bulk density) และสีดำของอาหารเนื่องจากผงถ่านก็อาจมีผลต่อความน่ากินของสัตว์ Kutlu et al. (2001) ได้รายงานไว้ว่า ระดับที่สูงเกินไปของผงถ่านก็อาจทำให้โภชนะต่างๆ เช่น วิตามิน ไขมัน และเอนไซม์ ถูกดูดซับไปด้วย เนื่องจากการดูดซับของผงถ่านเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง นอกจากนั้นระดับที่สูงเกินไปของผงถ่านก็อาจมีผลรบกวนการย่อยได้ของอาหารด้วย

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% ของสารอินทรีย์ทั้งหมด (Akakabe et al., 2006) น้ำส้มควันไม้ไผ่มีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลมากกว่าน้ำส้มควันไม้ทั่วไปประมาณ 3-4 เท่า สารประกอบฟีนอลเป็นสารที่ได้รับความสนใจในปัจจุบันเนื่องจากมีผลต่อการป้องกันการหืน (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 °C ควันที่ออกมาจากปล่องควันจะเป็นสีขาวและมีกลิ่นเหม็น ซึ่งเป็นกลิ่นของกรดประเภทเมทานอลที่อยู่ในเนื้อไม้ อุณหภูมิบริเวณปากปล่องควันประมาณ 70-75 °C อุณหภูมิภายในเตาประมาณ 160 °C เมื่อใส่เชื้อเพลิงต่อไปควันสีขาวตรง

ปล่องควันจะเพิ่มขึ้น ในช่วงที่ 2 จะมีอุณหภูมิประมาณ 160-270 °C และจะเริ่มคลายตัวออกมาจนสลายตัวหมดที่อุณหภูมิ 260 °C ควันที่ออกมาในช่วงนี้จะมีสีเหลืองจางๆ ปนอยู่บ้าง ควันมีกลิ่นเหม็นฉุนเพราะจะมีก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ กรดน้ำส้ม และเมทานอลเจือปนออกมา กับควันด้วย แต่มีปริมาณต่ำมากๆ ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อะไรได้

ขั้นตอนที่ 2 การเปลี่ยนจากไม้ผุเป็นถ่านหรือปฏิกิริยาคายความร้อน (Carbonization)

อุณหภูมิประมาณ 270-300 °C ช่วงนี้ในเตาสะสมความร้อนไว้มากพอที่จะเกิดปฏิกิริยาคายความร้อนโดยไม่ต้องเติมฟืนหน้าเตาอีก ไม้ฟืนจะลุกไหม้และสลายตัวโดยความร้อนที่สะสมไว้ในตัวเอง ในช่วงนี้เซลลูโลสจะเริ่มสลายตัวที่อุณหภูมิประมาณ 275 °C การสลายตัวจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ควันที่ออกมาจากปล่องจะมีสีขาวปนเหลืองมีกลิ่นฉุนจัด ผู้ผลิตถ่านในประเทศไทยเรียกควันนี้ว่า “ควันบ้ำ” หลังจากควันบ้ำมีปริมาณน้อยลงและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาแล้ว จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องควบคุมอุณหภูมิไว้ให้คงที่เป็นเวลานานพอสมควรเพื่อให้ขั้นตอนนี้เป็นไปอย่างช้าๆ และสม่ำเสมอ ความร้อนจากไม้ด้านบนหน้าเตาจะค่อยๆ ถ่ายความร้อนไปยังจุดต่างๆ ทั่วทั้งเตาอย่างช้าๆ หากปล่อยให้อุณหภูมิขึ้นสูงเร็วเกินไปจะทำให้ไม้ที่สะสมความร้อนไว้มากกว่ากลายเป็นเถ้าเสียก่อน ต้องมีการควบคุมอากาศที่หน้าเตาควบคู่กับการใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ การวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ (thermometer) เพียงอย่างเดียวอาจผิดพลาดได้ โดยเฉพาะเมื่อมีการเติมฟืนที่หน้าเตามากและเร็วเกินไป ดังนั้นการดูสีควันสามารถทำได้โดยการนำกระเบื้องเคลือบสีขาวมาอังที่ปล่องควันเพื่อดูสีของควัน

ขั้นตอนที่ 3 การทำให้ถ่านบริสุทธิ์ (Refinement หรือ Refining)

ขั้นตอนการเปลี่ยนไม้เป็นถ่านจะเสร็จสิ้นสมบูรณ์แล้วที่อุณหภูมิ 400 °C ต้องทำการเพิ่มอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว โดยการเปิดหน้าเตาประมาณ 1 ใน 3 ของหน้าเตาทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เมื่อควันสีน้ำเงินเป็นสีฟ้าแสดงว่าไม้เริ่มเป็นถ่านใกล้เคียงหมดจากนั้นควันสีฟ้าอ่อนลง อาจสังเกตได้จากสีของควันที่เริ่มใส ผู้ควบคุมการผลิตถ่านจะปิดช่องอากาศเข้าแล้ว รอให้ความร้อนถ่ายเทจากด้านบนของเตาลงมาที่พื้นเตา อุณหภูมิที่อยู่ในเตาจะเท่ากันประมาณ 600-700 °C จะไม่มีควันเหลืออยู่อีกแล้วจึงเริ่มทำการปิดหน้าเตา โดยใช้ดินเหนียวปิดรอยรั่วและรอยต่อ จากนั้นทำการปิดปล่องควันให้สนิทและอุดรอยรั่วทั้งหมดไม่ให้อากาศภายนอกผ่านเข้าไปได้

ขั้นตอนที่ 4 การทำให้ถ่านในเตาเย็นลง (Cooling)

หลังจากปิดปล่องเตาทุกปล่องแล้วต้องปล่อยให้เย็นจึงจะนำถ่านออกมาใช้ได้ ก่อนจะเปิดเตาต้องให้อุณหภูมิในเตาต่ำกว่า 35 °C เพราะถ่านไม้ที่อุณหภูมิ ประมาณ 50-70 °C จะสามารถติดไฟเองได้ถ้าได้รับออกซิเจนจากอากาศ ดังนั้นการเปิดเตาต้องเริ่มเปิดที่ปล่องควันก่อนเพื่อระบายความร้อนและก๊าซที่ค้างอยู่ในเตาระบายให้หมด หลังจากนั้นจึงเปิดหน้าเตาแล้วเกลี่ยดินบนเตาออกให้เห็น

หลังเตาเพื่อระบายความร้อนในเตา จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 1 คืน หรือประมาณ 8 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อย เพื่อให้ถ่านดับสนิทแล้วจึงเริ่มการเปิดเตาเพื่อนำถ่านออกจากเตาไปใช้ประโยชน์

การเก็บสะสมน้ำส้มควันไม้

น้ำส้มควันไม้ไม่สามารถเก็บได้โดยใช้เครื่องมือง่ายๆ อาศัยการถ่ายเทความร้อนจากปล่องดักควันที่มีอุณหภูมิสูงสู่อากาศรอบปล่องดักควันที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า ความชื้นในควันก็จะควบแน่นเป็นหยดน้ำ นำมารวบรวมและทำให้บริสุทธิ์ขึ้นก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ จุดสำคัญของการเก็บน้ำส้มควันไม้ก็คือ ต้องให้ปล่องดักควันอยู่ห่างจากปากปล่องควันของเตาผลิตถ่าน 20-30 เซนติเมตร หากทั้งสองส่วนเชื่อมต่อกันโดยตรงจะเท่ากับเป็นการต่อความยาวให้กับปล่องควันของเตา ซึ่งจะมีผลกระทบไปถึงการไหลเวียนของอากาศภายในเตา และส่งผลถึงคุณภาพและผลผลิตของถ่านไม้ไผ่ด้วย (จิระพงษ์, 2553)

การให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์

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

1. ปลอຍให้ตกตะกอน 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% กรดอินทรีย์ 3% และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 12% มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ประมาณ 3 และความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.012-1.024 ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของไม้ที่นำมาเผาถ่าน

การใช้ประโยชน์จากน้ำส้มควันไม้

1. ใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่
 - ใช้ผลิตสารดับกลิ่นตัว
 - ใช้ผลิตอุตสาหกรรมรมควัน
 - ใช้ในอุตสาหกรรมย้อมผ้า
 - ใช้ผลิตสารป้องกันรักษาเนื้อไม้จากราและแมลง
 - ใช้ผลิตสารช่วยย่อย
2. ใช้ในครัวเรือน ได้แก่
 - ความเข้มข้น 100% ใช้รักษาแผลสด แผลถูกน้ำร้อนลวก รักษาโรคน้ำกัดเท้า
 - ผสมน้ำ 20 เท่า ใช้ราดทำลายปลวกและมด
 - ผสมน้ำ 100 เท่า ใช้ฉีดพ่นเพื่อบดกลิ่น ป้องกันแมลงวัน 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% หมักกับหอยเชอรี่สด 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 แต่การให้

โดยตรงโดยการผสมน้ำจะมีกลิ่นควันไฟซึ่งสัตว์อาจจะไม่ชอบ ควรนำไปผสมกับผงถ่านก่อน โดยนำน้ำส้มควันไม้ 2 ลิตรผสมกับผงถ่าน 8 กิโลกรัม แล้วนำผงถ่านที่ชุ่มด้วยน้ำส้มควันไม้ไปผสมกับอาหารสัตว์ที่ระดับ 1% ซึ่งจะมีประโยชน์ ดังนี้

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

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ผงถ่านและน้ำส้มควันไม้ในปศุสัตว์

Yan et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมน้ำส้มควันไม้ผงในอาหารต่อการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ และปริมาณแบคทีเรียในมูลสุกรพบว่า สูตรอาหารที่เสริมด้วยน้ำส้มควันไม้ผงมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมน้ำส้มควันไม้ผงที่ระดับ 0.2% มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว การย่อยได้ของโภชนะมากกว่ากลุ่มอื่นๆ และมีปริมาณของเชื้อ *E. coli* ในมูลลดลง Choi et al. (2009) ได้รายงานว่าการเสริมน้ำส้มควันไม้ผงในอาหารมีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตและการย่อยได้ของโภชนะดีขึ้น และสามารถลดจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ให้ลดลงได้ ในขณะที่ Chu et al. (2013) ได้รายงานว่าการเสริมผงถ่านไม้ผงในอาหารสุกรขุนที่ระดับ 0.3% มีผลทำให้น้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนั้นก็ยังมีผลทำให้จำนวนของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และซัลโมเนลลาในมูลลดลงอีกด้วย

การใช้ผงถ่านร่วมกับน้ำส้มควันไม้

งานทดลองของ Rattanawut (2014) ได้รายงานว่าการใช้ผงถ่านไม้ผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้เสริมในอาหารไก่เบตงที่ระดับ 1% สามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่ก่อโรค (*E. coli* และ *Salmonella* spp.) ให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และช่วยทำให้วิลไลมีการพัฒนามากขึ้น ซึ่งทำให้สามารถย่อยโภชนะต่างๆ ได้มากขึ้น จึงมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้นงานทดลองของ Yamauchi et al. (2010) ได้ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ผงในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในลำไส้พบว่า การเสริมที่ระดับ 0.5 และ 1% มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น และมีผลช่วยทำให้พื้นที่การดูดซึมของวิลไลเพิ่มมากขึ้น

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

การศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ (Bamboo charcoal powder, BC) น้ำส้มควันไม้ไผ่ (Bamboo vinegar, BV) และการใช้ร่วมกัน (Bamboo charcoal powder + Bamboo vinegar, BCV) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้อง และปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ไฮเซ็กซ์ บราวน์ อายุ 36 สัปดาห์ จำนวน 320 ตัว เลี้ยงในกรงดับที่ความหนาแน่น 900 ตารางเซนติเมตรต่อตัว ทำการแบ่งไก่ไข่ออกเป็น 4 กลุ่ม (treatment) แต่ละกลุ่มมี 10 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว โดยจัดให้แต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวและผลผลิตไข่ใกล้เคียงกัน ไก่ไข่จะได้รับอาหารทดลองที่ประกอบสูตรตามความต้องการของสายพันธุ์ (Hisex Brown Management Guide) (ตารางที่ 1) โดยกลุ่มการทดลองประกอบด้วย

- 1) กลุ่มควบคุม (ได้รับอาหารพื้นฐาน)
- 2) อาหารพื้นฐาน + BC (0.8%)
- 3) อาหารพื้นฐาน + BV (0.4%)
- 4) อาหารพื้นฐาน + BC (0.8%) + BV (0.4%)

สำหรับ BC (pH = 8.5) และ BV (pH = 3.0) ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าของบริษัท องค์ประกอบของผงถ่านไม้ไผ่แสดงในตารางที่ 2 และคุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่แสดงในตารางที่ 3 ตามลำดับ ไก่ทดลองจะได้รับอาหารแบบเต็มที่ให้น้ำด้วยระบบนิปเปิ้ล และได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (อายุไก่ไข่ 36-51 สัปดาห์) โดยแบ่งออกเป็น 4 ช่วงๆ ละ 4 สัปดาห์

การวัดสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

การชั่งน้ำหนักตัวทำเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (อายุไก่ 36 สัปดาห์) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไก่ 51 สัปดาห์) เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง สำหรับการทดสอบสมรรถภาพการผลิตจะทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยมีการบันทึกผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราไข่ที่แตกเสียหาย ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไข่ที่เก็บได้ในแต่ละวันจะนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักไข่เฉลี่ย จากนั้นนำมาแยกประเภทว่าเป็นไข่ปกติหรือไข่ที่เสียหาย โดยไข่ที่เสียหายประกอบด้วยไข่แตก ไข่ร้าว และไข่ที่ไม่มีเปลือก สำหรับค่ามวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้อาหารจะคำนวณจากสูตร ดังต่อไปนี้

$$\text{มวลไข่} = \text{น้ำหนักไข่} \times \text{ผลผลิตไข่}$$

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร = มวลไข่/ปริมาณอาหารที่กิน

สำหรับการตรวจสอบคุณภาพไข่จะกระทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตรวจสอบน้ำหนักฟองไข่ ความแข็งแรงของเปลือกไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit โดยไข่ที่จะนำมาตรวจสอบคุณภาพเป็นไข่ที่เก็บในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง (อายุไข่ 39, 43, 47 และ 51 สัปดาห์) น้ำหนักของไข่ทำการชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล ความแข็งแรงของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเครื่องทดสอบความแข็งแรงของเปลือกไข่ (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan) น้ำหนักเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักไข่แดงทำการวัดด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล เปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่คำนวณจากน้ำหนักเปลือกไข่หารด้วยน้ำหนักไข่และคูณด้วยหนึ่งร้อย ความหนาของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเวอร์เนียไมโครมิเตอร์ โดยทำการวัด 3 จุด คือ ด้านบน ตรงกลาง ด้านแหลม และนำมาหาค่าเฉลี่ย สำหรับสีของไข่แดง และค่า Haugh unit ทำการวัดด้วยเครื่องวัดคุณภาพไข่อัตโนมัติ (Digital egg tester, DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan)

การเก็บตัวอย่างอวัยวะภายใน

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไข่ 51 สัปดาห์) ทำการฆ่าไก่เพื่อเก็บตัวอย่างอวัยวะภายในที่เกี่ยวข้อง โดยไข่ที่นำมาเก็บตัวอย่างมีน้ำหนักใกล้เคียงกับน้ำหนักเฉลี่ยของกลุ่มนั้นๆ โดยเก็บกลุ่มละ 5 ตัว ทำการชั่งน้ำหนักและทำให้สลบ จากนั้นทำการผ่าเปิดเพื่อเก็บตัวอย่างไขมันในช่องท้อง หัวใจ ตับ กระเพาะแท้ กระเพาะบด และลำไส้เล็ก ในส่วนของลำไส้เล็กจะมีการวัดความยาวทั้งหมด จากนั้นจึงผ่าเปิดเพื่อเอาส่วนย่อยในลำไส้เล็กทั้งหมด สำหรับกระเพาะแท้และกระเพาะบดก็มีการผ่าเพื่อเอาอาหารที่ตกค้างออกเช่นเดียวกัน ทำการชั่งน้ำหนักอวัยวะทั้งหมด (empty organs) และแสดงข้อมูลเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักมีชีวิต ส่วนความยาวของลำไส้เล็กแสดงข้อมูลเป็นเซนติเมตร

การวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

การเก็บตัวอย่างอาหารที่ย่อยในลำไส้ (fresh digesta) ของลำไส้เล็กส่วนปลาย ทำการเก็บกลุ่มละ 5 ตัว จากนั้นนำตัวอย่างในแต่ละซ้ำจำนวน 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. ทำการเกลี่ยตัวอย่างที่ส่งไปให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ 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 คุณภาพไข่ น้ำหนักอวัยวะภายในที่เกี่ยวข้อง และปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ผลการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย ค่า $P < 0.05$ จะถูกพิจารณาว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า $P < 0.1$ จะถูกพิจารณาว่ามีแนวโน้ม

สถานที่ทำการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการที่ฟาร์มปฏิบัติการ และศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 1. สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.98
Soybean meal (44% CP)	25.33
Rice bran	4.00
Fish meal (55% CP)	2.00
Oyster shell	8.56
Dicalcium phosphate	1.94
Plant oil	3.49
DL-Methionine	0.10
Salt	0.30
Premix ¹	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.0
Metabolizable energy (kcal/kg)	2,820
Crude fiber	3.54
Crude fat	6.45
Calcium	4.10
Available phosphorus	0.42
Lysine	0.91
Methionine	0.38

¹Premix: 20.0 MIU vitamin A, 4.0 MIU vitamin D₃, 22,000 IU vitamin E, 4 g vitamin K₃, 5 g vit B₁, 10 g vitamin B₂, 6 g vitamin B₆, 0.06 g vitamin B₁₂, 15 g vitamin C, 20 g panthothenic acid, 50 g nicotinic acid, 3 g folic acid, 0.24 g biotin, 23.25 g feed additives, 0.15 g preservatives, up to 1 kg carrier.

ตารางที่ 2. องค์ประกอบของผงถ่านไม้ไผ่ (as-fed basis)

Item	%
Moisture	7.50
Ash	4.92
Carbon	62.94
Nitrogen	0.41
Hydrogen	0.03
Gross energy (kcal/kg)	5,540
pH	8.5

ตารางที่ 3. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไฟ (analyzed by GC-MS)

Compound	Relative concentration (%)
Organic acids	
Acetic acid	65.79
Propanoic acid	2.34
Butanoic acid	0.44
Pentanoic acid	0.37
Acetamide	0.29
Benzoic acid	0.13
Crotonic acid	0.13
Total organic acids	69.49
Alcohols	
Tetrahydrofurfuryl alcohol	5.41
Benzene methanol	1.01
Ethanol 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)	0.18
Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	0.12
Methanol	0.05
Benzene ethanol	0.03
Total alcohols	6.80
Phenol derivatives	
Phenol	2.94
Phenol, 2,6-dimethoxy	2.18
Phenol, 2-methoxy	1.21
Phenol, 4-ethyl	0.75
Total phenol derivatives	7.08
Methoxy phenol derivatives	
P-ethyl-phenol	1.41
4-methylphenol	0.86
2-Methylaminophenol	0.10
4 - methyl-syringol	0.07
Total methoxy phenol derivatives	2.44

Aldehyde and ketones	
1,2-cyclopentanedione, 3-methyl	0.90
2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl	0.57
2-Propanone, 1-hydroxy	0.37
4-oxopentanoic acid	0.37
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl	0.36
Acetoin	0.30
1-Hydroxybutan-2-one	0.17
Acetovanillone	0.08
Total aldehyde and ketones	3.12
Heterocyclic aromatic compounds	
Pyridine	1.33
3-methoxy-pyridine	1.27
3-methyl-pyridine	0.40
2-methyl-pyridine	0.26
2-Imidazolidinone	0.05
Total heterocyclic aromatic compounds	3.31
Furans	
2(3H)-Furanone, dihydro	2.88
1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	0.37
2(3H)-Furanone, dihydro-5-methyl	0.24
2(3H)-Furanone, dihydro-4-methyl	0.17
2(5H)-Furanone,3-methyl	0.11
1-(Furan-2-yl)propan-1-ol	0.07
Total furans	3.84
Other compounds	
Anhydro-sugar	0.78
Phospholane	0.30
Guaiacol, 4-ethyl	0.25
Methane	0.11
Total other compounds	1.44
pH	3.0

บทที่ 4 ผลการทดลอง

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่แสดงในตารางที่ 4 การเสริม BC, BV และ BCV ในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ไข่ ($P>0.05$) ผลผลิตไข่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงอายุไก่ไข่ 36-47 สัปดาห์ ($P>0.05$) แต่ในช่วงอายุ 48-51 สัปดาห์ พบว่าผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มที่ใช้สารเสริม และเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในกลุ่มที่เสริม BV และ BCV ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าอัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลงในทุกกลุ่มที่ใช้สารเสริมในช่วงอายุ 40-43 สัปดาห์ ($P<0.05$) และลดลงในกลุ่มที่เสริม BV และ BCV ในช่วงอายุ 44-47 สัปดาห์ และตลอดการทดลอง ($P<0.01$) อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลงอย่างชัดเจนในไก่ไข่ที่เสริมด้วย BV ในช่วงอายุ 40-43, 48-51 สัปดาห์ และตลอดการทดลอง ($P<0.01$)

คุณภาพไข่

ผลของการเสริม BC, BV และ BCV ในอาหารต่อคุณภาพไข่ไก่แสดงในตารางที่ 5 ความหนาของเปลือกไข่ที่อายุไก่ไข่ 43 สัปดาห์ มีค่าสูงสุดในกลุ่มที่เสริมด้วย BCV ($P<0.05$) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มที่ใช้สารเสริมที่อายุไก่ไข่ 47 และ 51 สัปดาห์ ($P<0.1$) ความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่อายุไก่ไข่ 51 สัปดาห์ มีค่าสูงสุดในกลุ่มที่เสริมด้วย BV ($P<0.10$) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มที่ใช้สารเสริมที่อายุไก่ไข่ 43 และ 47 สัปดาห์ ($P<0.10$) การเสริม BC, BV และ BCV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักฟองไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit ($P>0.05$)

อวัยวะภายในและลักษณะของลำไส้

ข้อมูลเกี่ยวกับน้ำหนักอวัยวะภายในและความยาวของลำไส้แสดงในตารางที่ 6 การเสริม BC, BV และ BCV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักของกระเพาะแท้ กระเพาะบด ตับ หัวใจ ลำไส้เล็ก และความยาวของลำไส้เล็ก ($P>0.05$) แต่การเสริม BC และ BCV ในอาหารมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในช่องท้องลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จำนวนของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

จำนวนของ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Lactobacillus* spp. ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) แสดงในตารางที่ 7 จำนวนของ *E. coli* มีแนวโน้มลดลงในทุกกลุ่มที่มีการใช้สารเสริม ($P<0.10$) การเสริม BV และ BCV ในอาหารมีผลทำให้จำนวนของ *Salmonella* spp. ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม

ควบคุม ($P<0.05$) การเสริม BV ในอาหารมีผลทำให้จำนวนของ *Lactobacillus* spp. เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 4. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ในช่วงอายุ 36-51 สัปดาห์

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Body weight change (g)	174.23	182.12	160.83	178.28	13.32	0.952
Egg production (%)						
36-39 weeks	90.40	91.37	93.04	91.34	0.53	0.380
40-43 weeks	90.54	91.47	90.94	89.73	0.78	0.891
44-47 weeks	90.32	91.54	92.41	90.07	0.46	0.297
48-51 weeks	87.35 ^b	88.37 ^{ab}	89.83 ^a	89.92 ^a	0.39	0.046
36-51 weeks	89.65	90.69	91.55	90.26	0.38	0.375
Egg weight (g)						
36-39 weeks	60.32	60.42	60.35	60.48	0.27	0.990
40-43 weeks	61.11	61.23	61.27	61.16	0.38	0.991
44-47 weeks	61.80	61.88	62.58	61.69	0.30	0.980
48-51 weeks	63.17	63.28	63.23	63.12	0.13	0.970
36-51 weeks	61.60	61.70	61.61	61.62	0.21	0.990
Egg mass (g/hen/day)						
36-39 weeks	54.53	55.20	56.15	55.24	0.42	0.647
40-43 weeks	55.33	56.01	55.71	54.88	0.66	0.941
44-47 weeks	55.81	56.64	57.83	55.56	0.42	0.662
48-51 weeks	55.18	55.92	56.80	56.75	0.28	0.126
36-51 weeks	55.22	55.96	56.40	55.62	0.34	0.692

ตารางที่ 4. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ในช่วงอายุ 36-51 สัปดาห์ (ต่อ)

Damaged egg rate (%)						
36-39 weeks	0.78	0.77	0.68	0.81	0.02	0.315
40-43 weeks	1.11 ^a	0.88 ^b	0.72 ^c	0.93 ^b	0.03	0.005
44-47 weeks	1.60 ^a	1.69 ^a	1.45 ^b	1.44 ^b	0.02	0.002
48-51 weeks	1.70 ^a	1.75 ^a	1.58 ^b	1.66 ^{ab}	0.02	0.009
36-51 weeks	1.30 ^a	1.27 ^{ab}	1.11 ^c	1.21 ^b	0.01	0.005
Feed intake (g/d)						
36-39 weeks	107.93	105.28	107.16	106.78	1.05	0.851
40-43 weeks	109.40	108.61	105.13	108.54	1.44	0.745
44-47 weeks	112.09	110.83	111.36	111.22	0.40	0.751
48-51 weeks	113.66	113.14	112.27	113.32	0.45	0.749
36-51 weeks	110.77	109.46	108.98	109.96	0.56	0.726
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)						
36-39 weeks	0.505	0.524	0.523	0.517	0.006	0.663
40-43 weeks	0.506	0.516	0.530	0.505	0.008	0.870
44-47 weeks	0.498	0.511	0.519	0.500	0.004	0.657
48-51 weeks	0.485	0.494	0.506	0.501	0.003	0.200
36-51 weeks	0.498	0.511	0.517	0.506	0.003	0.321

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

ตารางที่ 5. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อคุณภาพไข่ที่อายุ 39, 43, 47 และ 51 สัปดาห์

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC +		
				0.4% BV		
Egg weight (g)						
39 weeks	60.35	60.30	60.44	60.49	0.13	0.965
43 weeks	61.21	61.15	61.25	61.28	0.18	0.990
47 weeks	61.53	61.68	61.75	61.63	0.13	0.956
51 weeks	63.41	63.61	63.46	63.42	0.10	0.896
Eggshell weight (g)						
39 weeks	6.67	6.65	6.80	6.75	0.04	0.570
43 weeks	6.77	6.73	6.75	6.86	0.04	0.737
47 weeks	6.89	6.93	6.95	7.01	0.06	0.930
51 weeks	6.72	6.94	6.76	6.80	0.05	0.550
Eggshell percent (%)						
39 weeks	11.05	11.02	11.25	11.16	0.06	0.636
43 weeks	11.06	11.00	11.02	11.19	0.06	0.732
47 weeks	11.19	11.23	11.25	11.37	0.11	0.945
51 weeks	10.60	10.91	10.65	10.72	0.08	0.632
Eggshell thickness (mm)						
39 weeks	0.374	0.381	0.375	0.373	0.002	0.665
43 weeks	0.366 ^b	0.379 ^{ab}	0.373 ^{ab}	0.388 ^a	0.002	0.029
47 weeks	0.371	0.383	0.385	0.386	0.002	0.082
51 weeks	0.370	0.377	0.383	0.376	0.002	0.095
Eggshell strength (kg/cm ²)						
39 weeks	4.01	4.22	4.34	4.06	0.07	0.400
43 weeks	4.11	4.39	4.45	4.39	0.05	0.085
47 weeks	4.13	4.38	4.44	4.52	0.05	0.073

ตารางที่ 5. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อคุณภาพไข่ที่อายุ 39, 43, 47 และ 51 สัปดาห์ (ต่อ)

51 weeks	3.85 ^b	4.10 ^{ab}	4.29 ^a	4.12 ^{ab}	0.05	0.045
Albumen weight (g)						
39 weeks	39.01	39.01	38.80	38.99	0.18	0.976
43 weeks	38.53	38.55	38.44	38.56	0.17	0.995
47 weeks	38.99	38.97	38.93	39.00	0.19	0.990
51 weeks	40.29	40.39	40.31	40.35	0.17	0.997
Yolk weight (g)						
39 weeks	14.67	14.64	14.84	14.75	0.09	0.885
43 weeks	15.91	15.87	16.06	15.86	0.09	0.880
47 weeks	15.65	15.78	15.87	15.62	0.10	0.851
51 weeks	16.40	16.28	16.39	16.27	0.10	0.952
Yolk color score						
39 weeks	8.66	8.61	8.80	8.68	0.09	0.920
43 weeks	8.65	8.67	8.57	8.60	0.08	0.971
47 weeks	8.57	8.46	8.23	8.62	0.09	0.441
51 weeks	8.23	8.18	8.34	8.29	0.06	0.828
Haugh unit						
39 weeks	88.22	87.95	88.06	88.15	0.62	0.990
43 weeks	87.50	88.57	87.79	88.70	0.56	0.857
47 weeks	89.24	88.67	88.91	89.47	0.51	0.950
51 weeks	88.27	88.13	88.74	89.69	0.54	0.776

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

ตารางที่ 6. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน และความยาวของลำไส้เล็ก (g/100 g BW)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Live weight (g)	1,750.10	1,736.50	1,719.20	1,743.00	9.08	0.690
Proventriculus (%)	0.42	0.46	0.49	0.45	0.02	0.524
Gizzard (%)	1.50	1.38	1.63	1.52	0.05	0.421
Liver (%)	2.73	2.75	2.73	2.71	0.05	0.990
Heart (%)	0.49	0.48	0.50	0.53	0.02	0.884
Abdominal fat (%)	2.98 ^a	2.36 ^b	2.73 ^{ab}	2.48 ^b	0.08	0.045
Total intestinal weight (%)	2.72	2.45	2.78	2.57	0.08	0.574
Total intestinal length (cm)	141.80	146.30	141.90	152.50	2.82	0.530

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.

ตารางที่ 7. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ และการใช้ร่วมกันในอาหารต่อปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ (log₁₀ cfu/g of wet digesta)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
<i>Escherichia coli</i>	4.26	4.24	4.22	4.24	0.004	0.066
<i>Salmonella</i> spp.	3.89 ^a	3.86 ^{ab}	3.84 ^b	3.85 ^b	0.006	0.042
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.16 ^b	4.17 ^b	4.19 ^a	4.17 ^b	0.003	0.041

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

งานทดลองเมื่อเร็วๆ นี้ได้พบว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารที่ระดับ 0.4% มีผลทำให้ผลผลิตไข่และประสิทธิภาพการใช้อาหารของเป็ดไข่เพิ่มขึ้น (Rattanawut et al., 2019) และลดอัตราการแตกเสียหายของไข่ในไก่ไข่อายุมาก (Rattanawut et al., 2018) ในการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าผลผลิตไข่รวมตลอดการทดลองจะไม่ได้เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ใช้สารเสริม แต่การเสริม BV และ BCV ก็มีผลทำให้ผลผลิตไข่ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง (อายุไก่ไข่ 48-51 สัปดาห์) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม BV และ BCV ในระยะยาวสามารถช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตไข่ให้เพิ่มขึ้นได้ ผลดีของการเสริม BV และ BCV ในระยะยาวต่อผลผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจเกี่ยวข้องกับผลของน้ำส้มควันไม้ไฟและผงถ่านไม้ไฟต่อการปรับปรุงสุขภาพของลำไส้ซึ่งอาจจะช่วยทำให้การย่อยและการดูดซึมโภชนาการเพิ่มขึ้น น้ำส้มควันไม้ไฟประกอบด้วยสารที่มีประโยชน์หลากหลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์ ฟีนอล อัลดีไฮด์ คีโตน ฟิวแรน สารประกอบเฮเทอโรไซคลิก และแอลกอฮอล์ (Rattanawut et al., 2018) กรดอินทรีย์เป็นสารประกอบหลักที่พบในน้ำส้มควันไม้ไฟ กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยปรับเปลี่ยนความเป็นกรด-ด่าง และควบคุมความสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ นอกจากนี้กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไฟก็มีรายงานว่าช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะอาหาร (Samanta et al., 2010) และช่วยลดจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหาร (Jacela et al., 2009) ในขณะที่ถ่านไม้ไฟไม่มีรายงานว่ามีความสามารถในการดูดซับสารต่างๆ ได้มากกว่าถ่านไม้ทั่วๆ ไปเนื่องจากโครงสร้างที่เป็นรูพรุนเล็กๆ จำนวนมากของลำต้นไม้ไฟ (ChungPin et al., 2004) ดังนั้นถ่านไม้ไฟอาจจะช่วยดูดซับและกำจัดสารที่เป็นอันตรายในทางเดินอาหาร ซึ่งมีผลต่อเนื่องในการช่วยปรับปรุงการย่อยและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการ Watarai and Tana (2005) ได้รายงานว่า ถ่านกัมมันต์ที่ได้จากเปลือกไม้สามารถช่วยลดและขจัดซัลโมเนลลาในลำไส้ แต่มีผลกระทบน้อยต่อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ การเปลี่ยนแปลงในทางเดินอาหารที่กล่าวมาทั้งหมดจึงอาจมีผลช่วยทำให้การย่อยได้ของโภชนาการเพิ่มขึ้นและมีต่อเนื่องทำให้สมรรถภาพการผลิตไข่ในช่วงสุดท้ายของการทดลองเพิ่มขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริม BC เพียงอย่างเดียวไม่ได้ช่วยทำให้สมรรถภาพการผลิตไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งอาจจะมีผลเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารหลังจากการเสริม BC เนื่องจากผงถ่านไม้ไฟมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง (pH 8.5) ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อการย่อยได้ของโภชนาการและความสมดุลของแบคทีเรียในทางเดินอาหาร

ในการศึกษาครั้งนี้ อัตราการแตกเสียหายของไข่ตลอดการทดลองลดลงในกลุ่มที่เสริม BV และ BCV และลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่มที่เสริม BV การลดลงของไข่ที่แตกเสียหายอาจจะเกี่ยวข้องกับคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีขึ้นซึ่งประกอบด้วย ความหนาของเปลือกและความแข็งแรงของเปลือกไข่ ซึ่ง

ข้อมูลจากการทดลองพบว่า ความหนาเปลือกไข่ที่อายุไก่ไข่ 43 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม BCV และความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่อายุไก่ไข่ 51 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม BV มีรายงานว่า การเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารลดลงและเพิ่มการละลายของแคลเซียม ซึ่งทำให้ระดับของแคลเซียมในเลือดเพิ่มขึ้น และทำให้คุณภาพเปลือกไข่เพิ่มขึ้น (Abdel-Fattah et al., 2008; Soltan, 2008) นอกจากนี้ Sengor et al. (2007) ได้รายงานว่า การเสริมสารเพิ่มความเป็นกรดในอาหารไก่ฟาร์มพันธุ์ที่มีอายุมากมีผลทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุเพิ่มขึ้น และช่วยทำให้คุณภาพของเปลือกไข่ดีขึ้น Swiatkiewicz et al. (2010) พบว่า การลดความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารสามารถช่วยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์และช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในลำไส้ ในงานทดลองของ Kutlu et al. (2001) พบว่า อัตราการแตกเสียหายของไข่ลดลงเมื่อมีการเสริมผงถ่านไม้โอ๊คในอาหาร เนื่องจากในผงถ่านไม้มีแร่ธาตุต่างๆ อยู่จำนวนมาก ได้แก่ แคลเซียม โปแตสเซียม และแมกนีเซียม ดังนั้นจากข้อมูลการศึกษาครั้งนี้นั้น การเสริม BV อาจจะช่วยปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่โดยผ่านการลดความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหาร ช่วยเพิ่มการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ ในขณะที่การเสริม BCV ก็อาจจะมียุทธศาสตร์คล้ายคลึงกัน เนื่องจากการมีกรดที่รวมอยู่ใน BCV และอาจมีผลดีเพิ่มเติมจากการได้รับแร่ธาตุเพิ่มขึ้น การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริม BC และ BCV มีผลทำให้ไขมันในช่องท้องของไก่ไข่ลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Kutlu et al. (2001) ที่ได้รายงานว่า การเสริมผงถ่านในอาหารช่วยเพิ่มการขับออกของไขมันเนื่องจากผงถ่านช่วยดูดซับไขมันในอาหาร ดังนั้นการเสริมผงถ่านไม้ในอาหารในงานทดลองครั้งนี้จึงมีผลช่วยลดการสะสมของไขมันในร่างกายของไก่ไข่

ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริม BC, BV และ BCV ในอาหารมีแนวโน้มทำให้การเจริญของ *E. coli* ในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง การเสริม BV และ BCV มีผลทำให้ปริมาณของซัลโมเนลลาในลำไส้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริม BV มีผลทำให้จำนวนของ *Lactobacillus* spp. เพิ่มขึ้น ผลที่เกิดขึ้นอาจเกี่ยวข้องกับกรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไม่ผ่านการลดการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ในขณะเดียวกันก็ช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียที่ก่อโรค เช่น อีโคไล สเตปฟีโลคอคไค และซัลโมเนลลา จะชอบสภาพที่เป็นกลาง ไม่ทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะ ในขณะที่แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ตามปกติ เช่น เอนเทอโรคอคคัส ไบฟิโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัส จะสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด Vinus et al. (2017) ได้รายงานว่า แบคทีเรียที่ก่อโรคส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีที่ pH ประมาณ 7 หรือสูงกว่าเล็กน้อย ในขณะที่แบคทีเรียที่มีประโยชน์จะเจริญได้ดีในสภาวะกรด (pH 5.8-6.2) ดังนั้นการเสริมน้ำส้มควันไม้ในอาหารจึงสามารถลดความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหารและช่วยควบคุมแบคทีเรียในลำไส้ให้อยู่ในสภาพสมดุล นอกจากนี้การเสริม BV และ BCV ในอาหารอาจจะช่วยให้แบคทีเรียก่อโรคลดลงซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพของสัตว์ เมื่อสัตว์มีสุขภาพของระบบทางเดินอาหารที่ดีก็จะทำให้สามารถดูดซึมโภชนาการต่างๆ ได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อเนื่องในการช่วยเพิ่มสมรรถนะการผลิตของสัตว์ให้ดีขึ้น

นอกเหนือจากผลดีของกรดอินทรีย์ต่อการปรับปรุงสุขภาพของลำไส้แล้ว สารประกอบฟีนอลที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไฟก็มีรายงานว่า มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น อีโคไล และซัลโมเนลลา (Pacheco-Ordaz et al., 2017)

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากข้อมูลการทดลองสรุปได้ว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไฟ และการใช้ผงถ่านไม้ไฟร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไฟในอาหารในระยะเวลาที่ยาวนานมีผลช่วยเพิ่มสมรรถภาพการผลิตไข่ ลดอัตราการแตกเสียหายของไข่ และลดแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้เล็ก การเสริมผงถ่านไม้ไฟมีผลช่วยลดการสะสมของไขมันในช่องท้องของไก่ไข่

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.
- Anjaneyulu Y., P. Rama Rao and N.R. Gopal Naidu. 1993. Experimental aflatoxicosis and its
amelioration by activated charcoal in broiler chicken-study on performance and
haematology. *Journal of Veterinary and Animal Science*, 24: 51-54.
- Asada T., S. Ishihara, T. Yamane, A. Toba, A. Yamada and K. Oikawa. 2002. Science of
bamboo charcoal: study on carbonizing temperature of bamboo charcoal and removal
capability of harmful gases. *Journal of Health Science*, 48: 473-479.
- 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.
- Chu G.M., C.K. Jung, H.Y. Kim, J.H. Ha, J.H. Kim, M.S. Jung, S.J. Lee, Y. Song, R.I.H.
Ibrahim, J.H. Cho, S.S. Lee and Y.M. Song. 2013. Effects of bamboo charcoal and
bamboo vinegar as antibiotic alternatives on growth performance, immune responses
and fecal microflora population in fattening pigs. *Animal Science Journal*, 84: 113-120.
- ChungPin H., H. DehJen, W. Song Yung, S. Ingluen and K. Chunhan. 2004. Effect of
carbonization conditions on indoor air purification of bamboo charcoal. *Forest Products
Industries*, 23: 183-197.
- Hille M. and J.D. Ouden. 2005. Charcoal and activated carbon as adsorbate of phytotoxic
compounds – a comparative study. *Oikos*, 108: 202-207.
- Jacela J.Y., J.M. DeRouchey, M.D. Tokach, R.D. Goodband, J.L. Nelssen, D.G. Renter and
S.S. Dritz. 2009. Feed additives for swine: Fact sheets - acidifiers and antibiotics.
Journal of Swine Health and Production, 17: 270-275.

- Jiang S. 2004. Training Manual of Bamboo Charcoal for Producers and Consumers. Bamboo Engineering Research Center, Nanjing Forestry University. 54 p.
- Kitamura T. and H. Katayama. 2001. The effect of carbonizing conditions on the specific surface area of charcoal from sugi (*Cryptomeria japonica*) wood. *Mokuzai Gakkaishi*, 47: 164-170.
- Kutlu H.R., I. Unsal and M. Gorgulu. 2001. Effects of providing dietary wood (oak) charcoal to broiler chicks and laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 90: 213-226.
- Pacheco-Ordaz R., A. Wall-Medrano, M.G. Go-ni, G. Ramos-Clamont-Montfort, J.F. Ayala-Zavala and G.A. Gonz_alez-Aguilar. 2017. Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66: 25-31.
- 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. 2014. Effects of dietary bamboo charcoal powder including bamboo vinegar liquid supplementation on growth performance, fecal microflora population and intestinal morphology in Betong chickens. *Journal of Poultry Science*, 51: 165-171.
- Rattanawut J., D. Trairabeap, S.J. Karrila, P. Rodjan and Y. Theapparatt. 2019. Production performance, egg quality, and fecal bacterial population of laying ducks fed ration supplemented by bamboo vinegar. *Tropical Animal Science Journal*, 42: 224-229.
- Rattanawut J., O. Pimpa and K. Yamauchi. 2018. 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. *Animal Science Journal*, 89: 1572-1580.
- Ruttanavut J., K. Yamauchi, H. Goto and T. Erikawa. 2009. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on growth performance and histological intestinal change in Aigamo ducks. *International Journal of Poultry Science*, 8: 229-236.
- Samanta S., S. Haldar and T.K. Ghosh. 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology and small intestinal milieu. *Veterinary Medicine International*, 2010: 1-8.
- 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.
- 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.
- 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.
- Vinus S.N. and B.S. Tewatia. 2017. Organic acids as alternatives to antibiotic growth promoters in poultry. *Pharma Innovation Journal*, 6: 164-169.
- 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.
- Yang J.F., C.H. Yang, M.T. Liang, Z.J. Gao, Y.W. Wu and L.Y. Chuang. 2016. Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of wood vinegar from *Litchi chinensis*. *Molecules*. 21: 1-10.
- Zhao R.S., J.P. Yuan, T. Jiang, J.B. Shi and C.G. Cheng. 2008. Application of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the determination of atrazine and simazine in environmental water samples by high-performance liquid chromatography-ultraviolet detector. *Talanta*, 76: 956-959.

Tropical Animal Health and Production

Effects of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination in laying hens on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	TROP-D-20-01415R1	
Full Title:	Effects of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination in laying hens on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations	
Article Type:	Regular Articles	
Corresponding Author:	Jessada Rattanawut, Assistant Professor Prince of Songkla University Suratthani, THAILAND	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Prince of Songkla University	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Jessada Rattanawut, Assistant Professor	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Jessada Rattanawut, Assistant Professor	
	Opatt Pimpa, Associate Professor	
	Karthikeyan Venkatachalam	
	Koh-en Yamauchi, Professor	
Order of Authors Secondary Information:		
Funding Information:	Thailand Research Fund (MRG6280254)	Dr. Jessada Rattanawut

Answer for Reviewer's Comments (Manuscript ID TROP-D-20-01415)

"Effects of dietary supplementation of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations of laying hens"

Dear Editor and Reviewer (s)

Thank you for your supportive and constructive comments on our paper. We have carefully read through all the given comments and address it in the text, accordingly. In the following, you can find the responses to each comment. We hope it satisfy and fulfill your expectations.

Thank you.

Responses to Reviewer Comments:

Reviewer #1:

Title is too long to read so you must use short title

- We have reduced some wording in the title and made into shorter than before. (Line 1-2)

“Effects of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination in laying hens on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations”

Line 26: ...late feeding stage. Please give the period clearly.

- The details are included in the text, please see Line 25, page no. 2.

Line 27: Please chose only one significance level. You have chosen 0.05 and no need to give 0.01. Please change them as 0.05 throughout the text.

- We have changed the text according to reviewer suggestion and the significant level of 0.05 is now changed throughout in the text and highlighted in red.

Line 76-77: Each bird stored...Please change phrasing to express stocking density are floor area per bird. Suggestion would be:"...each replicate had 8 birds with a cage floor area of 900 cm² per bird".

- We have followed the reviewer suggestion and changed the text accordingly (Line 75-76).

Line 83. Are they analyzed by your Lab or taken from another source? Please make it clear.

- We have added new sentence in the text (Line 82-83).

“Composition of BC and flavor compounds of BV were analyzed in the university laboratory and the obtained results are given in Tables 2 and 3, respectively.”

Line 107: Please remove "and $P < 0.10$ was considered a tendency". If you definitely find valuable to mention "tendency", you may give actual P value within the text by saying that there was no significant difference between however, tended to improve ... (actual $P = .$).

- We have deleted $P < 0.10$ in the text (Line 107) and give actual P-value in the results (Line 123, 125 and 134).

**Effects of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination in laying hens
on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations**

Jessada Rattanawut¹ • Opart Pimpa¹ • Karthikeyan Venkatachalam¹ • Koh-en Yamauchi²

¹Faculty of Innovative Agriculture and Fishery Establishment Project, Prince of Songkla University, Surat
Thani Campus, Surat Thani, Thailand

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

Correspondence: Dr. J. Rattanawut, Faculty of Innovative Agriculture and Fishery Establishment Project,
Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand.
(E-mail: jassada.r@psu.ac.th)

Abstract

This experiment examines the effects of bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV), and their combination (BCV) in the diet of laying hens on performance, egg quality, relative organ weights, and intestinal bacterial populations. A total of 320 laying hens (36 weeks of age) were divided into 4 treatment groups, with 10 replicates per treatment and 8 hens per replicate. They were fed on a control diet, the control diet supplemented with 0.8% BC, the control diet supplemented with 0.4% BV or the control diet supplemented with a combination of BC (0.8%) and BV (0.4%) from 36 to 51 weeks of age. Egg production increased in the hens fed the BV and BCV diets during 48 to 51 weeks of age ($P < 0.05$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the BV and BCV diets for the whole experiment ($P < 0.05$). Shell thickness was highest in the BCV-fed group at week 43, and shell strength was higher in the BV-fed group at week 51 ($P < 0.05$). Supplementation of BC or BCV in the diet resulted in a decreased abdominal fat pad ($P < 0.05$). In the ileal content, the population of *Salmonella* spp. decreased in the BV and BCV groups and the population of *Lactobacillus* spp. increased in the BV group ($P < 0.05$). The present results indicate that feeding BV or BCV alleviates damaged egg rate and decreases intestinal pathogenic bacteria, while feeding BC benefits by reducing abdominal fat. These results suggest that the effect of BCV seems to be induced by the synergistic effect of BC and BV, and that the BCV contributes to the effective use of bamboo on the laying hen's production.

Keywords Bamboo charcoal • Bamboo vinegar • Ileal microflora • Intestine • Laying hen

37 Introduction

38 The eggshell is known to be important to strengthen eggs and to protect the egg content from the
39 microbial. Some eggs are broken during transportation from farm to market. Such broken eggs cause
40 economic damage due to no keeping a high egg quality. Therefore, the egg must be enough hardness to
41 resist all processes from laying to arrive to the consumer. Besides, with the aging of hens, eggshell quality
42 decreases due to reductions of the 1- α -hydroxylase (the enzyme responsible for the activation of vitamin
43 D metabolite in the kidneys) and the efficiency of calcium absorption as well as by the larger size of the
44 eggs produced by these older layers (Pizzolante et al. 2009). To improve these disadvantages of egg
45 quality, chemical medicines, and supplemented antibiotics in the diet have been used worldwide.
46 However, the continued use of antibiotics has induced the development of drug-resistant bacteria inside
47 the poultry body. Therefore, alternatives are being developed to launch a good way to produce safety and
48 secure meat and eggs using natural resources without using chemicals.

49 Many bamboos are distributed in Southeast Asia, and its carbon had effectively traditionally
50 used in swidden agriculture (slash-and-burn agriculture) for fertilizing the soil. After swidden agriculture
51 was banned, bamboo has been wasted without effectively using except pulp material, etc. In the livestock
52 industry, bamboo charcoal powder (BC) is used as a deodorant effect due to its ammonia adsorption
53 power (Asada et al. 2006). Bamboo vinegar (BV) is a brown-red transparent liquid produced during the
54 pyrolysis of bamboo charcoal and contains more than 200 accessory ingredients, including organic acids,
55 phenolic compounds, alcohols, furans, aldehydes and ketones (Mu et al. 2004). A commercial mixture
56 (BCV) of BC and BV has been formulated and tested as an animal feed supplement, and it has a positive
57 influence on duck growth (Ruttanavut et al. 2009) as well as on layer performance (Yamauchi et al.
58 2010). As this product is a mixture of BC and BV, it is not yet clear whether these improved poultry
59 performance results were due directly to an effect of one of them or to a combined effect of both
60 substances. Besides, it is necessary to reduce production costs because BCV production takes a lot of time
61 and cost. To our knowledge, no work has yet published on the effect of dietary BC alone feeding in
62 poultry except that the higher than 1% dietary wood (oak) charcoal diet decreased feed intake (Kutlu et al.
63 2001), although 0.4% dietary BV diet improved performance in egg-laying ducks (Rattanawut et al.
64 2019).

The purpose of this experiment was, therefore, to investigate the effects of 0.8% dietary BC, 0.4% dietary BV and dietary BCV diets of their mixture on egg production performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations in laying hens, and to demonstrate which of these three components improves best for production performance.

Materials and methods

Birds and management

All the conducted experimental methods were approved by the Animal Care and Use Committee of Prince of Songkla University. A total of 320 Hisex Brown hens (36-week-old) with similar mean body weights and egg production levels were randomly obtained. The laying hens were divided into four groups (group 1-4) and each group comprised of 10 replicates, and each replicate had 8 birds with a cage floor area of 900 cm² per bird. During the experiment, the hens had free access to mash feed and water (from nipple drinkers), and hens were exposed under light for 16 hours and were exposed for 8 hours under dark conditions. Laying hens were fed with diet in the following directions: group 1 hens were fed with basal diet (Table 1) and are considered as control, group 2 hens were fed with basal diet + BC (0.8%), group 3 hens were fed with basal diet + BV (0.4%), and group 4 hens were fed with basal diet + BC (0.8%) + BV (0.4%). Commercial BC (pH = 8.5) and BV (pH = 3.0) were purchased from a company located in Prachinburi province, Thailand. Composition of BC and flavor compounds of BV were analyzed in the university laboratory and the obtained results are given in Tables 2 and 3, respectively. Hens were fed for a total period of 16 weeks. Every 4 weeks of an interval, the hens and their eggs were measured of the following experiments.

Laying performance and egg quality

Body weight of hens was measured using an electronic weighing balance, and the weight was recorded at the beginning and the end of experiments (at 36 and 51 weeks of age, respectively). The results were expressed as body weight change (g). Laying performance such as feed intake (g), feed efficiency, egg production (%), egg weight (g), egg mass (g per hen per day), damaged egg rate (%) was measured based on the method of Rattanawut et al. (2018). Egg quality such as whole egg weight (g), eggshell strength (kg per cm²) and thickness (mm), eggshell weight (g), albumen weight (g), yolk weight (g), yolk color score, and egg's Haugh unit were measured in accordance with the method of Rattanawut et al. (2019).

Protocol for gross anatomical evaluation of the visceral organs

At the end of feeding period, 5 laying hens with body weight close to the mean were selected from each group, weighed and euthanized. Subsequently, the abdominal fat, heart, liver, proventriculus, gizzard and the small intestines were collected to observe gross anatomical changes. The weight of empty organs was expressed relative to 100 g body weight and whole intestinal lengths are expressed in centimeters.

Intestinal microflora analyses

At the end of the experiment, Ileal digesta contents (5 samples/diet) were collected from the hens and measured of the intestinal microflora such as *E. coli*, *Salmonella* spp., and *Lactobacillus* spp. were measured using the method of Rattanawut et al. (2018). The obtained colonies of each sample were counted, and the results were expressed in log₁₀ CFU per gram of fresh weight.

Statistical analysis

The results are shown in the tables as the mean with standard errors. The collected experimental data were analyzed statistically using a one-way analysis of variance (ANOVA) at a level of $P < 0.05$ as significant. The differences of mean between the treatments and control were measured by Duncan's multiple range test using the SPSS program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Laying performance

The layer performance results are presented in Table 4. Body weight changes, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency were non significantly differed among the different groups ($P > 0.05$). Although overall egg production did not show a statistically significant difference, the egg production was found higher in all the treatments as compared to control, and the changes were exhibited in the hens that fed with BV and BCV diets during the late feeding stage (48-51 weeks of age) ($P < 0.05$). The damaged egg rate decreased in all treated groups during the 40-43 weeks-of-age period ($P < 0.05$) and decreased in BV and BCV groups during 44-47 weeks-of-age ($P < 0.05$) as compared to the control groups. The rate of the damaged egg was strongly reduced in the hens fed with the BV diet during the period between the 40-43, 48-51 weeks-of-age, and the whole period ($P < 0.05$).

Egg quality traits

The dietary effect of BC, BV, and BCV supplementation on egg quality in laying hens are given in Table 5. Eggshell thickness was higher for hens fed with the BCV diet during week 43 ($P < 0.05$) and tended to increase in all supplemented groups at weeks 47 ($P = 0.082$) and 51 ($P = 0.095$). Eggshell strength was the highest in the BV-fed group at week 51 ($P < 0.05$) and tended to increase in all supplemented groups at weeks 43 ($P = 0.085$) and 47 ($P = 0.073$). Non-significant differences were observed in the treated and control sample on whole egg weight, eggshell weight, albumen weight, yolk weight, yolk color, and Haugh unit ($P > 0.05$).

Visceral organs and intestinal morphology

Data of visceral organs are shown in Table 6. Supplementation of BC or BCV in the diet resulted in a decreased abdominal fat pad ($P < 0.05$). Non-significant differences were observed between the groups concerning proventriculus, gizzard, liver, heart, intestinal weight, or intestinal length ($P > 0.05$).

Ileal microflora population

As presented in Table 7, the population of ileal *E. coli* tended to decrease in all supplemented groups ($P = 0.066$). The *Salmonella* spp. numbers were significantly reduced in BV and BCV groups when compared with control ($P < 0.05$). The number of *Lactobacillus* spp. significantly increased in the hens fed BV diet ($P < 0.05$).

Discussion

Although the overall egg production was not improved in all the treated groups, this study found that the hens fed with the BV and BCV diets during the late feeding stage (48-51 weeks of age), had significantly increased the egg production. These results reveal that long-term feeding of BV or BCV diets can increase the egg production performance of hens. The addition of BV and BCV as the feed supplement for the long term could improve the hen's gut health and thus consequently, improved egg production. BV contains many ingredients, including organic acids, phenols, aldehydes, ketones, furans, heterocyclic

aromatic compounds, and alcohols (Rattanawut et al. 2018). The main components in BV are organic acids, particularly acetic acid, which played a key role in modifying the pH and balanced the microflora in the intestines. Samanta et al. (2010) found that the addition of BV could increase the gastric proteolysis effect and protein digestibility in the hen guts. In another study, Jacela et al. (2009) observed that the use of BV as a feed supplement had significantly reduced the pathogenic bacteria in the gut. Many studies have proved that the BC has a higher absorption capacity than the general wood charcoal and BC could effectively absorb and eliminate the noxious substances and helped improve the absorption of nutrients from feed and its digestibility in the gastrointestinal tract of the hen (ChungPin et al. 2004; Watarai and Tana, 2005).

In our study, feeding BC alone did not improve egg production when compared to the control group. This might be related to an increase in gut pH after feeding BC, which could adversely affect the nutrient digestion and equilibrium of bacterial flora in the gastrointestinal tract. On the other hand, the overall damaged egg rate was considerably reduced in the hens when fed with BV and BCV diets, and these positive effects were most pronounced in the case of BV. A lower level of damaged egg rate by BV and BCV supplements was correlated with the increased eggshell quality, especially the shell thickness and shell strength. An increase of eggshell thickness was noticed when the hens fed with the BCV diet at week 43, and on the other hand, a significant improvement in the eggshell strength was a notice on week 51 when the hen fed with BV. Studies have reported that the minerals particularly Ca plays a significant role in the improvement of eggshell quality and the addition of organic acids as the feed supplement in the hen diet could adjust the intestinal pH and as well as the Ca solubility and absorbability (Abdel-Fattah et al. 2008; Soltan 2008; Sengor et al. 2007; Park et al. 2002). Swiatkiewicz et al. (2010) also reported that the pH reduction in the hen gastrointestinal tract could increase the activity of digestive enzymes and increase the utilization of calcium and phosphorus in the intestine. Kutlu et al. (2001) found that the feeding wood charcoal in hen diet improved mineral intake particularly calcium, potassium, and magnesium and thus, reduced the incidence of cracked eggs and their study also found that feeding wood charcoal could control fat deposition in the hen abdomen by promoting the fat excretion from the body. This is in accordance with this present study. The population of ileal *E. coli* tended to decrease in all supplemented groups, and the count of *Salmonella* spp. was significantly reduced in BV and BCV groups while the population of *Lactobacillus* spp. increased in the BV fed group. This could be due to the effect

of organic acids from BV, which promotes the growth of beneficial bacteria to dominate against the pathogenic bacteria in the gastrointestinal tract. Generally, most of the pathogenic bacteria, particularly neutrophils (*E. coli*, *staphylococci*, and *Salmonella* spp.) could not be able to live in the acidic pH conditions of the gut, whereas the growth of beneficial bacterial flora such as *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum*, and *Lactobacillus* spp. is enhanced by acidic conditions (Vinus et al. 2017). BV added in the hen diets could maintain a lower level of pH in the gastric contents and subsequently alter the intestinal microflora and improved the positive effect on the hen's health. Improvement of the intestinal health in laying hens may optimize nutrient absorption and thus improve production performance. In addition to the beneficial effects of organic acid on improving intestinal health, the phenolic compounds in bamboo vinegar reportedly have antibacterial activity against Gram-negative bacteria like *E. coli* and *S. Typhimurium* (Pacheco-Ordaz et al. 2017).

According to the results of the current study, feeding of BV and BCV could improve egg production performance in the late feeding stage and decrease the rate of damaged eggs, while feeding of BC could decrease abdominal fat of laying hens. These results suggest that the effect of BCV seems to be induced by the synergistic effect of BC and BV, and that the BCV contributes to the effective use of bamboo on the laying hen's production.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Office of the Higher Education Commission and the Thai Research Fund under Grant No. MRG6280254. The authors would like to thank Associate Professor Seppo Karrila, Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, for critical review on the manuscript prior to submission.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest: Authors declare that they have no conflict of interest.

198 **References**

- 199 Abdel-Fattah, S.A., El-Sanhoury, M.H., El-Mednay, N.M., Abdel-Azeem, F., 2008. Thyroid activity,
200 some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental
201 organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7, 215-222.
- 202 Asada, T., Ohkubo, T., Kawada, K., Oikawa, K., 2006. Ammonia adsorption on bamboo charcoal with
203 acid treatment. *Journal of Health Sciences*, 52, 585-589.
- 204 ChungPin, H., DehJen, H., Song Yung, W., Ingluen, S., Chunhan, K., 2004. Effect of carbonization
205 conditions on indoor air purification of bamboo charcoal. *Forest Products Industries*, 23, 183-
206 197.
- 207 Jacela, J.Y., DeRouchey, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Renter, D.G., Dritz, S.S.,
208 2009. Feed additives for swine: Fact sheets - acidifiers and antibiotics. *Journal of Swine Health*
209 and Production, 17, 270-275.
- 210 Kutlu, H.R., Unsal, I., Gorgulu, M., 2001. Effects of providing dietary wood (oak) charcoal to broiler
211 chicks and laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 90, 213-226.
- 212 Mu, J., Uehara, T., Furuno, T., 2004. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radical
213 growth of seed plants II: composition of Moso bamboo vinegar at different collection
214 temperature and its effects. *Journal of Wood Science*, 50, 470-476.
- 215 Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Go-ni1, M.G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala1, J.F.,
216 Gonz_alez-Aguilar, G.A., 2017. Effect of phenolic compounds on the growth of selected
217 probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66, 25-31.
- 218 Park, J.H., Park, G.H., Ryu, K.S., 2002. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on
219 performance and egg quality of laying hens. *Korean Journal of Poultry Science*, 29, 109-115.
- 220 Pizzolante, C.C., Saldanha, E.S.P.B., Lagana, C., Kakimoto, S.K., Togashi, C.K., 2009. Effects of
221 calcium levels and limestone particle size on the egg quality of semi-heavy layers in their second
222 production cycle. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 11, 79-86.
- 223 Rattanawut, J., Pimpa, O., Yamauchi, K., 2018. Effects of dietary bamboo vinegar supplementation on
224 performance, eggshell quality, ileal microflora composition, and intestinal villus morphology of
225 laying hens in the late phase of production. *Animal Science Journal*, 89: 1572-1580.
- 226 Rattanawut, J., Trairabeap, D., Karrila, S.J., Rodjan, P., Theapparat, Y., 2019. Production performance,

- egg quality, and fecal bacterial population of laying ducks fed ration supplemented by bamboo vinegar. *Tropical Animal Science Journal*, 42, 224-229.
- Ruttanavut, J., Yamauchi, K., Goto, H., Erikawa, T., 2009. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on growth performance and histological intestinal change in Aigamo ducks. *International Journal of Poultry Science*, 8, 229-236.
- Samanta, S., Haldar, S., Ghosh, T.K., 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology and small intestinal milieu. *Veterinary Medicine International*, 2010, 1-8.
- 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.
- 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.
- Vinus, S.N., Tewatia, B.S., 2017. Organic acids as alternatives to antibiotic growth promoters in poultry. *Pharma Innovation Journal*, 6, 164-169.
- Watarai, S., 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., Ruttanavut, J., Takenoyama, S., 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.

252 **Table 1** Feed formulation and chemical composition of the basal diet

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.98
Soybean meal (44% CP)	25.33
Rice bran	4.00
Fish meal (55% CP)	2.00
Oyster shell	8.56
Dicalcium phosphate	1.94
Plant oil	3.49
DL-Methionine	0.10
Salt	0.30
Premix ¹	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.0
Metabolizable energy (kcal/kg)	2820
Crude fiber	3.54
Crude fat	6.45
Calcium	4.10
Available phosphorus	0.42
Lysine	0.91
Methionine	0.38

¹Premix: 20.0 MIU vitamin A, 4.0 MIU vitamin D₃, 22,000 IU vitamin E, 4 g vitamin K₃, 5 g vit B₁, 10 g vitamin B₂, 6 g vitamin B₆, 0.06 g vitamin B₁₂, 15 g vitamin C, 20 g panthothenic acid, 50 g nicothenic acid, 3 g folic acid, 0.24 g biotin, 23.25 g feed additives, 0.15 g preservatives, up to 1 kg carrier.

256
257

258

259

260

261

262

263

264

265 **Table 2** Composition of bamboo charcoal powder (as-fed basis)

Item	Composition (%)
Moisture	7.50
Ash	4.92
Carbon	62.94
Nitrogen	0.41
Hydrogen	0.03
Gross energy (kcal/kg)	5,540

266

267

268 **Table 3** Chemical constituents of the bamboo vinegar analyzed by GC-MS

Compound	Relative concentration (%)
Organic acids	69.49
Phenol derivatives	7.08
Alcohols	6.80
Furans	3.84
Heterocyclic aromatic compounds	3.31
Aldehyde and ketones	3.12
Methoxy phenol derivatives	2.44
Other compounds	1.44

269

270

Table 4 Effects of bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination on performance of laying hens during 36-51 weeks of age

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Body weight change (g)	174.23	182.12	160.83	178.28	13.32	0.952
Egg production (%)						
36-39 weeks	90.40	91.37	93.04	91.34	0.53	0.380
40-43 weeks	90.54	91.47	90.94	89.73	0.78	0.891
44-47 weeks	90.32	91.54	92.41	90.07	0.46	0.297
48-51 weeks	87.35 ^b	88.37 ^{ab}	89.83 ^a	89.92 ^a	0.39	0.046
36-51 weeks	89.65	90.69	91.55	90.26	0.38	0.375
Egg weight (g)						
36-39 weeks	60.32	60.42	60.35	60.48	0.27	0.990
40-43 weeks	61.11	61.23	61.27	61.16	0.38	0.991
44-47 weeks	61.80	61.88	62.58	61.69	0.30	0.980
48-51 weeks	63.17	63.28	63.23	63.12	0.13	0.970
36-51 weeks	61.60	61.70	61.61	61.62	0.21	0.990
Egg mass (g/hen/day)						
36-39 weeks	54.53	55.20	56.15	55.24	0.42	0.647
40-43 weeks	55.33	56.01	55.71	54.88	0.66	0.941
44-47 weeks	55.81	56.64	57.83	55.56	0.42	0.662
48-51 weeks	55.18	55.92	56.80	56.75	0.28	0.126
36-51 weeks	55.22	55.96	56.40	55.62	0.34	0.692
Damaged egg rate (%)						
36-39 weeks	0.78	0.77	0.68	0.81	0.02	0.315
40-43 weeks	1.11 ^a	0.88 ^b	0.72 ^c	0.93 ^b	0.03	0.005
44-47 weeks	1.60 ^a	1.69 ^a	1.45 ^b	1.44 ^b	0.02	0.002
48-51 weeks	1.70 ^a	1.75 ^a	1.58 ^b	1.66 ^{ab}	0.02	0.009
36-51 weeks	1.30 ^a	1.27 ^{ab}	1.11 ^c	1.21 ^b	0.01	0.005
Feed intake (g/d)						

36-39 weeks	107.93	105.28	107.16	106.78	1.05	0.851
40-43 weeks	109.40	108.61	105.13	108.54	1.44	0.745
44-47 weeks	112.09	110.83	111.36	111.22	0.40	0.751
48-51 weeks	113.66	113.14	112.27	113.32	0.45	0.749
36-51 weeks	110.77	109.46	108.98	109.96	0.56	0.726
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)						
36-39 weeks	0.505	0.524	0.523	0.517	0.006	0.663
40-43 weeks	0.506	0.516	0.530	0.505	0.008	0.870
44-47 weeks	0.498	0.511	0.519	0.500	0.004	0.657
48-51 weeks	0.485	0.494	0.506	0.501	0.003	0.200
36-51 weeks	0.498	0.511	0.517	0.506	0.003	0.321

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Egg weight (g)						
39 weeks	60.35	60.30	60.44	60.49	0.13	0.965
43 weeks	61.21	61.15	61.25	61.28	0.18	0.990
47 weeks	61.53	61.68	61.75	61.63	0.13	0.956
51 weeks	63.41	63.61	63.46	63.42	0.10	0.896
Eggshell weight (g)						
39 weeks	6.67	6.65	6.80	6.75	0.04	0.570
43 weeks	6.77	6.73	6.75	6.86	0.04	0.737
47 weeks	6.89	6.93	6.95	7.01	0.06	0.930
51 weeks	6.72	6.94	6.76	6.80	0.05	0.550
Eggshell thickness (mm)						
39 weeks	0.374	0.381	0.375	0.373	0.002	0.665
43 weeks	0.366 ^b	0.379 ^{ab}	0.373 ^{ab}	0.388 ^a	0.002	0.029
47 weeks	0.371	0.383	0.385	0.386	0.002	0.082
51 weeks	0.370	0.377	0.383	0.376	0.002	0.095
Eggshell strength (kg/cm ²)						
39 weeks	4.01	4.22	4.34	4.06	0.07	0.400
43 weeks	4.11	4.39	4.45	4.39	0.05	0.085
47 weeks	4.13	4.38	4.44	4.52	0.05	0.073
51 weeks	3.85 ^b	4.10 ^{ab}	4.29 ^a	4.12 ^{ab}	0.05	0.045
Albumen weight (g)						
39 weeks	39.01	39.01	38.80	38.99	0.18	0.976
43 weeks	38.53	38.55	38.44	38.56	0.17	0.995
47 weeks	38.99	38.97	38.93	39.00	0.19	0.990
51 weeks	40.29	40.39	40.31	40.35	0.17	0.997
Yolk weight (g)						

39 weeks	14.67	14.64	14.84	14.75	0.09	0.885
43 weeks	15.91	15.87	16.06	15.86	0.09	0.880
47 weeks	15.65	15.78	15.87	15.62	0.10	0.851
51 weeks	16.40	16.28	16.39	16.27	0.10	0.952
Yolk color score						
39 weeks	8.66	8.61	8.80	8.68	0.09	0.920
43 weeks	8.65	8.67	8.57	8.60	0.08	0.971
47 weeks	8.57	8.46	8.23	8.62	0.09	0.441
51 weeks	8.23	8.18	8.34	8.29	0.06	0.828
Haugh unit						
39 weeks	88.22	87.95	88.06	88.15	0.62	0.990
43 weeks	87.50	88.57	87.79	88.70	0.56	0.857
47 weeks	89.24	88.67	88.91	89.47	0.51	0.950
51 weeks	88.27	88.13	88.74	89.69	0.54	0.776

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

Table 6 Effects of dietary bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination on relative organ weights of laying hens (g/100 g BW)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Live weight (g)	1,750.10	1,736.50	1719.20	1,743.00	9.08	0.690
Proventriculus (%)	0.42	0.46	0.49	0.45	0.02	0.524
Gizzard (%)	1.50	1.38	1.63	1.52	0.05	0.421
Liver (%)	2.73	2.75	2.73	2.71	0.05	0.990
Heart (%)	0.498	0.480	0.504	0.534	0.02	0.884
Abdominal fat (%)	2.98 ^a	2.36 ^b	2.73 ^{ab}	2.48 ^b	0.08	0.045
Total intestinal weight (%)	2.72	2.45	2.78	2.57	0.08	0.574
Total intestinal length (cm)	141.80	146.30	141.90	152.50	2.82	0.530

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.

Table 7 Ileal microflora counts of hens fed dietary bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
<i>Escherichia coli</i>	4.26	4.24	4.22	4.24	0.004	0.066
<i>Salmonella</i> spp.	3.89 ^a	3.86 ^{ab}	3.84 ^b	3.85 ^b	0.006	0.042
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.16 ^b	4.17 ^b	4.19 ^a	4.17 ^b	0.003	0.041

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.

**Effects of bamboo charcoal powder, bamboo vinegar and their combination in laying hens
on performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations**

Jessada Rattanawut¹ • Opart Pimpa¹ • Karthikeyan Venkatachalam¹ • Koh-en Yamauchi²

¹Faculty of Innovative Agriculture and Fishery Establishment Project, Prince of Songkla University, Surat
Thani Campus, Surat Thani, Thailand

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

Correspondence: Dr. J. Rattanawut, Faculty of Innovative Agriculture and Fishery Establishment Project,
Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand.
(E-mail: jassada.r@psu.ac.th)

Abstract

This experiment examines the effects of bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV), and their combination (BCV) in the diet of laying hens on performance, egg quality, relative organ weights, and intestinal bacterial populations. A total of 320 laying hens (36 weeks of age) were divided into 4 treatment groups, with 10 replicates per treatment and 8 hens per replicate. They were fed on a control diet, the control diet supplemented with 0.8% BC, the control diet supplemented with 0.4% BV or the control diet supplemented with a combination of BC (0.8%) and BV (0.4%) from 36 to 51 weeks of age. Egg production increased in the hens fed the BV and BCV diets during 48 to 51 weeks of age ($P < 0.05$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the BV and BCV diets for the whole experiment ($P < 0.05$). Shell thickness was highest in the BCV-fed group at week 43, and shell strength was higher in the BV-fed group at week 51 ($P < 0.05$). Supplementation of BC or BCV in the diet resulted in a decreased abdominal fat pad ($P < 0.05$). In the ileal content, the population of *Salmonella* spp. decreased in the BV and BCV groups and the population of *Lactobacillus* spp. increased in the BV group ($P < 0.05$). The present results indicate that feeding BV or BCV alleviates damaged egg rate and decreases intestinal pathogenic bacteria, while feeding BC benefits by reducing abdominal fat. These results suggest that the effect of BCV seems to be induced by the synergistic effect of BC and BV, and that the BCV contributes to the effective use of bamboo on the laying hen's production.

Keywords Bamboo charcoal • Bamboo vinegar • Ileal microflora • Intestine • Laying hen

37 Introduction

38 The eggshell is known to be important to strengthen eggs and to protect the egg content from the
39 microbial. Some eggs are broken during transportation from farm to market. Such broken eggs cause
40 economic damage due to no keeping a high egg quality. Therefore, the egg must be enough hardness to
41 resist all processes from laying to arrive to the consumer. Besides, with the aging of hens, eggshell quality
42 decreases due to reductions of the 1- α -hydroxylase (the enzyme responsible for the activation of vitamin
43 D metabolite in the kidneys) and the efficiency of calcium absorption as well as by the larger size of the
44 eggs produced by these older layers (Pizzolante et al. 2009). To improve these disadvantages of egg
45 quality, chemical medicines, and supplemented antibiotics in the diet have been used worldwide.
46 However, the continued use of antibiotics has induced the development of drug-resistant bacteria inside
47 the poultry body. Therefore, alternatives are being developed to launch a good way to produce safety and
48 secure meat and eggs using natural resources without using chemicals.

49 Many bamboos are distributed in Southeast Asia, and its carbon had effectively traditionally
50 used in swidden agriculture (slash-and-burn agriculture) for fertilizing the soil. After swidden agriculture
51 was banned, bamboo has been wasted without effectively using except pulp material, etc. In the livestock
52 industry, bamboo charcoal powder (BC) is used as a deodorant effect due to its ammonia adsorption
53 power (Asada et al. 2006). Bamboo vinegar (BV) is a brown-red transparent liquid produced during the
54 pyrolysis of bamboo charcoal and contains more than 200 accessory ingredients, including organic acids,
55 phenolic compounds, alcohols, furans, aldehydes and ketones (Mu et al. 2004). A commercial mixture
56 (BCV) of BC and BV has been formulated and tested as an animal feed supplement, and it has a positive
57 influence on duck growth (Ruttanavut et al. 2009) as well as on layer performance (Yamauchi et al.
58 2010). As this product is a mixture of BC and BV, it is not yet clear whether these improved poultry
59 performance results were due directly to an effect of one of them or to a combined effect of both
60 substances. Besides, it is necessary to reduce production costs because BCV production takes a lot of time
61 and cost. To our knowledge, no work has yet published on the effect of dietary BC alone feeding in
62 poultry except that the higher than 1% dietary wood (oak) charcoal diet decreased feed intake (Kutlu et al.
63 2001), although 0.4% dietary BV diet improved performance in egg-laying ducks (Rattanawut et al.
64 2019).

The purpose of this experiment was, therefore, to investigate the effects of 0.8% dietary BC, 0.4% dietary BV and dietary BCV diets of their mixture on egg production performance, egg quality, relative organ weights and intestinal bacterial populations in laying hens, and to demonstrate which of these three components improves best for production performance.

Materials and methods

Birds and management

All the conducted experimental methods were approved by the Animal Care and Use Committee of Prince of Songkla University. A total of 320 Hisex Brown hens (36-week-old) with similar mean body weights and egg production levels were randomly obtained. The laying hens were divided into four groups (group 1-4) and each group comprised of 10 replicates, and each replicate had 8 birds with a cage floor area of 900 cm² per bird. During the experiment, the hens had free access to mash feed and water (from nipple drinkers), and hens were exposed under light for 16 hours and were exposed for 8 hours under dark conditions. Laying hens were fed with diet in the following directions: group 1 hens were fed with basal diet (Table 1) and are considered as control, group 2 hens were fed with basal diet + BC (0.8%), group 3 hens were fed with basal diet + BV (0.4%), and group 4 hens were fed with basal diet + BC (0.8%) + BV (0.4%). Commercial BC (pH = 8.5) and BV (pH = 3.0) were purchased from a company located in Prachinburi province, Thailand. Composition of BC and flavor compounds of BV were analyzed in the university laboratory and the obtained results are given in Tables 2 and 3, respectively. Hens were fed for a total period of 16 weeks. Every 4 weeks of an interval, the hens and their eggs were measured of the following experiments.

Laying performance and egg quality

Body weight of hens was measured using an electronic weighing balance, and the weight was recorded at the beginning and the end of experiments (at 36 and 51 weeks of age, respectively). The results were expressed as body weight change (g). Laying performance such as feed intake (g), feed efficiency, egg production (%), egg weight (g), egg mass (g per hen per day), damaged egg rate (%) was measured based on the method of Rattanawut et al. (2018). Egg quality such as whole egg weight (g), eggshell strength (kg per cm²) and thickness (mm), eggshell weight (g), albumen weight (g), yolk weight (g), yolk color score, and egg's Haugh unit were measured in accordance with the method of Rattanawut et al. (2019).

Protocol for gross anatomical evaluation of the visceral organs

At the end of feeding period, 5 laying hens with body weight close to the mean were selected from each group, weighed and euthanized. Subsequently, the abdominal fat, heart, liver, proventriculus, gizzard and the small intestines were collected to observe gross anatomical changes. The weight of empty organs was expressed relative to 100 g body weight and whole intestinal lengths are expressed in centimeters.

Intestinal microflora analyses

At the end of the experiment, Ileal digesta contents (5 samples/diet) were collected from the hens and measured of the intestinal microflora such as *E. coli*, *Salmonella* spp., and *Lactobacillus* spp. were measured using the method of Rattanawut et al. (2018). The obtained colonies of each sample were counted, and the results were expressed in log₁₀ CFU per gram of fresh weight.

Statistical analysis

The results are shown in the tables as the mean with standard errors. The collected experimental data were analyzed statistically using a one-way analysis of variance (ANOVA) at a level of $P < 0.05$ as significant. The differences of mean between the treatments and control were measured by Duncan's multiple range test using the SPSS program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Laying performance

The layer performance results are presented in Table 4. Body weight changes, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency were non significantly differed among the different groups ($P > 0.05$). Although overall egg production did not show a statistically significant difference, the egg production was found higher in all the treatments as compared to control, and the changes were exhibited in the hens that fed with BV and BCV diets during the late feeding stage (48-51 weeks of age) ($P < 0.05$). The damaged egg rate decreased in all treated groups during the 40-43 weeks-of-age period ($P < 0.05$) and decreased in BV and BCV groups during 44-47 weeks-of-age ($P < 0.05$) as compared to the control groups. The rate of the damaged egg was strongly reduced in the hens fed with the BV diet during the period between the 40-43, 48-51 weeks-of-age, and the whole period ($P < 0.05$).

Egg quality traits

The dietary effect of BC, BV, and BCV supplementation on egg quality in laying hens are given in Table 5. Eggshell thickness was higher for hens fed with the BCV diet during week 43 ($P < 0.05$) and tended to increase in all supplemented groups at weeks 47 ($P = 0.082$) and 51 ($P = 0.095$). Eggshell strength was the highest in the BV-fed group at week 51 ($P < 0.05$) and tended to increase in all supplemented groups at weeks 43 ($P = 0.085$) and 47 ($P = 0.073$). Non-significant differences were observed in the treated and control sample on whole egg weight, eggshell weight, albumen weight, yolk weight, yolk color, and Haugh unit ($P > 0.05$).

Visceral organs and intestinal morphology

Data of visceral organs are shown in Table 6. Supplementation of BC or BCV in the diet resulted in a decreased abdominal fat pad ($P < 0.05$). Non-significant differences were observed between the groups concerning proventriculus, gizzard, liver, heart, intestinal weight, or intestinal length ($P > 0.05$).

Ileal microflora population

As presented in Table 7, the population of ileal *E. coli* tended to decrease in all supplemented groups ($P = 0.066$). The *Salmonella* spp. numbers were significantly reduced in BV and BCV groups when compared with control ($P < 0.05$). The number of *Lactobacillus* spp. significantly increased in the hens fed BV diet ($P < 0.05$).

Discussion

Although the overall egg production was not improved in all the treated groups, this study found that the hens fed with the BV and BCV diets during the late feeding stage (48-51 weeks of age), had significantly increased the egg production. These results reveal that long-term feeding of BV or BCV diets can increase the egg production performance of hens. The addition of BV and BCV as the feed supplement for the long term could improve the hen's gut health and thus consequently, improved egg production. BV contains many ingredients, including organic acids, phenols, aldehydes, ketones, furans, heterocyclic

aromatic compounds, and alcohols (Rattanawut et al. 2018). The main components in BV are organic acids, particularly acetic acid, which played a key role in modifying the pH and balanced the microflora in the intestines. Samanta et al. (2010) found that the addition of BV could increase the gastric proteolysis effect and protein digestibility in the hen guts. In another study, Jacela et al. (2009) observed that the use of BV as a feed supplement had significantly reduced the pathogenic bacteria in the gut. Many studies have proved that the BC has a higher absorption capacity than the general wood charcoal and BC could effectively absorb and eliminate the noxious substances and helped improve the absorption of nutrients from feed and its digestibility in the gastrointestinal tract of the hen (ChungPin et al. 2004; Watarai and Tana, 2005).

In our study, feeding BC alone did not improve egg production when compared to the control group. This might be related to an increase in gut pH after feeding BC, which could adversely affect the nutrient digestion and equilibrium of bacterial flora in the gastrointestinal tract. On the other hand, the overall damaged egg rate was considerably reduced in the hens when fed with BV and BCV diets, and these positive effects were most pronounced in the case of BV. A lower level of damaged egg rate by BV and BCV supplements was correlated with the increased eggshell quality, especially the shell thickness and shell strength. An increase of eggshell thickness was noticed when the hens fed with the BCV diet at week 43, and on the other hand, a significant improvement in the eggshell strength was a notice on week 51 when the hen fed with BV. Studies have reported that the minerals particularly Ca plays a significant role in the improvement of eggshell quality and the addition of organic acids as the feed supplement in the hen diet could adjust the intestinal pH and as well as the Ca solubility and absorbability (Abdel-Fattah et al. 2008; Soltan 2008; Sengor et al. 2007; Park et al. 2002). Swiatkiewicz et al. (2010) also reported that the pH reduction in the hen gastrointestinal tract could increase the activity of digestive enzymes and increase the utilization of calcium and phosphorus in the intestine. Kutlu et al. (2001) found that the feeding wood charcoal in hen diet improved mineral intake particularly calcium, potassium, and magnesium and thus, reduced the incidence of cracked eggs and their study also found that feeding wood charcoal could control fat deposition in the hen abdomen by promoting the fat excretion from the body. This is in accordance with this present study. The population of ileal *E. coli* tended to decrease in all supplemented groups, and the count of *Salmonella* spp. was significantly reduced in BV and BCV groups while the population of *Lactobacillus* spp. increased in the BV fed group. This could be due to the effect

of organic acids from BV, which promotes the growth of beneficial bacteria to dominate against the pathogenic bacteria in the gastrointestinal tract. Generally, most of the pathogenic bacteria, particularly neutrophils (*E. coli*, *staphylococci*, and *Salmonella* spp.) could not be able to live in the acidic pH conditions of the gut, whereas the growth of beneficial bacterial flora such as *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum*, and *Lactobacillus* spp. is enhanced by acidic conditions (Vinus et al. 2017). BV added in the hen diets could maintain a lower level of pH in the gastric contents and subsequently alter the intestinal microflora and improved the positive effect on the hen's health. Improvement of the intestinal health in laying hens may optimize nutrient absorption and thus improve production performance. In addition to the beneficial effects of organic acid on improving intestinal health, the phenolic compounds in bamboo vinegar reportedly have antibacterial activity against Gram-negative bacteria like *E. coli* and *S. Typhimurium* (Pacheco-Ordaz et al. 2017).

According to the results of the current study, feeding of BV and BCV could improve egg production performance in the late feeding stage and decrease the rate of damaged eggs, while feeding of BC could decrease abdominal fat of laying hens. These results suggest that the effect of BCV seems to be induced by the synergistic effect of BC and BV, and that the BCV contributes to the effective use of bamboo on the laying hen's production.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Office of the Higher Education Commission and the Thai Research Fund under Grant No. MRG6280254. The authors would like to thank Associate Professor Seppo Karrila, Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, for critical review on the manuscript prior to submission.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest: Authors declare that they have no conflict of interest.

198 **References**

- 199 Abdel-Fattah, S.A., El-Sanhoury, M.H., El-Mednay, N.M., Abdel-Azeem, F., 2008. Thyroid activity,
200 some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental
201 organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7, 215-222.
- 202 Asada, T., Ohkubo, T., Kawada, K., Oikawa, K., 2006. Ammonia adsorption on bamboo charcoal with
203 acid treatment. *Journal of Health Sciences*, 52, 585-589.
- 204 ChungPin, H., DehJen, H., Song Yung, W., Ingluen, S., Chunhan, K., 2004. Effect of carbonization
205 conditions on indoor air purification of bamboo charcoal. *Forest Products Industries*, 23, 183-
206 197.
- 207 Jacela, J.Y., DeRouchey, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Renter, D.G., Dritz, S.S.,
208 2009. Feed additives for swine: Fact sheets - acidifiers and antibiotics. *Journal of Swine Health*
209 and Production, 17, 270-275.
- 210 Kutlu, H.R., Unsal, I., Gorgulu, M., 2001. Effects of providing dietary wood (oak) charcoal to broiler
211 chicks and laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 90, 213-226.
- 212 Mu, J., Uehara, T., Furuno, T., 2004. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radical
213 growth of seed plants II: composition of Moso bamboo vinegar at different collection
214 temperature and its effects. *Journal of Wood Science*, 50, 470-476.
- 215 Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Go-ni1, M.G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala1, J.F.,
216 Gonz_alez-Aguilar, G.A., 2017. Effect of phenolic compounds on the growth of selected
217 probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66, 25-31.
- 218 Park, J.H., Park, G.H., Ryu, K.S., 2002. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on
219 performance and egg quality of laying hens. *Korean Journal of Poultry Science*, 29, 109-115.
- 220 Pizzolante, C.C., Saldanha, E.S.P.B., Lagana, C., Kakimoto, S.K., Togashi, C.K., 2009. Effects of
221 calcium levels and limestone particle size on the egg quality of semi-heavy layers in their second
222 production cycle. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 11, 79-86.
- 223 Rattanawut, J., Pimpa, O., Yamauchi, K., 2018. Effects of dietary bamboo vinegar supplementation on
224 performance, eggshell quality, ileal microflora composition, and intestinal villus morphology of
225 laying hens in the late phase of production. *Animal Science Journal*, 89: 1572-1580.
- 226 Rattanawut, J., Trairabeap, D., Karrila, S.J., Rodjan, P., Theapparat, Y., 2019. Production performance,

- egg quality, and fecal bacterial population of laying ducks fed ration supplemented by bamboo vinegar. *Tropical Animal Science Journal*, 42, 224-229.
- Ruttanavut, J., Yamauchi, K., Goto, H., Erikawa, T., 2009. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on growth performance and histological intestinal change in Aigamo ducks. *International Journal of Poultry Science*, 8, 229-236.
- Samanta, S., Haldar, S., Ghosh, T.K., 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology and small intestinal milieu. *Veterinary Medicine International*, 2010, 1-8.
- 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.
- 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.
- Vinus, S.N., Tewatia, B.S., 2017. Organic acids as alternatives to antibiotic growth promoters in poultry. *Pharma Innovation Journal*, 6, 164-169.
- Watarai, S., 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., Ruttanavut, J., Takenoyama, S., 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.

252 **Table 1** Feed formulation and chemical composition of the basal diet

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.98
Soybean meal (44% CP)	25.33
Rice bran	4.00
Fish meal (55% CP)	2.00
Oyster shell	8.56
Dicalcium phosphate	1.94
Plant oil	3.49
DL-Methionine	0.10
Salt	0.30
Premix ¹	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.0
Metabolizable energy (kcal/kg)	2820
Crude fiber	3.54
Crude fat	6.45
Calcium	4.10
Available phosphorus	0.42
Lysine	0.91
Methionine	0.38

¹Premix: 20.0 MIU vitamin A, 4.0 MIU vitamin D₃, 22,000 IU vitamin E, 4 g vitamin K₃, 5 g vit B₁, 10 g vitamin B₂, 6 g vitamin B₆, 0.06 g vitamin B₁₂, 15 g vitamin C, 20 g panthothenic acid, 50 g nicothenic acid, 3 g folic acid, 0.24 g biotin, 23.25 g feed additives, 0.15 g preservatives, up to 1 kg carrier.

256
257

258

259

260

261

262

263

264

265 **Table 2** Composition of bamboo charcoal powder (as-fed basis)

Item	Composition (%)
Moisture	7.50
Ash	4.92
Carbon	62.94
Nitrogen	0.41
Hydrogen	0.03
Gross energy (kcal/kg)	5,540

266

267

268 **Table 3** Chemical constituents of the bamboo vinegar analyzed by GC-MS

Compound	Relative concentration (%)
Organic acids	69.49
Phenol derivatives	7.08
Alcohols	6.80
Furans	3.84
Heterocyclic aromatic compounds	3.31
Aldehyde and ketones	3.12
Methoxy phenol derivatives	2.44
Other compounds	1.44

269

270

Table 4 Effects of bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination on performance of laying hens during 36-51 weeks of age

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Body weight change (g)	174.23	182.12	160.83	178.28	13.32	0.952
Egg production (%)						
36-39 weeks	90.40	91.37	93.04	91.34	0.53	0.380
40-43 weeks	90.54	91.47	90.94	89.73	0.78	0.891
44-47 weeks	90.32	91.54	92.41	90.07	0.46	0.297
48-51 weeks	87.35 ^b	88.37 ^{ab}	89.83 ^a	89.92 ^a	0.39	0.046
36-51 weeks	89.65	90.69	91.55	90.26	0.38	0.375
Egg weight (g)						
36-39 weeks	60.32	60.42	60.35	60.48	0.27	0.990
40-43 weeks	61.11	61.23	61.27	61.16	0.38	0.991
44-47 weeks	61.80	61.88	62.58	61.69	0.30	0.980
48-51 weeks	63.17	63.28	63.23	63.12	0.13	0.970
36-51 weeks	61.60	61.70	61.61	61.62	0.21	0.990
Egg mass (g/hen/day)						
36-39 weeks	54.53	55.20	56.15	55.24	0.42	0.647
40-43 weeks	55.33	56.01	55.71	54.88	0.66	0.941
44-47 weeks	55.81	56.64	57.83	55.56	0.42	0.662
48-51 weeks	55.18	55.92	56.80	56.75	0.28	0.126
36-51 weeks	55.22	55.96	56.40	55.62	0.34	0.692
Damaged egg rate (%)						
36-39 weeks	0.78	0.77	0.68	0.81	0.02	0.315
40-43 weeks	1.11 ^a	0.88 ^b	0.72 ^c	0.93 ^b	0.03	0.005
44-47 weeks	1.60 ^a	1.69 ^a	1.45 ^b	1.44 ^b	0.02	0.002
48-51 weeks	1.70 ^a	1.75 ^a	1.58 ^b	1.66 ^{ab}	0.02	0.009
36-51 weeks	1.30 ^a	1.27 ^{ab}	1.11 ^c	1.21 ^b	0.01	0.005
Feed intake (g/d)						

36-39 weeks	107.93	105.28	107.16	106.78	1.05	0.851
40-43 weeks	109.40	108.61	105.13	108.54	1.44	0.745
44-47 weeks	112.09	110.83	111.36	111.22	0.40	0.751
48-51 weeks	113.66	113.14	112.27	113.32	0.45	0.749
36-51 weeks	110.77	109.46	108.98	109.96	0.56	0.726
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)						
36-39 weeks	0.505	0.524	0.523	0.517	0.006	0.663
40-43 weeks	0.506	0.516	0.530	0.505	0.008	0.870
44-47 weeks	0.498	0.511	0.519	0.500	0.004	0.657
48-51 weeks	0.485	0.494	0.506	0.501	0.003	0.200
36-51 weeks	0.498	0.511	0.517	0.506	0.003	0.321

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Egg weight (g)						
39 weeks	60.35	60.30	60.44	60.49	0.13	0.965
43 weeks	61.21	61.15	61.25	61.28	0.18	0.990
47 weeks	61.53	61.68	61.75	61.63	0.13	0.956
51 weeks	63.41	63.61	63.46	63.42	0.10	0.896
Eggshell weight (g)						
39 weeks	6.67	6.65	6.80	6.75	0.04	0.570
43 weeks	6.77	6.73	6.75	6.86	0.04	0.737
47 weeks	6.89	6.93	6.95	7.01	0.06	0.930
51 weeks	6.72	6.94	6.76	6.80	0.05	0.550
Eggshell thickness (mm)						
39 weeks	0.374	0.381	0.375	0.373	0.002	0.665
43 weeks	0.366 ^b	0.379 ^{ab}	0.373 ^{ab}	0.388 ^a	0.002	0.029
47 weeks	0.371	0.383	0.385	0.386	0.002	0.082
51 weeks	0.370	0.377	0.383	0.376	0.002	0.095
Eggshell strength (kg/cm ²)						
39 weeks	4.01	4.22	4.34	4.06	0.07	0.400
43 weeks	4.11	4.39	4.45	4.39	0.05	0.085
47 weeks	4.13	4.38	4.44	4.52	0.05	0.073
51 weeks	3.85 ^b	4.10 ^{ab}	4.29 ^a	4.12 ^{ab}	0.05	0.045
Albumen weight (g)						
39 weeks	39.01	39.01	38.80	38.99	0.18	0.976
43 weeks	38.53	38.55	38.44	38.56	0.17	0.995
47 weeks	38.99	38.97	38.93	39.00	0.19	0.990
51 weeks	40.29	40.39	40.31	40.35	0.17	0.997
Yolk weight (g)						

39 weeks	14.67	14.64	14.84	14.75	0.09	0.885
43 weeks	15.91	15.87	16.06	15.86	0.09	0.880
47 weeks	15.65	15.78	15.87	15.62	0.10	0.851
51 weeks	16.40	16.28	16.39	16.27	0.10	0.952
Yolk color score						
39 weeks	8.66	8.61	8.80	8.68	0.09	0.920
43 weeks	8.65	8.67	8.57	8.60	0.08	0.971
47 weeks	8.57	8.46	8.23	8.62	0.09	0.441
51 weeks	8.23	8.18	8.34	8.29	0.06	0.828
Haugh unit						
39 weeks	88.22	87.95	88.06	88.15	0.62	0.990
43 weeks	87.50	88.57	87.79	88.70	0.56	0.857
47 weeks	89.24	88.67	88.91	89.47	0.51	0.950
51 weeks	88.27	88.13	88.74	89.69	0.54	0.776

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 10 replicates.

Table 6 Effects of dietary bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination on relative organ weights of laying hens (g/100 g BW)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
Live weight (g)	1,750.10	1,736.50	1719.20	1,743.00	9.08	0.690
Proventriculus (%)	0.42	0.46	0.49	0.45	0.02	0.524
Gizzard (%)	1.50	1.38	1.63	1.52	0.05	0.421
Liver (%)	2.73	2.75	2.73	2.71	0.05	0.990
Heart (%)	0.498	0.480	0.504	0.534	0.02	0.884
Abdominal fat (%)	2.98 ^a	2.36 ^b	2.73 ^{ab}	2.48 ^b	0.08	0.045
Total intestinal weight (%)	2.72	2.45	2.78	2.57	0.08	0.574
Total intestinal length (cm)	141.80	146.30	141.90	152.50	2.82	0.530

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.

Table 7 Ileal microflora counts of hens fed dietary bamboo charcoal powder (BC), bamboo vinegar (BV) and their combination (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameter	Treatment ¹				SEM	P-value
	Control	0.8% BC	0.4% BV	0.8% BC + 0.4% BV		
<i>Escherichia coli</i>	4.26	4.24	4.22	4.24	0.004	0.066
<i>Salmonella</i> spp.	3.89 ^a	3.86 ^{ab}	3.84 ^b	3.85 ^b	0.006	0.042
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.16 ^b	4.17 ^b	4.19 ^a	4.17 ^b	0.003	0.041

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

¹The basal diet (control) was supplemented with 0.8% bamboo charcoal powder (BC), 0.4% bamboo vinegar (BV) or 0.8% bamboo charcoal powder + 0.4% bamboo vinegar (BCV).

Values are means of 5 replicates.