ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย การแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรช่วงหลังหย่านม

นางสาวสุรีรัตน์ สุธงษา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF DIETARY CHITOOLIGOSACCHARIDE ADDITIVES ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL NUTRIENT DIGESTIBILITY, PepT1 GENE EXPRESSION AND SMALL INTESTINE MORPHOLOGY IN WEANED PIGS

Miss Sureerat Suthongsa

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Animal Nutrition
Department of Animal Husbandry
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2011
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย การแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรช่วงหลังหย่านม
โดย	นางสาวสุรีรัตน์ สุธงษา
สาขาวิชา	อาหารสัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.บุญฤทธิ์ ทองทรง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สฤณี กลันทกานนท์ ทองทรง

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.มงคล เตชะกำพุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุวรรณา กิจภากรณ์)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.บุญฤทธิ์ ทองทรง)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สฤณี กลันทกานนท์ ทองทรง)

....กรรมการ

(อาจารย์ สพ.ญ.ดร.อนงค์นาฏ อัศวชีพ)

.... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวเรศ เรืองพานิช)

สุรีรัตน์ สุธงษา: ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย การแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในสุกรช่วงหลังหย่านม (EFFECTS OF DIETARY CHITOOLIGOSACCHARIDE ADDITIVES ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL NUTRIENT DIGESTIBILITY, PepT1 GENE EXPRESSION AND SMALL INTESTINE MORPHOLOGY IN WEANED PIGS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.น.สพ.ดร.บุญฤทธิ์ ทองทรง, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. สพ.ญ.ดร.สฤณี กลันทกานนท์ ทองทรง, 91 หน้า.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ใน 3 ระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมรวมทั้งกลุ่มที่เติมยาปฏิชีวนะลงในอาหาร ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในลูกสุกรช่วงหลังหย่านม โดยศึกษาตัวชี้วัด ได้แก่ ค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่า เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโภชนะที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย ปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาและดัชนีการงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กในสุกรช่วงหลังหย่านม ใช้ลูกสุกร 3 สายพันธุ์เพศเมีย อายุ 21 วัน จำนวน 71 ตัว โดย 3 ตัวแรกถูกการุณยฆาตก่อนเริ่มการทดลอง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น ลูกสุกรที่เหลือแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 14 14 13 14 และ 13 ตัว ตามลำดับ เลี้ยงแบบขังเดี่ยว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เลี้ยงในโรงเรือนเปิดเป็นระยะเวลา 56 วัน อาหารกลุ่มทดลองที่ 1 ได้แก่ อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกลุ่มทดลองที่ 2 ถึง 4 เป็นอาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 75 150 และ 225 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ ส่วนกลุ่มทดลองที่ 5 เป็นอาหารเช่นเดียวกับกลุ่มทดลองที่ 1และเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซินปริมาณ 110 มก./กก.อาหาร ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มก./กก. ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมากกว่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในช่วงวันที่ 29 - 56 ของการทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุมและเทียบเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ เมื่อพิจารณาตลอดระยะการทดลองในช่วงวันที่ 1 - 56 ของการทดลอง พบว่ากลุ่มทดลองดังกล่าวนี้มีแนวโน้มอัตราการเปลี่ยนอาหารดีกว่ากลุ่มควบคุม (p=0.06) ในขณะที่ปริมาณการกินได้ต่อวันไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง รวมทั้งไม่พบความแตกต่างของค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจน ค่าโปรตีนรวมในพลาสม่า และค่าความเป็นกรด - ด่างในกระเพาะอาหาร (p>0.05) ความน่าสนใจของผลการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 150 มก./กก.ในอาหาร ส่งผลให้การย่อยได้ของ พลังงาน โปรตีน ไขมัน เถ้า แคลเซียมและฟอสฟอรัสดีกว่ากลุ่มควบคุม และดีกว่าหรือเทียบเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะทั้งในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง รวมทั้งส่งผลให้ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์เซลล์ลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมากกว่าหรือเทียบเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะในวันที่ 28 ของการทดลอง รวมทั้งเห็นผลเช่นเดียวกันที่ลำไส้ส่วนเจจูนัมเท่านั้นในวันที่ 56 ของการทดลอง ส่วนผลต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เมื่อคิดเป็นจำนวนเท่าของการเปลี่ยน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (เท่ากับ 1) พบว่าส่วนเจจูนัมลดลงเท่ากับ 0.29 ส่วนไอเลี่ยมเพิ่มขึ้นเท่ากับ 1.58 ในวันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนเมื่อครบระยะการทดลองในวันที่ 56 พบว่าส่วนดูโอดีนัมและไอเลี่ยมลดลงเท่ากับ 0.69 และ 0.31 ตามลำดับ แต่ส่วนเจจูนัมเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.86 สำหรับผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีงอกขยายที่เซลล์ลำไส้เล็กด้วยตัวชี้วัดโปรตีน Ki-67 ส่วนเจจูนัมมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 75 มก./กก. แต่เทียบเท่ากลุ่มที่การเติมยาปฏิชีวนะและกลุ่มเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 225 มก./กก.อาหาร ทั้งในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง สรุปผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 150 มก./กก.อาหาร สามารถถูกนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ โดยเกิดประโยชน์จากการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยได้ของสารอาหารที่สำคัญ ความเหมาะสมทางสรีรวิทยาในด้านปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 สัณฐานวิทยาและการงอกขยายที่บริเวณเซลล์ลำไส้เล็กดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 75 และ 225 มก./กก.อาหาร แต่เทียบเท่ากลุ่มที่การเติมยาปฏิชีวนะ โดยไม่เกิดผลเสียต่อสุขภาพเมื่อวัดจากค่าทางโลหิตวิทยาของสุกร

ภาควิชา…………..สัตวบาล…………………..	ลายมือชื่อนิสิต………………………………..……………..
สาขาวิชา…………อาหารสัตว์………………..	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก……………………
ปีการศึกษา……….2554………………………	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม…………………….

517 55748 31 : MAJOR ANIMAL NUTRITION

KEYWORDS : CHITOOLIGOSACCHARIDE / GROWTH PERFORMANCE / NUTRIENT DIGESTIBILITY / WEANED PIGS

SUREERAT SUTHONGSA: EFFECTS OF DIETARY CHITOOLIGOSACCHARIDE ADDITIVES ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL NUTRIENT DIGESTIBILITY, PepT1 GENE EXPRESSION AND SMALL INTESTINE MORPHOLOGY IN WEANED PIGS. ADVISOR: ASSOC. PROF. BOONRIT THONGSONG, D.V.M. Ph.D. CO-ADVISOR: ASST. PROF. SARINEE KALANDAKANOND-THONGSONG, D.V.M. Ph.D. 91 pp.

An experiment was conducted to determine the effects of three dietary chitooligosaccharide (COS) concentrations compared to not only a control group but also an antibiotic additive on growth performance in weaning pigs. Some parameters such as hematology, blood urea nitrogen, total protein in plasma, ileal nutrient digestibility, relative PepT1 gene expression, small intestinal morphology and proliferative marker index (Ki-67) in weaning pigs were measured. A total of 71 weaned female pigs (Duroc x Large white x Landrace) at 21 day of age housed in individual cage were divided into 5 groups: receiving basal diet with 1% acetic acid (control group n = 14) and COS additive with three doses of 75 (n = 14), 150 (n = 13) and 225 (n = 14) mg/kg of diet, respectively, and an antibiotic additive with 110 mg/kg lincomycin (n = 13) in basal diet. The results showed that the body weight gain and average daily gain of the weaned pigs fed the 150 mg/kg COS were significant increased compared to others (p<0.05). Moreover, the average daily gain during day 29 - 56 of experimental period was increased higher than control but was not different from the antibiotic additive. Throughout experimental period, the feed conversion ratio of COS 150 mg/kg trended to be better than control. On the other hand, average daily feed intake, hematological parameters, blood urea nitrogen, total serum protein and pH in stomach content were not significantly different (p>0.05) among groups. Interestingly, the ileal digestibility of energy, protein, fat, ash, calcium and phosphorus in the pigs fed the 150 mg/kg COS were significantly increased (p<0.05) compared to that in control group and did not differ from antibiotic group at the day 28^{th} and day 56^{th} of experimental period. Dietary additive of COS at 150 mg/kg and of lincomycin increased (p<0.05) the villus : crypt ratio of the small intestine at the day 28^{th} and only jejunum at the day 56^{th} of experimental period compared with the control diet. Fold change of PepT1 gene expression in pigs fed the 150 mg/kg COS compared with the control group (equal 1) showed down- and up-regulation in jejunum (0.29) and ilium (1.58), respectively at the day 28^{th} and opposite results found in jejunum (2.86) and ilium (0.31) at the day 56^{th} of experimental period. Proliferative marker index of jejunum in the pigs fed the 150 mg/kg COS both at the day 28^{th} and day 56^{th} of experimental period showed significant increase compared to that in control and COS at 75 mg/kg. However, it did not differ among antibiotic additive and COS at 225 mg/kg. In conclusion, this present study indicated that dietary additive of COS at 150 mg/kg of diet can be applied in substitute to the antibiotic to get benefit as the growth performance was better than both control and other two COS additives but the same as antibiotic additive by increasing apparent important nutrient digestibility, improving and optimum physiological changes of small intestinal morphology and PepT1 gene expression in the pigs.

Department : ……….Animal Husbandry…………	Student's Signature…………………………………..
Field of Study : …….Animal Nutrition……………	Advisor's Signature………………………………….
Academic Year : .....2011………….……………...	Co-advisor's Signature………………………………

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.น.สพ.ดร.บุญฤทธิ์ ทองทรง ที่กรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทาง ตลอดจนการช่วยเหลือในด้านต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยครั้งนี้ ทั้งด้านการหาทุนสนับสนุนการวิจัย การเรียบเรียงวิเคราะห์ข้อมูล และแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.สพ.ญ.ดร.สฤณี กลันทกานนท์ ทองทรง ที่กรุณาให้คำปรึกษาและเสนอแนะเรื่องต่างๆ ที่เป็นประโยชน์และแนวทางในการวิจัย และแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เรียบร้อย และขอขอบคุณ ผศ.ดร.รัฐ พิชญางกูร ที่อนุเคราะห์ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ตลอดจนคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น อีกทั้งขอขอบคุณหน่วยงานและผู้มีรายนามที่ให้ความอนุเคราะห์ให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้ ได้แก่

1) บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้การสนันสนุนทุนวิจัยจากทุน 90 ปี กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนันสนุนทุนวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2553
3) บัณฑิตศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนันสนุนทุนวิจัย จากทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์
4) ภาควิชาชีวเคมีวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน - ไคโตซาน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การอนุเคราะห์สกัดสารไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้
5) รศ.น.สพ.ดร.อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ และนายสุประดิษฐ์ หวังในธรรม ภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ให้คำปรึกษาและคอยให้คำแนะนำด้านเทคนิคทางพยาธิวิทยาในการวิเคราะห์ตัวอย่างของการศึกษาวิจัยครั้งนี้
6) หน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ในการวิเคราะห์ทางอณูชีวโมเลกุล
7) ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดค่าทางอณูชีววิทยา
8) นายสมพร แวงสูงเนิน ที่ช่วยติดต่อประสานงานด้านสถานที่ในการเก็บตัวอย่าง และกรุณาช่วยเก็บตัวอย่างในการวิจัย นายวัฒนา ฐิวารินทร์ ที่กรุณาช่วยควบคุมสัตว์ทดลองในการวิจัย และนายภิญโญ พลศร ที่กรุณาช่วยผสมอาหารและจัดเตรียมคอกสัตว์ทดลอง
9) นางเพ็ญสุดา ฮ่งภู่ และนางสาวปัญพัสตร์ อิทธิธนาวงษ์ ที่คอยให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนศาสตร์ทางห้องปฏิบัติการ และนางจุฑารัตน์ จิรศุภโชคที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ค่าทางอณูชีวโมเลกุล
10) ขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำ และอำนวยความสะดวกทั้งการทดลองภาคสนามและการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบุพการีและบุคคลในครอบครัวที่เป็นกำลังใจในการทำงานมาโดยตลอด และขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในระหว่างการทำวิจัย ทั้งนางสาวมาสสุภา วิยาภรณ์ นางสาวสุวภรณ์ แดนดี นางสาวรนิดา ต่วนอุดม และนางสาวสุชาวดี ทองทา ตลอดจนผู้ที่ให้ความช่วยเหลือทุกท่าน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย………………………………………………………………………… ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……………………………………………………………………….. จ

กิตติกรรมประกาศ…………………………………………………………………………. ฉ

สารบัญ……………………………………………………………………………………….. ช

สารบัญตาราง………………………………………………………………………………. ญ

สารบัญรูป…..……………………………...………………………………………………. ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ……………………………………………………….. ฐ

บทที่ 1 บทนำ…………………………………………………...…………………. 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย……………………………………….……………… 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……………………………………………………… 4

กรอบแนวคิดงานวิจัย………………………………………………………….. 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง………………………………………………… 6

การเจริญเติบโตของลูกสุกรหลังหย่านม……………………………………… 6

สารอาหารหลัก การย่อยและการดูดซึมสารอาหารของลูกสุกร………...………… 7

โครงสร้างและหน้าที่ของลำไส้เล็กลูกสุกร………….………………...…...……. 9

ตัวขนส่งเปปไทด์และปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1….. 11

โปรตีน Ki-67…………………………………………………………………. 12

สารสกัดธรรมชาติไคติน ไคโตซาน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์………..………… 13

1. ไคติน (chitin)…..………………………………………………….… 13

2. ไคโตซาน (chitosan)……………………………………………….. 14

3. ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide)….…………………… 17

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย……………………………………………….. 19

สัตว์ทดลอง……………………………………………………………..……… 19

การจัดการด้านโรงเรือน………………………………………..…………………. 20

หน้า

การเก็บข้อมูล.. 21
การเตรียมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์... 22
อาหารทดลอง.. 22
วิธีการผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับอาหารทดลอง.. 24
การเก็บตัวอย่าง... 25
1. การเก็บตัวอย่างอาหารทดลองเพื่อวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะ......... 25
2. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจน และโปรตีนรวมในพลาสม่า... 25
3. การเก็บตัวอย่างที่อยู่ในกระเพาะอาหารเพื่อตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง.. 26
4. การเก็บตัวอย่างอาหารบริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย เพื่อตรวจการย่อยได้ของสารอาหารที่ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม 26
5. การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กเพื่อศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 ตรวจสัณฐานวิทยา และดัชนีการงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็ก.. 28
5.1 การตรวจปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 โดยวิธี Real-Time-Polymerase-Chain-Reaction.. 29
5.2 การตรวจสัณฐานเนื้อเยื่อลำไส้เล็ก...................................... 33
5.3 การตรวจวัดดัชนีการงอกขยาย... 34
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.. 35

บทที่ 4 ผลการทดลอง... 36
1. องค์ประกอบทางโภชนะจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ.................. 36
2. สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการตาย.................................... 37
3. การตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา ยูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่า.. 44
4. สภาพความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสิ่งที่อยู่ในกระเพาะอาหาร.............. 51
5. การย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม............................ 51
6. ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสูตรอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 (PepT1) ที่ลำไส้เล็กของสุกร.............................. 55

หน้า

7. ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้เล็กสุกร………………………………………….………….. 60
8. ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร โดยใช้โปรตีน Ki-67……..….. 69

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง………………………………………………………………… 75
1. อาหารและส่วนที่เติมในการทดลองรวมทั้งองค์ประกอบทางโภชนะ………... 75
2. สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการตายของสุกร............................... 75
3. ค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจนและค่าโปรตีนรวมในพลาสม่าสุกร…… 78
4. ความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุอยู่ในกระเพาะอาหารของสุกร…………… 78
5. การย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยมของสุกร……………….. 79
6. ปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 จากลำไส้เล็กสุกร………. 80
7. สัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้เล็กของสุกร……………………...….………. 81
8. ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีตัวบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกร…. 82

สรุปผลการทดลอง ………………………………………………………………… 83

ข้อเสนอแนะ…………………………………………………………………….….. 84

รายการอ้างอิง………………………………………………………………….... 85

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์………………………………………………………….. 91

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรทดลอง...................................... 23
3.2 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารพื้นฐานในการทดลองที่ได้จากการคำนวณและระดับความต้องการตามคำแนะนำของ NRC ปี ค.ศ.1998....................... 24
3.3 อาหารที่ใช้ในแต่ละกลุ่มการทดลอง………………………….......................... 25
3.4 แสดง primer ของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในสุกร และ 18S rRNA ที่ใช้เป็นตัวควบคุมภายใน.. 32
4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของสูตรอาหารพื้นฐานสำหรับลูกสุกรหลังหย่านมที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ…………………………………………… 36
4.2 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อน้ำหนักตัวสุกร (กิโลกรัม.)… 38
4.3 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง……………..……. 39
4.4 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง…….. 41
4.5 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวันของสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง…….... 42
4.6 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารของสุกรในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง…………………………….. 43
4.7 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการตายของสุกรตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง………………………………….................... 44
4.8 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 0 และ14 ของการทดลอง……………………….............................. 45
4.9 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 28 ของการทดลอง…………………………………………………….. 46
4.10 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 42 ของการทดลอง…………………………................................... 47
4.11 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 56 ของการทดลอง………………………..................................... 48

ตารางที่		หน้า
4.12	ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่ายูเรียไนโตรเจนและค่าโปรตีนรวมในพลาสม่าของสุกรในวันที่ 14 28 42 และ 56 ของการทดลอง……………	50
4.13	ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสภาพความเป็นกรด - ด่างภายในกระเพาะอาหารของสุกร ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง…...........	51
4.14	ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยมของสุกรในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง….............	54
4.15	สัณฐานวิทยาเซลล์ลำไส้เล็กของลูกสุกรก่อนเริ่มการทดลอง..........................	61
4.16	ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสัณฐานเซลล์ลำไส้เล็กสุกรในวันที่ 28 ของการทดลอง……………………………………..…………….	64
4.17	ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสัณฐานเซลล์ลำไส้เล็กสุกรในวันที่ 56 ของการทดลอง……………………………………..…………	67
4.18	ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันก่อนเริ่มการทดลอง…………………………………….………	70
4.19	ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง……………………………………………………..……..	72

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะรูปร่างและตำแหน่งของวิลไลและคริปท์เซลล์ในลำไส้เล็กลูกสุกร....	11
2.2	โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน พร้อมตำแหน่งที่แตกต่างกันภายในโครงสร้าง..	14
2.3	การเปลี่ยนหมู่อะซิทิลของไคตินมาเป็นหมู่อะซิตาไมด์ของไคโตซาน....................	15
2.4	การจำแนกโมเลกุลของไคตินและไคโตซาน..	16
2.5	โครงสร้างโมเลกุลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ………..………………………..	18
3.1	แสดงตัวอย่างแผนผังการจัดหน่วยทดลอง……………………………..………	20
3.2	แสดงแผนการเก็บบันทึกข้อมูลตลอดการทดลอง…………………………….……	22
4.1	เปรียบเทียบจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลี่ยม...	56
4.2	เปรียบเทียบจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในวันที่ 56 ของการทดลอง ส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลี่ยม...	58
4.3	แสดงผล Amplification curve และแสดงผล dissociation curves ของยีน 18S rRNA และ PepT1………………………………………………………..	59
4.4	การตรวจขนาด PCR amplification products จากเนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกร ของยีนเป้าหมาย 18s rRNA และ PepT1 ด้วย gel electrophoresis ……………….	60
4.5	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วน ก่อนเริ่มการทดลอง………………………………………………………………………..	61
4.6	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กของสุกรในวันที่ 28 ของการทดลอง…….	65
4.7	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กของสุกรในวันที่ 56 ของการทดลอง……	68
4.8	ลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนของลูกสุกร ก่อนเริ่มการทดลอง…………………….	69
4.9	ลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 28 ของการทดลอง……………………………….	73
4.10	ลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 56 ของการทดลอง……………………………….	74

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	**คำเต็ม**
กก.	กิโลกรัม
มก./กก. อาหาร	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร
%	เปอร์เซ็นต์
μg	ไมโครกรัม
μl	ไมโครลิตร
μm	ไมโครเมตร
18S rRNA	18S ribosomal ribonucleic acid
bp	base pair
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
COS	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide)
Cr	โครมิก (chromic)
DNA	deoxyribonucleic acid
Dnase I	deoxyribonuclease I
fl	เฟมโตลิตร
g/dl	กรัมต่อเดซิลิตร
Ki-67	Kiel - 67
MCH	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฮีโมโกลบินที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง
MCHC	ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง
MCV	ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย
ME	พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy)
ml	มิลลิลิตร
mM	มิลลิโมล่าร์
mRNA	messenger ribonucleic acid
nm	นาโนเมตร
OD	optical density
PepT1	H^+-dependent peptide transporter 1
pg	พิโคกรัม

RNA	ribonucleic acid
SEM	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
Tm	melting temperature
UV	ultraviolet
w/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
w/w	น้ำหนักต่อน้ำหนัก

บทที่ 1

บทนำ

สุกรเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญประเภทหนึ่งในประเทศไทย เนื่องจากเนื้อสุกรเป็นที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป และมีปริมาณความต้องการเพิ่มขึ้นในแต่ละปี จากรายงานข้อมูลการผลิตสุกรของประเทศไทยตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2549 - 2553 พบว่าอุตสาหกรรมการผลิตสุกรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (สุรชัย, 2554) และปัจจุบันฟาร์มผลิตสุกรมีเป้าหมายในการเพิ่มจำนวนลูกสุกรหย่านมต่อแม่ต่อปี ในส่วนภาคการผลิตจึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนการจัดการต่างๆ เพื่อการเพิ่มผลผลิตให้เพียงพอกับความต้องการเป็นไปตามเป้าหมาย ไม่ว่าการสุขาภิบาลและการป้องกันโรคที่ดี การนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ เข้ามาประยุกต์ใช้ เช่น สารเสริมในอาหารสุกร ฯลฯ การจัดการระบบวงจรการหมุนเวียนสุกรในฟาร์มที่เหมาะสม เช่น การจัดการหย่านมลูกสุกรที่เร็วกว่าระยะเวลาตามปกติทั่วไป เป็นต้น ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรให้ความสนใจวิธีการจัดการหย่านมลูกสุกรที่เร็วกว่าระยะเวลาตามปกติ แต่วิธีการดังกล่าวส่งผลเสียที่ตามมาคือ สุกรหลังหย่านมมีปัญหาด้านสุขภาพและมีอัตราการตายสูง (Zabieski et al., 2008) เนื่องจากลูกสุกรช่วงหลังหย่านมมักอยู่ในช่วงวิกฤต เป็นระยะที่การพัฒนาของระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ จึงทำให้ความสามารถในการย่อยอาหารได้ค่อนข้างต่ำ เป็นระยะที่ได้รับความเครียดจากการเปลี่ยนรูปแบบอาหารจากนมแม่ที่เป็นอาหารเหลว มาเป็นอาหารเลียรางที่มีรูปแบบและส่วนประกอบคุณค่าที่แตกต่างออกไป มีการศึกษาพบว่าความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนอาหารมีผลทำให้เกิดโรคท้องเสีย เนื่องจากการฝ่อของเยื่อบุในระบบทางเดินอาหาร ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก ได้แก่ การหดสั้นลงของวิลไล การเพิ่มความลึกของคริปท์ จากการที่เซลล์ลำไส้เล็กอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมกับการทำหน้าที่หรือถูกทำลาย ทำให้ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ลดลง สามารถใช้อธิบายผลต่อการย่อยได้และการดูดซึมสารอาหารที่บริเวณลำไส้เล็กลดลง ทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารไม่เต็มที่และหยุดชะงักการเจริญเติบโต โดยการย่อยได้และการดูดซึมสารอาหารในลูกสุกรช่วงหลังหย่านมระยะแรกจะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์เพิ่มขึ้น (Montagne et al., 2003) นอกจากนี้ลูกสุกรช่วงหลังหย่านมเป็นระยะที่ได้รับความเครียดจากการถูกย้ายออกจากแม่ไปอยู่ในสิ่งแวดล้อมใหม่ๆ ร่วมกับการสิ้นสุดการได้รับน้ำนมจากแม่ทำให้ภูมิคุ้มกันในร่างกายลดลง มีแนวโน้มต่อการติดเชื้อได้ง่าย (Wilson and Friendships, 1996)

ตลอดจนการปนเปื้อนของแบคทีเรียเป็นอีกสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสีย (Liu et al., 2008) สาเหตุเหล่านี้ทำให้เกิดการสูญเสียในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร ในการแก้ไขปัญหาจึงมีการนำยาปฏิชีวนะมาใช้ในฟาร์มเลี้ยงสุกร โดยนำยาปฏิชีวนะผสมลงในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth promoter) และหรือรักษาโรคติดเชื้อ (treatment) เพื่อลดความสูญเสียที่เกิดขึ้นในวงจรการผลิต (Barton, 2000) การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาเป็นระยะเวลานาน ทั้งที่ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากปัญหาเรื่องสารตกค้างในผลผลิตและทำให้เชื้อโรคดื้อยาเป็นผลเสียต่อทั้งผู้บริโภคและสุขภาพสัตว์ จนกลายเป็นประเด็นทางการค้าระหว่างประเทศ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2006 เป็นต้นมาทางสหภาพยุโรปได้ออกประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะบางชนิดผสมในอาหารสัตว์ ดังนั้นนักวิจัยจึงพยายามค้นคว้าศึกษาหาสารสกัดจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการเจริญเติบโต ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เสริมระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถเพิ่มการย่อยได้ของสารอาหาร มาเป็นทางเลือกทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารสัตว์ หลายปีที่ผ่านมามีการศึกษาสารที่จะนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ โดยสนใจใช้สารที่มาจากธรรมชาติ ยกตัวอย่างเช่น การใช้พรีไบโอติก (prebiotics) โปรไบโอติก (probiotics) และซินไบโอติก (synbiotics) ผสมในอาหารสัตว์เพื่อนำเข้าสู่ร่างกายผ่านระบบทางเดินอาหารส่งผลดีต่อร่างกายสัตว์ และในปัจจุบันสารในกลุ่มที่มาจากธรรมชาติที่น่าสนใจกลุ่มหนึ่ง คือ พรีไบโอติก เพื่อใช้เป็นแหล่งให้สารอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลชีพที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร พัฒนาการย่อยได้ เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และส่งผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide) เป็นสารสกัดกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ เป็นสารทางเลือกที่น่าสนใจ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีลักษณะเฉพาะตัว ได้แก่ เป็นวัสดุชีวภาพ (biometerials) ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เป็นโพลีเมอร์ที่มีประจุบวก สามารถละลายในกรดอินทรีย์อ่อน มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และไม่ก่อให้เกิดการแพ้ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยเพิ่มจุลชีพที่มีประโยชน์ ได้แก่ *Lactobacillus* *Bifidobacterium* และ *Staphylococcus aureus* (Tsai and Hwang, 2004) และช่วยยับยั้งจุลชีพที่เป็นโทษ เช่น *Escherichia coli*, *Clostridium perfringen type C*, *Serpulina hyodysenteriae* และ *Lawsonia intracellularis* ในลำไส้ (Fahey et al., 1990) ในด้านปศุสัตว์มีการนำสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ทดลองเสริมในอาหารสุกร โดยการศึกษาของ Houdijk และคณะ (2002) ทำการทดลองเสริมสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ (nondigestible - oligosaccharides) ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) และทรานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (TOS) ในอาหารสุกรอายุ 57 วัน พบว่าสารในกลุ่มโอลิโก

แซคคาไรด์มีแนวโน้มที่จะลดค่าความเป็นกรด - ด่างในกระเพาะอาหาร ทำให้ปริมาณอาหารที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (gut content) นานขึ้น เป็นผลให้เกิดการหมักของเยื่อใย และทำให้ภูมิคุ้มกันในร่างกายเพิ่มขึ้น สำหรับงานวิจัยในลูกสุกรหลังหย่านมที่ทำการทดลองโดย Liu และคณะ (2008) การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารลูกสุกรหลังหย่านมที่อายุ 16 วัน พบว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต โดยเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะ ได้แก่ พลังงาน โปรตีน แคลเซียม และฟอสฟอรัส เทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะ ลดอาการท้องเสีย และมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาโครงสร้างเซลล์ของลำไส้เล็ก จากการศึกษาของ Tang และคณะ (2005) ที่ทำการทดลองเสริมสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ได้แก่ กาแลคโตแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ 0.20 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 0.025 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสุกรหย่านมอายุ 14 วัน เปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่าการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถลดค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดให้ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ และเพิ่มค่าโปรตีนรวมในซีรั่มให้มากกว่ากลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ และการเติมสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มการแสดงออก mRNA ของ insulin like growth factor - I (IGF - I) ที่ตับและกล้ามเนื้อโครงร่าง และเพิ่มระดับโกรทฮอร์โมน (growth hormone) และ IGF - I ในซีรั่มได้ ซึ่งอาจเป็นผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการพัฒนาการเจริญเติบโต Jenkin และคณะ (1999) รายงานว่าการเติมสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสามารถลดแอมโมเนียและยูเรียในเลือด มีความปลอดภัยและผลข้างเคียงน้อยต่อร่างกาย ส่วนผลการศึกษาของ Rossi และคณะ (2008) พบว่าการเสริมกลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารลูกสุกรหลังหย่านมที่อายุ 28 วัน ทำให้ความยาวของวิลไลของเซลล์ลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น สามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารได้ โดยการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ในทางเดินอาหาร และป้องกันการถูกทำลายของเซลล์ลำไส้เล็กได้ผลเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะ

ดังนั้นจึงน่าสนใจศึกษาผลของตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้องในการใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติ มาเป็นสารเติมในอาหาร (feed additive) สำหรับสุกรช่วงหลังหย่านม เพื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองมาอธิบายผลที่เกิดขึ้นในด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต และพิจารณาใช้เป็นทางเลือกเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

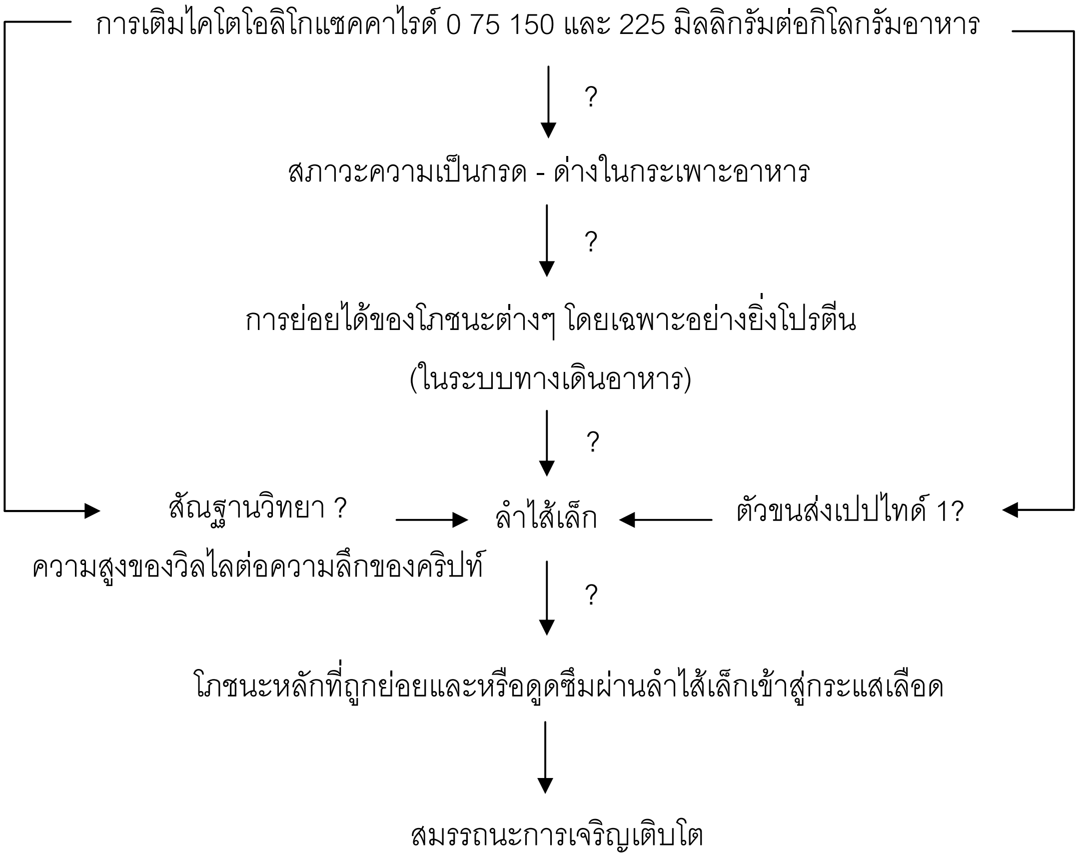
1. ศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสามระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับการเติมยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุมต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในสุกรช่วงหลังหย่านม

2. ศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสามระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมต่อค่าความเป็นกรด - ด่าง ในกระเพาะ การย่อยได้ของโภชนะในลำไส้เล็กส่วนปลาย การแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 และการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของเซลล์ลำไส้เล็กในสุกรช่วงหลังหย่านม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเป็นข้อมูลในการใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นสารสกัดจากวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติที่ผลิตขึ้นภายในประเทศ เป็นทางเลือกหรือทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในด้านสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกร และเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภครวมทั้งด้านปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะ ที่นำไปสู่การกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศเพื่อการส่งออกในอนาคต

กรอบแนวคิดงานวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันการเลี้ยงสุกรเชิงธุรกิจมีการใช้หลักการหรือวิธีการปฏิบัติที่มีเป้าหมายในการเพิ่มผลผลิต วิธีปฏิบัติประการหนึ่ง คือการลดจำนวนวันของลูกสุกรระยะดูดนมหรือหย่านมลูกสุกรเร็วกว่าระยะเวลาตามปกติ (ประมาณ 28 - 30 วัน) เพื่อให้ได้จำนวนผลผลิตต่อแม่ต่อครอกต่อปีเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรหลังหย่านมเป็นสิ่งที่สำคัญต่อประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์ม เนื่องจากการเจริญเติบโตของสุกรช่วงหลังหย่านมส่งผลต่อการเลี้ยงสุกรในระยะเล็ก รุ่น และขุนต่อไป ตามลำดับ การหย่านมลูกสุกรที่อายุยังน้อยมักทำให้สุกรมีสุขภาพอ่อนแอและมีอัตราการตายสูง เนื่องจากได้รับความเครียดจากการเปลี่ยนอาหารนมแม่มาเป็นอาหารเลียราง ในขณะที่การพัฒนาระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ ทำให้อาหารไม่ถูกย่อยร่วมกับสภาวะในกระเพาะและลำไส้ที่มีค่ากรด - ด่าง ไม่เหมาะสม จุลชีพหลายชนิดในทางเดินอาหารขาดความสมดุล อาจส่งผลให้ปริมาณการกินได้ลดลงและทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ หรือการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก จากเหตุผลหรือปัจจัยต่างๆ ตลอดจนแบคทีเรียที่ปนเปื้อนจากน้ำและอาหารทำให้เกิดอาการท้องเสีย ในที่สุดก่อให้เกิดการสูญเสียในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรตามมา ดังนั้นยาปฏิชีวนะจึงเข้ามามีบทบาทในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเพื่อลดการสูญเสียในวงจรการผลิต แต่การใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารสุกร ส่งผลเสียต่อสุขภาพสัตว์ในแง่ของการดื้อยาและสารตกค้างในผลผลิต จนกระทั่งเป็นประเด็นทางการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นในส่วนภาคการผลิตจึงพยายามค้นคว้าหาแนวทางในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารสุกรไปพร้อมกับการดูแลสุขภาพสัตว์และผู้บริโภค

การเจริญเติบโตของลูกสุกรหลังหย่านม

การเจริญเติบโตของสุกรช่วงหลังคลอดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแรกคลอดของสุกรเท่ากับ 1.45 กิโลกรัม ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเป็น 4 - 5 เท่าภายใน 4 สัปดาห์แรกหลังคลอด โดยอวัยวะในระบบทางเดินอาหารมีการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่าอวัยวะอื่นๆ ภายในร่างกาย การหย่านมลูกสุกรจะเร็วหรือช้านั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยอาทิเช่น ด้านความสมบูรณ์ของลูกสุกร ความสามารถของผู้เลี้ยง เป้าหมายของฟาร์ม และคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกสุกร เป็นต้น

การหย่านมลูกสุกรมี 2 แบบ คือแบบที่ 1 การใช้อายุเป็นเกณฑ์ นิยมกระทำที่อายุช่วง 3 - 6 สัปดาห์ และแบบที่ 2 การหย่านมโดยใช้น้ำหนักเป็นเกณฑ์ คือ หย่านมลูกสุกรเมื่อมีน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 5 กิโลกรัม การเจริญเติบโตของลูกสุกรหลังหย่านมมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากส่งผลต่อไปในระยะอนุบาลและสืบเนื่องไปในระยะขุน จึงต้องให้ความสำคัญด้านการจัดการต่างๆ รวมทั้งสุขภาพของลูกสุกร ผลการศึกษาอายุในการหย่านมลูกสุกรกับอัตราการตาย พบว่าการหย่านมที่อายุ 6 สัปดาห์ ลูกสุกรหลังหย่านมจะมีอัตราการตายน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการจัดการหย่านมที่อายุน้อยกว่า 3 - 4 สัปดาห์ ส่งผลให้ลูกสุกรหลังหย่านมมีอัตราการตายสูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งลูกสุกรที่หย่านมเมื่ออายุยังน้อยหรือน้ำหนักตัวน้อยมักมีสุขภาพที่อ่อนแอ (Zabielski et al., 2008) ในช่วงการหย่านม ลูกสุกรได้รับความเครียดมาจากหลายปัจจัย เช่น การที่ต้องแยกจากแม่สุกรหลังหย่านม และถูกย้ายจากเล้าคลอดไปเลี้ยงรวมกันในโรงเรือนอนุบาล ทำให้ต้องปรับตัวกับสิ่งแวดล้อมใหม่ โดยทั่วไปการพัฒนาระบบทางเดินอาหารของสุกรช่วงหลังหย่านม มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของระบบการย่อยอาหารและการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุ (epithelium) ทางเดินอาหาร การเปลี่ยนอาหารทั้งรูปแบบและส่วนประกอบรวมทั้งคุณค่า ทำให้การกินได้ของสุกรช่วงหลังหย่านมลดลง (Le Dividich and Herpin, 1994) หากในกรณีที่มีการจัดการไม่ดีพอ มักทำให้ลูกสุกรหยุดชะงักการเจริญเติบโต แคระแกร็นหรืออาจตายในที่สุด นอกจากนี้น้ำหนักหย่านมของลูกสุกรมีความสัมพันธ์กับปริมาณการกินอาหารได้ของแม่สุกรขณะเลี้ยงลูก การจัดการลูกสุกรก่อนหย่านม ลูกสุกรที่น้ำหนักตัวหย่านมมาก การจัดการดูแลทำได้ง่ายกว่าลูกสุกรขนาดน้ำหนักตัวน้อย (น้ำหนักหย่านมน้อยกว่า 5 กิโลกรัม) เนื่องจากสามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมใหม่ กินอาหารและน้ำได้ดีกว่า ส่งผลให้ระยะเวลาจากอนุบาลไปถึงระยะขุนขายใช้เวลาน้อยกว่า ประสิทธิภาพด้านการย่อยอาหารของเอนไซม์จากตับอ่อน ได้แก่ อะไมเลส ทริปซิน และไลเปส ดีกว่าตามธรรมชาติ

สารอาหารหลัก การย่อยและการดูดซึมสารอาหารของลูกสุกร

การเจริญเติบโตของลูกสุกรขึ้นอยู่กับสารอาหารหลักที่มีความสำคัญ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็นต้น คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ ได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง คาร์โบไฮเดรตแบ่งตามจำนวนโมเลกุลของน้ำตาล ได้ 3 ประเภท คือ 1) น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) เป็นน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ มีรสหวาน มีคาร์บอนสูงสุดไม่เกิน 6 ตัว ชนิดที่มีความสำคัญ ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส แมนโนส

และฟรุคโตส นอกจากนี้ยังมีสารประกอบของเฮกโซสที่มีความสำคัญอีก เช่น กลูโคซามีนที่เป็น amino sugar ที่หมู่ OH ใน monosaccharide ถูกแทนที่ด้วยหมู่ NH_2 พบได้ในไคติน น้ำลาย และน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร 2) คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลของน้ำตาล 2 - 6 โมเลกุล เช่น ซูโครส มอลโทส และแลคโทส สำหรับคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลมากกว่า 2 โมเลกุล พบว่าการจับกันของน้ำตาลเป็นพันธะ β-linkage จึงไม่มีเอ็นไซม์ชนิดใดในลำไส้เล็กสามารถย่อยได้ และไม่สามารถดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กได้เพราะมีโมเลกุลขนาดใหญ่ และประเภทที่ 3) คาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ (polysaccharide) เช่น แป้ง เซลลูโลส และไกลโคเจน การย่อยคาร์โบไฮเดรตต้องผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อนดูดซึมเข้าสู่ร่างกายเสมอ การดูดซึมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเข้าสู่ร่างกายนั้นใช้วิธีการแพร่ (diffusion) การขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport) และอาศัยตัวขนส่ง (carrier or transporter) นำเข้าสู่ร่างกายผ่านทาง brush border membrane ของลำไส้เล็ก (D’Mello, 2000)

โปรตีนมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย หลังจากอาหารผ่านเข้าสู่ร่างกาย โปรตีนถูกย่อยครั้งแรกที่กระเพาะอาหารด้วยเอ็นไซม์เปปซิน (pepsin) ซึ่งสามารถทำงานได้ดีในสภาวะความเป็นกรด - ด่าง (pH) ประมาณ 2 - 4 และส่วนใหญ่ถูกย่อยที่ลำไส้เล็กด้วยน้ำย่อยที่สร้างจากตับอ่อน ได้แก่ ทริปซิน (trypsin) ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) และคาร์บอกซีเปปทิเดส (carboxypeptidase) ให้กลายเป็นเปปไทด์สายสั้น ต่อมาถูกย่อยให้กลายเป็นกรดอะมิโนด้วยน้ำย่อยเปปทิเดส (peptidase) และไดเปปทิดิล เปปทิเดส (dipeptidyl peptidase) (Daniel, 2004) สุดท้ายได้เป็นกรดอะมิโนที่สามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด Heger (2003) รายงานว่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของลูกสุกร ได้แก่ อาร์จินีน ฮีสทิดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมทไธโอนีน ฟีนิวอะลานีน ธีโอนีน ทริปโตแฟน และวาลีน โดยเฉพาะอาร์จินีนนั้นร่างกายลูกสุกรไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น กรดอะมิโนเป็นหน่วยย่อยในการสังเคราะห์โปรตีน มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารสื่อประสาท (D’Mello, 2003) เป็นต้น การขนส่งหรือดูดซึมเปปไทด์สายสั้น เช่น ไดเปปไทด์ ไตรเปปไทด์ และกรดอะมิโนที่ผ่านการย่อยเข้าสู่ร่างกาย ส่วนใหญ่ต้องอาศัยตัวขนส่งที่เรียกว่า ตัวขนส่งเปปไทด์ (proton - dependent peptide transporters) และตัวขนส่งที่เฉพาะเจาะจงกับกรดอะมิโน (amino acid transporters) แต่ละชนิดหรือระบบของตัวขนส่ง

ไขมันเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานสูงเมื่อเทียบกับสารอาหารประเภทอื่นๆ ที่มีปริมาณเท่ากัน ถ้าให้อาหารประเภทอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีนเกินกว่าที่ร่างกายต้องการ ร่างกายสามารถเปลี่ยนสารอาหารเหล่านั้นให้เป็นไขมันได้ ไขมันไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในอีเทอร์ และในตัวทำละลายอนินทรีย์ เช่น เบนซิน คลอโรฟอร์ม แอลกอฮอล์ เป็นต้น ไขมันเกิดจากการรวมตัวกันของกรดไขมันกับกลีเซอรอล กระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ลำไส้เล็ก ในการย่อยไขมันต้องอาศัยน้ำดีจากตับ ช่วยทำให้เกิดรูปแบบโมเลกุลของไขมันที่สามารถถูกสลายให้โมเลกุลของไขมันมีขนาดที่เล็กลง โดยเอ็นไซม์ไลเปส (lipase) กลายเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ซึ่งกรดไขมันอิสระที่ถูกดูดซึมกลับเข้าไปในเยื่อบุที่ลำไส้เล็ก จะถูกสังเคราะห์ให้อยู่ในรูปไตรเอซิลกลีเซอรอลใหม่อีกครั้ง และในขั้นตอนการขนส่งไขมันที่สังเคราะห์ขึ้นมากรณีที่เป็นกรดไขมันสายสั้นหรือสายกลางจะถูกจับกับโปรตีนอัลบูมิน (albumin) ในเลือดและขนส่งไปตามระบบหมุนเวียนเลือด ส่วนกรดไขมันสายยาวถูกประกอบอยู่ด้วยกันเป็นไคโลไมครอน (chylomicrons) ก่อนจะปล่อยออกมาสู่ระบบไหลเวียนน้ำเหลืองและระบบไหลเวียนเลือด (D'Mello, 2000) ไขมันนอกจากเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญแล้ว ยังช่วยละลายวิตามินที่ละลายได้ในไขมันให้ใช้ประโยชน์ได้ ปริมาณของกรดไขมันแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของไขมัน ส่วนใหญ่ได้มาจาก 2 แหล่งคือ ไขมันสัตว์ และไขมันพืช กรดไขมันที่จำเป็นและสำคัญในสัตว์ คือ ลิโนเลอิค (linoleic) ลิโนเลนิค (linolenic) และอะราชิโดนิค (arachidonic) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ โดยทั่วไปสุกรเล็กแนะนำให้ใช้ไขมันร้อยละ 2.5 - 5.0 ในอาหาร สุกรที่ได้รับระดับไขมันในอาหารต่ำจะทำให้การเจริญเติบโตลดลงและเป็นโรคผิวหนัง

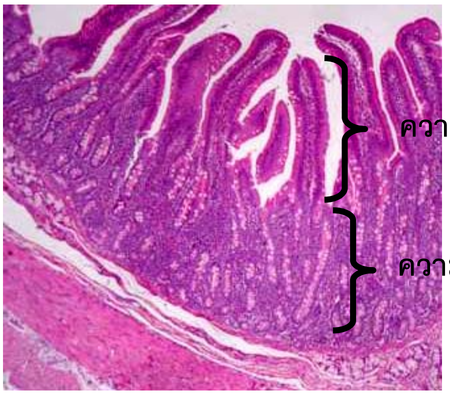
โครงสร้างและหน้าที่ของลำไส้เล็กลูกสุกร

ลำไส้เล็กของสุกรมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องตั้งแต่ช่วงกลางของการตั้งท้องจนกระทั่งหลังคลอด 6 - 8 สัปดาห์ (Rome et al., 2002) โดยปกติการเจริญเติบโตของลูกสุกรเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์แรกหลังคลอด แต่การเจริญของลำไส้เล็กรวดเร็วกว่าเป็น 2 เท่าเมื่อคิดเป็นน้ำหนักลำไส้เล็กสัมพัทธ์และมีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 2 - 4 วันแรกหลังคลอด ลำไส้เล็กของสุกรแรกเกิดมีน้ำหนักเป็น 3.10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และเมื่ออายุได้ 28 วัน ในช่วงที่ยังได้รับน้ำนมจากแม่ ลำไส้เล็กจะมีน้ำหนักเพิ่มเป็น 4.03 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว โดยการเจริญที่เกิดขึ้นอธิบายได้จาก 3 กลไกคือ 1) การเพิ่มการไหลเวียนเลือดที่เกิดขึ้นที่ basal vascular 2) ปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากนมน้ำเหลืองที่ผ่านเข้าลำไส้เล็กทาง gut barrier และ 3)

การผลัดเปลี่ยนเซลล์เยื่อบุลำไส้ที่ส่งผลให้เกิดสัดส่วนของเซลล์ mitosis/apoptosis ที่สัดส่วนเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าในช่วง 2 วันแรกหลังคลอด และสัดส่วนดังกล่าวจะลดลงเมื่อลูกสุกรหย่านม การเจริญของลำไส้เล็กแบ่งออกเป็น 5 ระยะ โดยสองระยะแรกเป็นช่วงที่ลูกสุกรอยู่ในท้อง ได้แก่ ระยะที่มีการสร้างสัณฐานของลำไส้ (morphogenesis) และระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงเซลล์เยื่อบุ (cytodifferentiation) ต่อมาเป็นระยะที่เกิดขึ้นหลังคลอด (after birth) และระยะที่ลูกสุกรได้รับน้ำนมจากแม่ (suckling) และการเจริญระยะสุดท้ายคือช่วงลูกสุกรหย่านม (weaning) ซึ่งเป็นระยะที่ลูกสุกรมีการเปลี่ยนอาหารจากนมแม่เป็นอาหารเลียราง ลำไส้มีการเปลี่ยนแปลงแบบค่อยเป็นค่อยไปและเกิดการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ในที่สุด (Pacha, 2000) Berkeveld และคณะ (2007) รายงานว่าการหย่านมเร็วกว่ากำหนดปกติ ส่งผลให้ความสามารถในการดูดซึมสารอาหารลดลง ซึ่งอาจมีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำหน้าที่ของส่วนประกอบต่างๆ ภายในลำไส้เล็ก สอดคล้องกับ Rossi และคณะ (2008) ที่พบว่าสุกรช่วงหลังหย่านมที่อายุ 28 วัน มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก เช่น การหดสั้นลงของวิลไลและความลึกของคริปท์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสาเหตุมาจากการที่โครงสร้างเซลล์ลำไส้ถูกทำลาย และการฝ่อของ mucosa ที่เป็นผลมาจากการเปลี่ยนอาหาร

ลำไส้เล็กทำหน้าที่หลักในการดูดซึมสารอาหารที่ผ่านการย่อยจากกระเพาะอาหาร โดยส่วนที่เรียกว่าวิลไล (villi) ที่มีลักษณะคล้ายนิ้วมือยื่นขึ้นมาในส่วนที่มีลักษณะคล้ายท่อของลำไส้ ผิวด้านนอกของเซลล์เยื่อบุของวิลไลมีส่วนยื่นออกไปเรียกว่าไมโครวิลไล (microvilli) เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหารชนิดต่างๆ ผ่าน - เข้าออกเซลล์ของลำไส้เล็ก วิลไลแต่ละอันประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิดที่มีส่วนในการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร ได้แก่ เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการดูดซึม (absorptive cell) เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการหลั่งเมือก (goblet cell) เซลล์ที่ทำหน้าที่หลั่งฮอร์โมน (enteroendocrine cell) เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างเอ็นไซม์ (enteroenzyme cell) จากเซลล์ต้นกำเนิดคือเซลล์ที่ยังไม่เปลี่ยนเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะเมื่อมีการแบ่งตัวเซลล์ต้นกำเนิดมีการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ยังมีเซลล์คริปท์ (crypt cell) ที่บริเวณฐานระหว่างวิลไลแต่ละอันสามารถเปลี่ยนแปลงเจริญขึ้นไปตามความสูงของวิลไลแทนที่เซลล์วิลไลที่หลุดลอกออกไปตามวัฏจักรธรรมชาติ โดยการแทนที่ใช้เวลาประมาณ 5 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของสัตว์ที่เพิ่มขึ้น (Burrin and Mersmann, 2005) จากรายงานการศึกษาของ Ferraris (2001) พบการแสดงออกของตัวขนส่งสารอาหารจำนวนมากบริเวณส่วนของวิลไล และประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารขึ้นอยู่กับความสูงของวิลไลที่เจริญ

อย่างเต็มที่และมีจำนวนมาก โดยวิลไลที่มีความสูงสามารถเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหาร ทำให้ลูกสุกรได้รับสารอาหารนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม ดังนั้นการวัดความสูงของวิลไลเป็นค่าที่แสดงถึงโอกาสความสามารถในการดูดซึมสารอาหารที่ผ่านการย่อยเป็นโมเลกุลขนาดเล็กผ่านเข้าเซลล์ในลำไส้เล็ก และการวัดความลึกของคริปท์ คือค่าของเซลล์ที่สามารถเจริญขึ้นมาเป็นวิลไลทดแทนส่วนที่หมดอายุไป ดังนั้นต้องนำค่าทั้งสองมาคิดเป็นค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลและความลึกของเซลล์คริปท์ จึงเป็นค่าที่เหมาะสมและยืนยันในการแสดงถึงประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารที่ลำไส้เล็ก ซึ่งการย่อยได้และการดูดซึมที่มีประสิทธิภาพสูง เกิดขึ้นเมื่อค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์เพิ่มขึ้น (Pluske et al., 1996)



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะรูปร่างและตำแหน่งของวิลไลและคริปท์เซลล์ในลำไส้เล็กลูกสุกร

ตัวขนส่งเปปไทด์และปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1

ตัวขนส่งเปปไทด์ ทำหน้าที่ขนส่งเปปไทด์สายสั้นที่มีกรดอะมิโน 2 - 6 ตัวที่ต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ ได้แก่ ไดเปปไทด์ ไตรเปปไทด์ และกรดอะมิโนทั้งชนิดที่เป็นกรด กลาง และเบส เข้าสู่เซลล์ (Daniel, 2004) โดยเลือกจับและขนส่งสารอาหารเข้า - ออกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ภายในเซลล์ โดยการทำงานสามารถเกิดขึ้นได้โดยอิสระด้วยตัวเองหรือต้องร่วมกับโปรตีนหรือโมเลกุลอื่นๆ ในการทำหน้าที่ ตัวขนส่งสารอาหารเปปไทด์ 1 (proton - dependent peptide 1: PepT1) เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ที่การทำงานต้องอาศัยไฮโดรเจนไอออน (H^+-coupled transmembrane protein) ในการนำเปปไทด์สายสั้นทั้งไดเปปไทด์และไตรเปปไทด์เข้าสู่เซลล์ ตัวขนส่งเปปไทด์ชนิดนี้พบอยู่บริเวณ brush border membrane ของเซลล์ลำไส้เล็ก จากการศึกษาของ Ganapathy และคณะ (1994) พบว่าโปรตีนที่ผ่านการย่อยในลำไส้เล็กจะอยู่ในรูปของเปปไทด์มากกว่ากรดอะมิโนอิสระ

ซึ่งเปปไทด์เหล่านี้ถูกนำเข้าเซลล์ได้โดยตัวขนส่งเปปไทด์ (peptide transporter) ส่วนกรดอะมิโนอิสระถูกขนส่งโดยตัวขนส่งกรดอะมิโน (amino acid transporter) ปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ยกตัวอย่างได้แก่ ภาวะอดอาหารช่วงสั้นๆ มีผลต่อการเพิ่มการขนส่งเปปไทด์เข้าสู่เซลล์ (Bierhoff and Levine, 1988) โดยสอดคล้องกับการแสดงออกของยีนระบบขนส่งบางตัวที่เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา ฮอร์โมนและกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนหลายชนิด ยกตัวอย่างการศึกษาของ Ogihara และคณะ (1999) รายงานว่าการแสดงออก mRNA ของตัวขนส่งเปปไทด์ 1 พบมากที่สุดบริเวณที่มีการดูดซึมสารอาหาร ได้แก่ วิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัมของหนู สอดคล้องกับรายงานของ Xiao (2005) ที่พบการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 บริเวณลำไส้เล็กของลูกสุกรระยะดูดนม

โปรตีน Ki-67

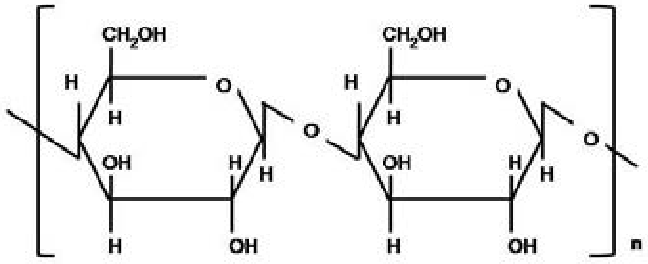
โปรตีน Ki-67 คือ nonhistone protein สามารถพบได้ในเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะการแบ่งเซลล์ G1 S G2 และ M แต่ไม่พบในระยะพัก (resting cell) (Scholzen and Gerdes, 2000) สามารถใช้ monoclonal antibody MIB-1 ให้ทำปฏิกิริยากับ Ki-67 โดยใช้วิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อทำให้สามารถประมาณการแบ่งจำนวนเซลล์ได้ จึงนิยมใช้โปรตีน Ki-67 เป็นดัชนีตัวบ่งชี้การงอกขยายจำนวนเซลล์ โดยนิยมนำไปประยุกต์ใช้ในการทำนายการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ จากการศึกษาของ Lee และคณะ (2010) รายงานว่าดัชนีการงอกขยายของโปรตีน Ki-67 สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดการแบ่งเซลล์เนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหารเช่น การทำนายเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตาม Hanson (1982) รายงานว่าสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กหนูแรทที่มีการงอกขยายจำนวนเซลล์ โดยใช้โปรตีน Ki-67 เป็นดัชนีตัวบ่งชี้ที่เพิ่มขึ้นบริเวณคริปท์ส่งผลให้วิลไลมีความสูงเพิ่มขึ้น และทำให้น้ำหนัก mucosa ต่อความยาวของลำไส้เพิ่มขึ้น รวมทั้งเอ็นไซม์ต่างๆ ที่อยู่บริเวณ brush border membrane ของลำไส้เล็ก มีปริมาณมากขึ้นอยู่กับจำนวนการแบ่งเซลล์และการเจริญของเซลล์ที่ลำไส้เล็ก โดยการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยานี้เกิดขึ้นเช่นเดียวกันกับในสุนัขและกระต่าย ส่วนงานทดลองของ Lauronen และคณะ (1998) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของลำไส้เล็กในสุกร พบว่าโปรตีน Ki-67 พบได้ที่คริปท์เซลล์ของลำไส้ส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลี่ยมของสุกร ดัชนีการงอกขยายของเซลล์โดยใช้โปรตีน Ki-67 มีความสัมพันธ์กับขนาดของวิลไลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และจากการศึกษาของ Rekiel และคณะ

(2010) ที่ทำการทดลองเสริมสารในกลุ่มโปรไบโอติกและพรีไบโอติก ได้แก่ *Pericoccus acidilactici* ปริมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ และ *Saccharomyces cerevisiae* ปริมาณ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งยาปฏิชีวนะ (flavomycin) ในอาหารสุกรขุน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้เล็ก พบว่าการเสริมสารโปรไบโอติกและพรีไบโอติกดังกล่าวไม่มีผลเสียต่อเซลล์ลำไส้เล็ก นอกจากนี้มีข้อมูลว่าปัจจัยจากอาหาร ได้แก่ องค์ประกอบของสารอาหารที่ให้ เช่น อาหารที่มีนมเป็นส่วนประกอบ และรูปแบบวิธีการการให้อาหาร เช่น การให้อาหารแบบจำกัด(restricted) หรือการให้อาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) มีผลต่อความสูงของวิลไลและความลึกของคริปท์ ผลที่เกิดจากการแบ่งเซลล์ของเยื่อบุลำไส้เล็ก ก่อให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันและมีการทำลายเชื้อโรคด้วยการกลืนกินของเซลล์ (phagocytosis) โดยเม็ดเลือดขาวจึงสามารถช่วยยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้

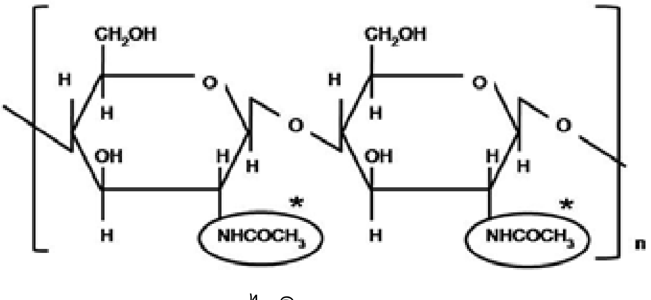
สารสกัดธรรมชาติไคติน ไคโตซาน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไคติน (chitin)

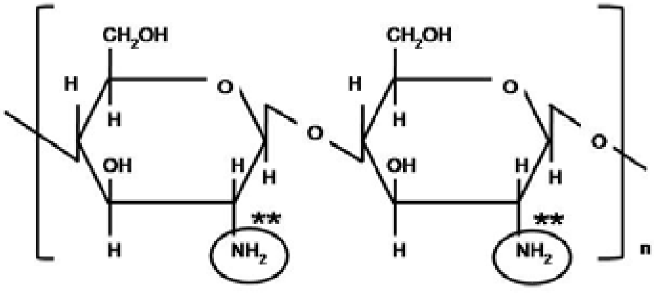
ไคตินเป็นไบโอโพลีเมอร์ที่พบมากเป็นอันดับสองในธรรมชาติรองจากเซลลูโลส มีโครงสร้างเป็นเส้นใย มีชื่อทางเคมีคือ β-(1⟶4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose เป็นสารชีวภาพที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลสจากพืช แต่ต่างกันที่ตำแหน่งที่ 2 ของอะตอมคาร์บอน (C - 2)ของสายโพลีเมอร์ โดยเซลลูโลสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ส่วนไคตินจะประกอบด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) โดยทั่วไปพบไคตินในเปลือกนอกของแมลงและสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทมีข้อและปล้อง เช่น กุ้ง ปู และแกนปลาหมึก และพบในผนังเซลล์ของเชื้อราในกลุ่ม *mycelia* ไคตินแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ แอลฟ่าไคติน (α-chitin) พบในเปลือกกุ้งและกระดองปู เบต้าไคติน (β-chitin) พบในแกนหมึก และแกมม่าไคติน (γ-chitin) พบในผนังเซลล์ของเชื้อรา (Jaeng et al., 2004) ลักษณะทางกายภาพของไคตินเป็นของแข็งขึ้นรูป สามารถละลายได้ในกรดอ่อน เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ โครงสร้างโมเลกุลเปรียบเทียบของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน ดังแสดงในรูปที่ 2.2



เซลลูโลส (cellulose)



ไคติน (chitin)

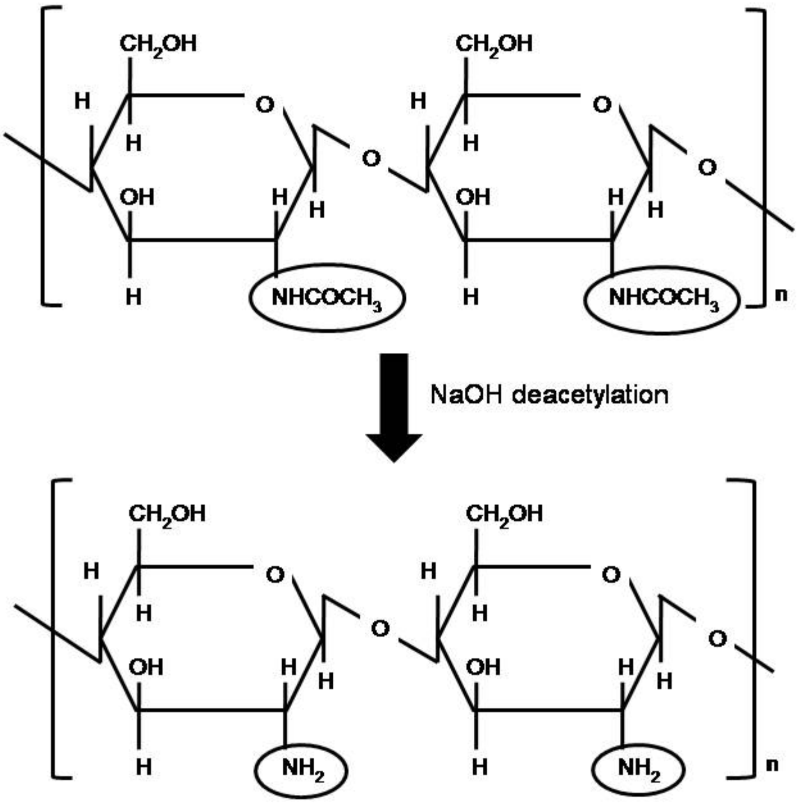


ไคโตซาน (chitosan)

รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน พร้อมตำแหน่งที่แตกต่างกันภายในโครงสร้าง (ดัดแปลงจาก Ravi Kumar. 2000)

ไคโตซาน (chitosan)

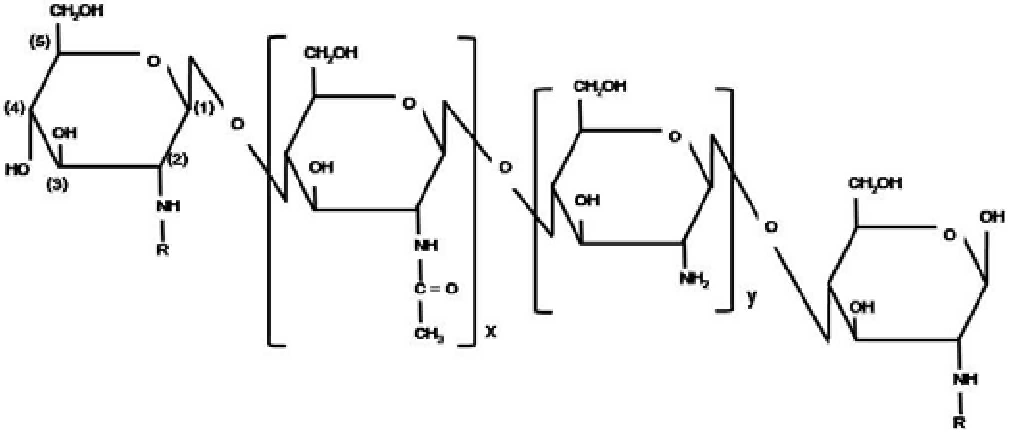
ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินได้จากการนำไคตินไปผ่านการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิล (deacetylation) โดยการแช่ไคตินในสารละลายด่างเข้มข้น ทำให้หมู่อะซิตาไมด์ ($NHCOCH_3$) ในโครงสร้างของไคตินถูกเปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน (NH_2) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของสายโพลีเมอร์ ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนหมู่อะซิทิลของไคตินมาเป็นหมู่อะซิตาไมด์ของไคโตซาน
(ดัดแปลงจาก Ravi Kumar. 2000)

โครงสร้างทางเคมีของไคโตซานคือ (1→4) 2-amino-2-deoxy-β-D-glucan โมเลกุลของไคโตซานเป็นสายโคโพลีเมอร์ระหว่าง N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine แต่ละหน่วยเชื่อมกันด้วยพันธะ (1→ 4)-β-glycosidic (Ravi Kumar, 2000) เป็นโพลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำที่มีค่าความเป็นกรด - ด่างที่เป็นกลางหรือด่าง แต่สามารถละลายในกรดอ่อน กรรมวิธีการผลิตไคตินและไคโตซานในระดับอุตสาหกรรมมักใช้วิธีทางเคมีและวัตถุดิบส่วนใหญ่มาจากกากของเหลือ (by products) ในอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ได้แก่ เปลือกกุ้ง หัวกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก เป็นต้น โดยคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไคตินและไคโตซานที่ได้มีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการสกัด รวมทั้งวิธีการที่ใช้ในการสกัดด้วย

ความแตกต่างของโมเลกุลไคโตซาน หมายถึงสายโพลีเมอร์จำนวนมากที่มี degree of deacetylation (DD) แตกต่างกันในช่วง 40 - 98 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 2.4



R = - C(=O)CH$_3$ และ x มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือ ไคติน

R = - H และ y มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือ ไคโตซาน

รูปที่ 2.4 การจำแนกโมเลกุลของไคตินและไคโตซาน (ดัดแปลงจาก Khor and Lim. 2003)

Hejazi และ Amiji (2003) รายงานว่าไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันระหว่าง 50,000 - 2,000,000 ดาลตัน มีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อน มีค่า pKa ประมาณ 6.2 - 7.0 ไม่ละลายในสภาวะที่เป็นกลางและด่าง ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงไม่ละลายในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในกรด (Zeng et al., 2008) เนื่องมาจากในสภาวะที่เป็นกรด หมู่เอมีน (NH_2) ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในสายโพลีเมอร์เป็นตัวให้โปรตอน (H^+) กับสารละลาย ทำให้ไคโตซานละลายได้ในกรดอ่อน นอกจากนี้ไคโตซานสามารถเปลี่ยนรูปคล้ายเจลได้ เมื่อเข้าทำปฏิกิริยากับสารที่มีประจุแตกต่างกันจำนวนมากๆ

คุณสมบัติของไคโตซานขึ้นอยู่กับค่า degree of deacetylation (DD) ดังนี้

1. ไคโตซานที่มีค่า DD ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ใน pH ที่มีค่าสูงถึง 9
2. ไคโตซานที่มีค่า DD สูงกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ใน pH ที่มีค่าสูงถึง 6.5
3. ค่า DD ที่ต่างกัน ส่งผลให้ลักษณะรูปร่างของไคโตซานแตกต่างกัน เช่น ไคโตซานที่มีค่า DD ต่ำจะมีลักษณะขดและม้วน ส่วนไคโตซานที่มีค่า DD สูงจะมีลักษณะเป็นแท่งและมีความยืดหยุ่นมากกว่า

ไคโตซานมีคุณสมบัติพิเศษหลายประการที่แตกต่างจากเซลลูโลส เช่น การละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง การจับกับอิออนของโลหะได้ดี และการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น เป็นสารต้านแบคทีเรีย เพิ่มระดับภูมิคุ้มกันในร่างกาย สามารถเข้ากับสารอื่นๆ ตามธรรมชาติได้ดี ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Jeon et al., 2000) นอกจากนี้มีการศึกษาโดย Yen และคณะ (2008) ที่เปรียบเทียบไคโตซานจากกระดองปูที่มีการกำจัดหมู่อะซิติล (N - deacetylation) ด้วยการนำไคโตซานเข้าทำปฏิกิริยากับด่างในเวลาที่แตกต่าง ได้แก่ 60 90 และ 120 นาที ต่อคุณสมบัติการเป็นสารต้านการเกิดอนุมูลอิสระ พบว่าไคโตซานที่ผ่านการกำจัดหมู่อะซิติลด้วยเวลาที่แตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านการเกิดอนุมูลอิสระที่ดี โดยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่หมู่ OH ในโครงสร้าง และเข้าจับกับแร่ธาตุที่มีประจุบวกที่เป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น เหล็ก (ferrous ion) จากการศึกษานี้ไคโตซานอาจถูกนำไปใช้เป็นสารผสมในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ หรืออาจถูกนำไปเป็นส่วนผสมในการผลิตยาในอุตสาหกรรมทางเภสัชกรรม จากคุณสมบัติพิเศษดังกล่าวจึงทำให้มีผู้สนใจนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้หลายด้านทั้งด้านอุตสาหกรรมอาหาร การเกษตร การแพทย์ และเภสัชกรรม

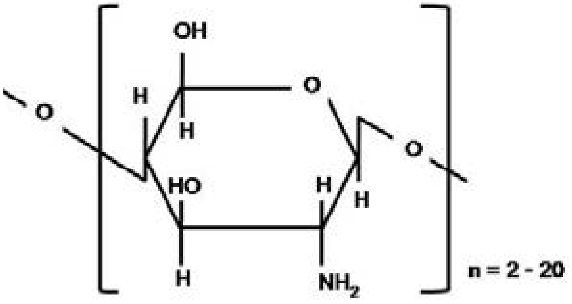
ข้อจำกัดของการใช้ไคโตซานในด้านอาหารสัตว์ เนื่องจากความแตกต่างด้านน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดูดซึมไคโตซานเข้าสู่เซลล์ คือ ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ความสามารถในการผ่านเข้าสู่เซลล์จะใช้เวลานานกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้การดูดซึมไคโตซานเข้าสู่เซลล์ยังเกี่ยวข้องกับเปอร์เซ็นต์ DD ขนาดโมเลกุลและลักษณะผลึกของไคโตซาน สิ่งมีชีวิตไม่สามารถย่อยโมเลกุลของไคโตซานให้ลดลงได้ อีกทั้งไคโตซานเป็นสารที่มีประจุบวก เมื่อผ่านเข้าไปยังลำไส้เล็กแล้ว สามารถรวมกับน้ำดีและกรดไขมันที่มีประจุลบ เกิดการพองตัวกลายเป็นเจลในรูปเกลือของกรดไขมัน แล้วถูกขับออกจากร่างกายในที่สุด ดังนั้นจึงได้มีการวิจัยหาวิธีใช้ประโยชน์จากไคโตซานที่รับเข้าสู่ร่างกายให้ได้มากที่สุด โดยการทำให้ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำ เช่น ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide)

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นไคโตซานที่ทำให้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ วิธีการเตรียมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยทั่วไปทำได้โดยนำไคโตซานมาย่อยด้วยเอ็นไซม์ไคติเนส (chitinase) ที่ผลิตจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* จนสมบูรณ์ ดังนั้นไคโตซานเหล่านี้จะมีขนาดโมเลกุลเล็กลง และมีการ

กระจายตัวของขนาดโอลิโกเมอร์ (oligomer) ที่จะแปรผันตาม ค่าเปอร์เซ็นต์ DD ของไคโตซานที่นำมาใช้เตรียม ทั้งนี้ค่าเปอร์เซ็นต์ DD ของโอลิโกเมอร์ที่ได้จะสูงขึ้น เกิดจากการตัดเอาส่วนที่เป็น acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ออกจากสายไคโตซาน ทำให้อัตราส่วน glucosamine ต่อ N-acetyl-D-glucosamine เพิ่มขึ้น

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 5,000 ดาลตัน ชื่อทางเคมีคือ 2-amino-β-1, 4-glucose สูตรโมเลกุลในสายโพลีเมอร์คือ $(C_6H_{11}O_4N)_n$ มีค่าเปอร์เซ็นต์ DD มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และค่า pH ประมาณ 4.0~5.0 มีสูตรโครงสร้างโมเลกุล ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพคล้ายคลึงกับไคโตซาน แต่ถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ร่างกายได้ดีกว่า เนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ Chae และคณะ (2005) ศึกษาผลของไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันต่อการดูดซึมผ่านลำไส้เล็กของหนูแรท (*in vivo*) และในการเพาะเลี้ยงเซลล์ลำไส้ Caco-2 cell ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) โดยใช้ไคโตซานแลคเตทที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน ได้แก่ 3,800 7,500 13,000 22,000 และ 230,000 ดาลตัน ตามลำดับ พบว่าน้ำหนักโมเลกุลมีผลต่อการดูดซึมไคโตซานเข้าสู่เซลล์ลำไส้ คือเมื่อน้ำหนักโมเลกุลมากขึ้นการดูดซึมจะลดลง และจากการทดสอบด้านความปลอดภัย พบว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่มีความเป็นพิษ เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านเภสัชกรรม การแพทย์ และการเกษตร

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้สุกรหลังหย่านมลูกผสมพันธุ์ดูร็อค x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรจ เพศเมีย อายุ 21 วัน จำนวน 71 ตัว ทำการปรับสภาพลูกสุกร 3 วันก่อนจัดเข้าสู่หน่วยทดลอง โดยระหว่างการปรับสภาพให้กินน้ำที่มีการเสริมอิเล็กโตรไลท์ร่วมกับการค่อยๆ ปรับเปลี่ยนอาหารที่ให้จากอาหารเลียรางมาเป็นอาหารทดลองสัดส่วนอาหารเลียราง : อาหารทดลอง วันแรก 75 : 25 วันที่สอง 50 : 50 และวันสุดท้ายของการปรับสภาพ 25 : 75 หลังจากนั้นจึงเข้าสู่การทดลองและให้อาหารทดลองไปจนสิ้นสุดการทดลอง ในวันที่ 0 ของการทดลอง ทำการสุ่มสุกรมาจำนวน 3 ตัว เพื่อทำการการุณยฆาตและเก็บตัวอย่างเป็นผลข้อมูลเบื้องต้นก่อนทำการทดลอง ส่วนสุกรที่เหลือทำการสุ่มแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 14 14 13 14 และ 13 ตัว ตามลำดับ ลูกสุกรถูกเลี้ยงแบบขังแยกเดี่ยว โดยสุกรแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ย 5.63 $\pm$ 0.07 กิโลกรัม สุกรได้รับน้ำและอาหารอย่างไม่จำกัด (*ad libitum*) ทำการทดลองเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 56 วัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง คือ การทดลองช่วงแรกตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ - เดือนมีนาคม 2554 ช่วงที่ 2 เดือนพฤษภาคม - มิถุนายน 2554 และช่วงที่ 3 เดือนสิงหาคม - กันยายน 2554 สุกรทุกตัวได้รับวัคซีนอหิวาต์ (COGLAPEST®) ในวันที่ 5 ของการทดลอง วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียม (AUJESPIG®L) ในวันที่ 12 ของการทดลอง และวัคซีนปากและเท้าเปื่อย (Aftopor O-A-Asia) ในวันที่ 19 ของการทดลอง การทดลองในครั้งนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่ 1031046

การจัดการด้านโรงเรือน

ทำการทดลองที่โรงเรือนอนุบาลของภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดนครปฐม โรงเรือนแห่งนี้เป็นโรงเรือนเปิด ในการทดลองจัดแต่ละคอกมีขนาด 1.7 x 2.5 x 0.6 เมตร ก่อนนำลูกสุกรเข้าหน่วยทดลองพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อภายในแต่ละคอก มีการจัดอุปกรณ์การให้น้ำ ถาดอาหาร และจัดให้มีไฟกกอย่างเพียงพอ โดยมีตัวอย่างการจัดแผนผังการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.1

1 T2R5	2 T5R1	3 T3R1	4 T1R1
5 T1R4	6 T3R3	7 T2R2	8 T4R5
9 T2R1	10 T4R3	11 T5R2	12 T3R2
13 T1R3	14 T3R6	15 T4R2	16 T5R6
17 T4R6	18 T5R4	19 T4R1	20 T1R2
21 T1R6	22 T2R3	23 T3R4	24 T4R4
25 T2R4	26 T3R5	27 T2R6	28 T5R3
	29 T5R5	30 T1R5	

รูปที่ 3.1 แสดงตัวอย่างแผนผังการจัดหน่วยทดลอง

การเก็บข้อมูล ผังการเก็บข้อมูลดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.2

1. บันทึกปริมาณอาหารที่ให้และเหลือของสุกรทั้ง 5 กลุ่มเป็นประจำทุกวัน และบันทึกน้ำหนักของสุกรทุกตัวในทุกสัปดาห์ของการทดลอง รวมทั้งบันทึกจำนวนสุกรที่ป่วยหรือตายทุกวัน เพื่อนำข้อมูลต่างๆ ที่บันทึกมาคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวต่อสัปดาห์ ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินได้ต่อตัวต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหาร และอัตราการตาย

การคำนวณค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต

ค่าการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว (BWG) = น้ำหนักสุดท้าย - น้ำหนักเริ่มต้น

$$\text{ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG)} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย - น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยอัตราการกินได้ต่อวัน (ADFI)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$$

$$\text{ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหาร (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$$

2. เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวัดค่ายูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่าของสุกรกลุ่มละ 3 ตัว ทุก 14 วันของการทดลอง รวมทั้งตรวจค่าทางโลหิตวิทยาในสุกรทุกกลุ่มการทดลอง

3. บันทึกค่าความเป็นกรด - ด่างในกระเพาะของสุกร ทั้ง 5 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว ในวันที่ 0 28 และ 56 ของการทดลอง

4. บันทึกค่าการย่อยได้ที่ปรากฏของอาหารในลำไส้เล็กส่วนปลาย บันทึกผลเป็นเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ได้แก่ ค่าการย่อยได้ของไขมัน โปรตีนหยาบ เยื่อใยหยาบ แคลเซียม ฟอสฟอรัสรวม และค่าพลังงาน ของสุกรทั้ง 5 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง

5. บันทึกค่าปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ที่วัดได้จากลำไส้เล็ก ของสุกรทั้ง 5 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว ในวันที่ 0 28 และ 56 ของการทดลอง

6. บันทึกการเปลี่ยนแปลงสัณฐานลำไส้เล็กสุกร ทั้ง 5 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว ในวันที่ 0 28 และ 56 ของการทดลอง

FI ชั่งทุกวัน

					Cr_2O_3				Cr_2O_3
วันที่ทำการทดลอง	0	7	14	21	28	35	42	49	56
อายุลูกสุกร (วัน)	21	28	35	42	49	56	63	70	77
	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
	BC	-	BC	-	BC	-	BC	-	BC
	pH	-	-	-	pH	-	-	-	pH
	-	-	-	-	IC	-	-	-	IC
	SI	-	-	-	SI	-	-	-	SI

รูปที่ 3.2 แสดงแผนการเก็บบันทึกข้อมูลตลอดการทดลอง

FI = ปริมาณอาหารที่กิน BW = น้ำหนักตัว BC = เก็บตัวอย่างเลือด pH = วัดค่ากรด - ด่างของอาหารในกระเพาะอาหาร IC = เก็บตัวอย่างอาหารภายในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileal content) Cr_2O_3 = ผสมโครมิกออกไซด์ในอาหารให้สุกรกิน และ SI = เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็ก

การเตรียมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

สารไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เตรียมและได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และจากศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน - ไคโตซาน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยวิธีการมาตรฐาน โดยใช้เปลือกปูมากำจัดโปรตีนและเกลือแร่ และใช้ความร้อนเพื่อให้ได้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีสายโพลิเมอร์ที่วัดได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดหมู่อะซิทิล (degree of deacetylation: %DD) มากกว่าหรือเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้มาปรับโครงสร้างขนาดโมเลกุล โดยการย่อยด้วยเอ็นไซม์ไคติเนส ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้เติมผสมลงไปในอาหารสุกรอยู่ในรูปสารละลาย ใช้ในระดับความเข้มข้น ได้แก่ 75 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ละลายใน 1 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะซิติก

อาหารทดลอง

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม เป็นอาหารพื้นฐานที่เติมด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 3 และ 4 เป็นอาหารพื้นฐานที่

เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 75 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ และกลุ่มที่ 5 เป็นอาหารพื้นฐานที่เติมด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานและองค์ประกอบทางโภชนะ แสดงดังตารางที่ 3.1 และ 3.2 ให้มีปริมาณสารอาหารใกล้เคียงตามความต้องการของสุกรระยะอนุบาล (NRC, 1998) ในกลุ่มการทดลองกลุ่มที่ 1 ได้แก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ 5 ได้แก่กลุ่มที่เติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน ต้องเติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 1เปอร์เซ็นต์ ผสมลงในอาหารพื้นฐานในปริมาณที่เท่ากับที่ใช้ในแต่ละกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง เนื่องจากการตัวทำละลายของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้ในครั้งนี้ ละลายด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานสำหรับสุกรทดลอง

วัตถุดิบ	น้ำหนัก (กก./100 กก.อาหาร)
ปลายข้าว	40.00
ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	25.00
ข้าวโพด	18.00
ปลาป่น (58% โปรตีนหยาบ)	5.00
กากถั่วเหลือง (44% โปรตีนหยาบ)	3.60
หางนมผง	6.00
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	1.70
แร่ธาตุและวิตามินพรีมิกซ์*	0.35
เกลือ	0.35
รวม	**100.00**

***หมายถึง** ใน 1 กิโลกรัมของแร่ธาตุและวิตามินพรีมิกซ์ประกอบด้วย วิตามินเอ 2.40 x 10^6 IU (8,400 IU) วิตามินดี3 2.70 x 10^6 IU (945 IU) วิตามินอี 3.60 กรัม (0.0126 กรัม) วิตามินเค3 0.60 กรัม (0.0021 กรัม) วิตามินบี1 0.30 กรัม (0.0011 กรัม) วิตามินบี2 0.60 กรัม (0.0022 กรัม) วิตามินบี6 0.45 กรัม (0.0016 กรัม) วิตามินบี12 5.00 มิลลิกรัม (0.02 มิลลิกรัม) ไนอะซิน 3.60 กรัม (0.0126 กรัม) กรดเพนโทธีนิค 1.80 กรัม (0.0063 กรัม) กรดโฟลิก 0.15 กรัม (0.0053 กรัม) ไบโอติน 9.00 มิลลิกรัม (0.0315 มิลลิกรัม) โคลีน 50.00 กรัม (0.1750 กรัม) ทองแดง 36.00 กรัม (0.1260 กรัม) เหล็ก 30.00 กรัม (0.1050 กรัม) แมงกานีส 6.00 กรัม (0.0210 กรัม) โคบอลต์ 0.20 กรัม (0.0007 กรัม) ไอโอดีน 0.20 กรัม (0.0007 กรัม) สังกะสี 20 กรัม (0.07 กรัม) ซิลีเนียม 0.02 กรัม (0.00007 กรัม) สารถนอมคุณภาพอาหารสัตว์ 0.20 กรัม (0.0007 กรัม) และสารปรุงแต่งอาหารสัตว์ 10.00 กรัม (0.0350 กรัม) และปริมาณที่อยู่ในวงเล็บหมายถึงปริมาณที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารพื้นฐานในการทดลอง (90% วัตถุแห้ง) ที่ได้จากการคำนวณและระดับความต้องการตามคำแนะนำของ NRC ปี ค.ศ.1998

สารอาหาร	เปอร์เซ็นต์ในอาหาร	NRC (1998)
โปรตีน	22.00	23.70
ไขมัน	4.70	ไม่มีข้อมูล
เยื่อใย	3.43	ไม่มีข้อมูล
แคลเซียม	0.85	0.80
ฟอสฟอรัสรวม	0.85	0.65
ไลซีน	1.30	1.19
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	0.66	0.68
เมทไธโอนีน	0.15	0.32
ทรีโอนีน	0.85	0.74
ทริปโตแฟน	0.28	0.22
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	3,323.23	3,265.00

วิธีการผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับอาหารทดลอง

การผสมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับอาหารทดลอง เริ่มต้นจากการชั่งสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้ผสมกับอาหารทดลองในแต่ละกลุ่ม ตามปริมาณที่กำหนดไว้ในแต่ละกลุ่มการทดลอง กล่าวคือในแต่ละกลุ่มแบ่งอาหารทดลองที่ชั่งน้ำหนักไว้สุ่มออกมาส่วนหนึ่งประมาณ 500 กรัม ผสมกับสารไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ชั่งเตรียมไว้ผสมคลุกเคล้าให้กระจายตัวเข้ากันดี จากนั้นจึงนำอาหารทดลองส่วนที่ได้ผสมกับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เข้ากันดีแล้ว ผสมให้กระจายตัวเข้ากับอาหารทดลองส่วนใหญ่ที่ชั่งเตรียมไว้

ตารางที่ 3.3 อาหารที่ใช้ในแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่มทดลอง	อาหารที่ใช้ทดลอง
1	อาหารพื้นฐานเติมด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
2	อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร
3	อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร
4	อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร
5	อาหารพื้นฐานเติมด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน ขนาด 110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

การเก็บตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่างอาหารทดลองเพื่อวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะ

หลังจากผสมอาหารทดลองเสร็จ ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารทดลองประมาณ 500 - 1,000 กรัม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนะโดยประมาณ (proximate analysis) และรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ได้แก่ ค่าของโปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัสรวม ตามวิธีการของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990) ส่วนค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้รายงานผลเป็นกิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ตามวิธีการของ Scott et al., (1998)

2. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่า

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำที่คอ (anterior venacava) ของสุกรทั้ง 5 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว ในวันที่ 0 14 28 42 และ 56 ของการทดลอง ด้วยเข็มฉีดยาเบอร์ 21 และ 18 ขนาด 1 นิ้ว เก็บตัวอย่างเลือดตัวละประมาณ 2 มิลลิลิตร แบ่งใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cell) ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ฮีมาโตคริต (hematocrit) ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฮีโมโกลบินที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง (MCH) ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว

ทั้งหมด (white blood cell) จำแนกชนิดและจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาว ได้แก่ นิวโทรฟิล (neutrophil) อีโอซิโนฟิล (eosinophil) เบโซฟิล (basophil) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Coulter T890, diamond Diagnostic Inc., Holliston, MA, U.S.A.) และตัวอย่างเลือดอีก 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) เพื่อนำไปวัดค่ายูเรียไนโตรเจนในพลาสม่า (blood urea nitrogen) และค่าโปรตีนรวมในพลาสม่า (total protein) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีเทคนิค (Lysis ID B0567, Italy)

3. การเก็บตัวอย่างที่อยู่ในกระเพาะอาหารเพื่อตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง

ทำการสุ่มสุกรออกมากลุ่มละ 3 ตัว ในวันที่ 0 28 และ 56 ของการทดลอง ทำการการุณยฆาต โดยฉีด sodium pentobarbital ปริมาณ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ หลังจากที่สัตว์ตาย จึงทำการผ่าเปิดช่องท้องเพื่อเก็บตัวอย่างอาหารที่อยู่ในกระเพาะอาหาร โดยตักออกมาใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ probe ชนิดที่สำหรับใช้วัดตัวอย่างที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว (METTLER TOLEDO, U.S.A.) จุ่มลงในตัวอย่าง โดยตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ทันทีด้วยเครื่อง pH meter (METTLER TOLEDO, U.S.A.)

4. การเก็บตัวอย่างอาหารบริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย เพื่อตรวจการย่อยได้ของสารอาหารที่ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม (ileal nutrient digestibility)

ทำการผสมโครมิกออกไซด์ (chromic oxide: Cr_2O_3) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่ใช้เป็นสารบ่งชี้การย่อยได้ ให้สุกรกินต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน ได้แก่ ช่วงวันที่ 24 - 28 และช่วงวันที่ 52 - 56 ของการทดลอง (Healy et al., 1994) ก่อนเก็บตัวอย่างอาหารที่อยู่ในลำไส้เล็กส่วนปลาย ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง สุ่มสุกรออกมากลุ่มละ 3 ตัว เพื่อทำการการุณยฆาต และเก็บตัวอย่างอาหารบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม ตัวละประมาณ 50 - 100 กรัม นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะ ได้แก่ ค่าการย่อยได้ของโปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัสรวม ตามวิธีการของ AOAC (1990) ส่วนค่าพลังงานวิเคราะห์ด้วยเครื่องบอมบ์แคลอริมิเตอร์ (Automatic Bomb Calorimeter; Leco model AC - 350) และวิเคราะห์หาสารบ่งชี้การย่อยได้ตามวิธีการของ Williams และคณะ (1962) ดังต่อไปนี้

อุปกรณ์

1. crucible
2. เตาเผา
3. hot plate สำหรับย่อยตัวอย่าง
4. บีกเกอร์ขนาด 80 มิลลิลิตร
5. พู่กันปัดเศษตะกอนเถ้า
6. กรวยแก้ว
7. แท่งแก้วคนสาร
8. กระจกนาฬิกา
9. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
10. ขวดแก้วสีชาขนาด 100 มิลลิลิตร
11. เครื่อง UV - VIS spectrophotometer

สารละลายมาตรฐาน

1. สารละลายโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) มาตรฐาน ที่ใช้ในการ calibrate กับเครื่อง UV-VIS spectrophotometer กับช่วงความยาวคลื่น 357.90 นาโนเมตร

สารละลายที่ใช้ในการย่อย

1. สารละลายระหว่างแมงกานีสซัลเฟตและกรดฟอสฟอริก ($MnSO_4$+ Phosphoric acid) ที่เตรียมได้จาก 10 กรัม ของ $MnSO_4$ ที่ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร และดูดออกมา 3 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วย 85 เปอร์เซ็นต์ Phosphoric acid เป็น 250 มิลลิลิตร
2. สารละลายโปตัสเซียมโบรไมด์ (Potassium bromide)
3. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)

ขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 0.2 - 1.0 กรัม เผาบน hotplate ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้สารค่อยๆ ไหม้ แล้วไล่ควันออก ขั้นตอนนี้ทำใน hood จากนั้นย้ายไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 1 คืน

2. ถ่ายตะกอนเถ้าลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร และใช้พู่กันปัดเศษตะกอนเถ้าออกจาก crucible ลงในบีกเกอร์ให้หมด

3. ยกไปทำใน hood เติมสารละลายระหว่างแมงกานีสซัลเฟต และกรดฟอสฟอริกที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ในหัวข้อสารละลายที่ใช้ในการย่อย

4. เติมสารละลายโปตัสเซียมโบรไมด์ลงไป 4 มิลลิลิตร ในขั้นตอนนี้สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกปิดนาฬิกา ตั้งย่อยบน hotplate เมื่อเริ่มร้อนจะเกิดฟองก๊าซ สีเถ้าจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองและค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สังเกตที่ฟองก๊าซ ถ้าฟองก๊าซหมดแสดงว่าตัวอย่างถูกย่อยหมดแล้ว

5. เสร็จแล้ววางทิ้งไว้ให้เย็น เตรียมขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร รินสารละลายผ่านกรวย และล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น

6. เติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 12.5 มิลลิลิตร ขั้นตอนนี้สารละลายสีน้ำตาลจะกลายเป็นสีเหลืองใส เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ถ่ายสารละลายใส่ไว้ในขวดแก้วสีชาเก็บที่อุณหภูมิห้อง

7. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV - VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 357.90 นาโนเมตร

สำหรับเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ที่ปรากฏคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{\% การย่อยได้ที่ปรากฏ} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{\text{\% Cr ในอาหาร} \times \text{\% โภชนะในตัวอย่างที่ลำไส้}}{\text{\% Cr ในตัวอย่างที่ลำไส้} \times \text{\% โภชนะในอาหาร}} \right\}$$

5. การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กเพื่อศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ตรวจสัณฐานวิทยา และดัชนีการงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็ก

ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง ภายหลังการการุณยฆาต ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วน ได้แก่ ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) และลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) สำหรับตำแหน่งโดยปกติทั่วไป ลำไส้เล็กส่วนต้นอยู่ต่อลงมาจากกระเพาะอาหารส่วน pylorus และเชื่อมต่อกับลำไส้เล็กส่วนกลาง ซึ่งลำไส้เล็กส่วนต้นวางตัวแนวยาวกับตับอ่อน ส่วนลำไส้เล็กส่วนกลางและส่วนปลายแยกกันได้โดยสังเกตจาก ligament of Trietz เป็นจุดบ่งชี้ ซึ่ง ligament of Trietz จะวางตัวอยู่กับลำไส้เล็กส่วนปลาย (Buddington et al., 2001) ขั้นตอนและวิธีการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้นแบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กันตาม

ความยาว และเลือกเก็บตัวอย่างบริเวณส่วนที่ 2 ส่วนลำไส้เล็กส่วนกลางแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กันตามความยาว เลือกเก็บตัวอย่างบริเวณส่วนที่ 2 และลำไส้เล็กส่วนปลายแบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กันตามความยาว และเลือกเก็บตัวอย่างบริเวณส่วนที่ 2 ผ่าเปิดลำไส้เล็กตามแนวยาวของเยื่อยึดลำไส้ (mesentery) แผ่ออกแล้วชะล้างเศษอาหารออกด้วยน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ และใช้กระจกสไลด์ขูดผิวหน้า mucosa ประมาณ 1 - 2 กรัม เก็บในหลอดที่มีสารละลาย RNAlater®(Qiagen, Germany) เพื่อป้องกันไม่ให้ RNA ถูกทำลาย แล้วเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของตัวขนส่งเปปไทด์1 (PepT1) ด้วยวิธี real-time-polymerase-chain-reaction และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กแต่ละส่วนอีกประมาณ 1 เซนติเมตร เก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กลงในฟอร์มาลีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปย้อมสีศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ลำไส้เล็ก ด้วยดัชนีตัวบ่งชี้โปรตีน Ki-67 ดังรายละเอียดต่อไปนี้

5.1 การตรวจปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 โดยวิธี Real-Time-Polymerase-Chain-Reaction

5.1.1 การสกัด total RNA

การสกัด total RNA จากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกร ด้วยชุดสกัด Aurum™ Total RNA Fatty and Fibrous kit (Bio-Rad Laboratories,Inc. Hercules, U.S.A.) ตามวิธีการขั้นตอนมาตรฐานโดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ขั้นตอนแรกนำ mucosa จากเนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกรที่เก็บด้วยวิธีการดังกล่าวข้างต้นประมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ลงใน lysis solution 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการบด mucosa ตัวอย่างด้วย hand - held homogenizer ดูดตัวอย่างขึ้นลงผ่านเข็มเบอร์ 18 21 และ 26 ตามลำดับ เพื่อทำให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กที่สุดและบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

2. เติมคลอโรฟอร์ม 0.2 มิลลิลิตร เพื่อตกตะกอนโปรตีน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 x g (Andreas Hettich universal 32R, Tuttlingen, Germany) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกส่วนที่เป็นสารอินทรีย์อื่นๆ ออก ทำการเก็บของเหลวใสส่วนบน (supernatant) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็น RNAs ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3. เติมเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 700 ไมโครลิตร เพื่อตกตะกอน RNA และผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดตัวอย่างใส่ลงใน Aurum RNA binding mini column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที silica membrane ใน column สามารถจับ nucleic acid ที่ต้องการไว้ได้และแยกส่วนอื่นผ่าน column ออกไป

4. ทำการล้างส่วนที่เป็น lysis solution ออก ด้วยการเติมสารละลาย low stringency wash solution ลงไปใน RNA binding column นั้น และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 x g อุณหภูมิ 4 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

5. ทำลาย genomic DNA ที่อาจปนเปื้อนอยู่กับ nucleic acid โดยการเติมเอ็นไซม์ Dnase I ปริมาณ 80 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

6. เติมสารละลาย high stringency wash solution ปริมาณ 700 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

7. เติมสารละลาย low stringency wash solution ปริมาณ 700 ไมโครลิตร อีกครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

8. เติมสารละลาย elution solution อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อชะล้าง nucleic acid ที่จับอยู่ที่ silica membrane ซึ่งจะได้ total RNA ออกมา จากนั้นนำไปวัดค่าความเข้มข้นและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

5.1.2 **การสังเคราะห์** complementary DNA (cDNA)

ในขั้นนี้ total RNA ที่ได้ถูกเปลี่ยนให้เป็น cDNA โดยใช้ iScript™Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR kit (Bio-Rad) ซึ่งส่วนผสมของปฏิกิริยา 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย total RNA 1 ไมโครกรัม สารละลาย 5x iScript selected reaction mix ที่มีส่วนประกอบของ dNTPs magnesium chloride stabilizers และเอ็นไซม์ reverse transcriptase ปริมาณ 4 ไมโครลิตร และ nuclease free water 15 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วย 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตามลำดับ ได้ผลผลิต cDNA หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความเข้มข้นและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

5.1.3 การคำนวณค่าความเข้มข้นของ RNA หรือ cDNA

ปริมาณของ RNA หรือ cDNA ที่สกัดได้วัดค่าความเข้มข้นโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) (Model U - 2000, Hitachi Instrument Inc, Tokyo, Japan) ใช้ความยาวคลื่นที่ 260 นาโนเมตรและ 280 นาโนเมตร และคำนวณค่าความเข้มข้นตามวิธีการของ Birren และคณะ (1997) ดังสมการข้างล่างนี้

ความเข้มข้นของ total RNA (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร) = [40 x OD_{260} x dilution factor]

OD_{260} = ค่าการดูดกลืนแสง UV ของ total RNA/cDNA ที่วัดได้จากความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร
OD_{280} = ค่าการดูดกลืนแสง UV ของโปรตีนที่วัดได้จากความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

5.1.4 การตรวจปริมาณการแสดงออกของยีนด้วย SYBR green I real time PCR

การเพิ่มจำนวน cDNA ในตำแหน่งที่ต้องการ ด้วยเครื่อง ABI 7300 Real time PCR system (Applied Biosystems, U.S.A.) โดยในปฏิกิริยา PCR ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย cDNA 1 ไมโครกรัม SYBR green mastermix 10 ไมโครลิตร forward และ reverse primer (20 ไมโครโมล่าร์) อย่างละ 0.25 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำ 8.5 ไมโครลิตร เพื่อให้มีปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ ก่อนนำเข้าเครื่อง PCR ทำการปรับเปลี่ยนสภาวะในขั้นตอนต่างๆ โดยเริ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที จากนั้นมีการเปลี่ยนอุณหภูมิต่อรอบ ดังนี้ ขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที และขั้นตอน annealing และ extension ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที โดย primer ที่ใช้ ได้แก่ PepT1 และ 18S rRNA ที่มีลำดับเบส แสดงในตารางที่ 3.4

ทำซ้ำขั้นตอนดังกล่าว 40 รอบ จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนสุดท้าย (dissociation) ที่ 95 องศาเซลเซียส เวลา 15 วินาที 60 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที และ 95 องศาเซลเซียส เวลา 15 วินาที เพื่อให้กระบวนการเพิ่มจำนวนเสร็จสมบูรณ์และทำให้ทราบค่า Tm ซึ่งยีนแต่ละชนิดจะมีค่า Tm ที่เฉพาะตัวทำให้สามารถวิเคราะห์ความจำเพาะของยีนที่สนใจได้ หลักการของ SYBR Green I Dye เป็นสารเรืองแสงประเภทหนึ่งที่สามารถเข้าจับกับ DNA สายคู่ สารเรืองแสงนี้เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง UV จะคายพลังงานแสงออกมา สามารถถูกตรวจจับได้ด้วยตัวรับสัญญาณแสงของเครื่อง

Real Time PCR โดยในโปรแกรมของ Real Time PCR จะสามารถกำหนดจุด threshold ซึ่งเป็นจุดที่ลากผ่านช่วง exponential phase ของกระบวนการ PCR โดยในการศึกษาครั้งนี้กำหนดจุด threshold ไว้ที่ 0.05 ทำให้ได้ค่า cycle threshold (Ct) ออกมาและนำมาคิดเป็นค่าปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งที่สนใจ และค่าปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งที่สนใจสามารถถูกนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณการแสดงออกของยีน 18S rRNA ซึ่งเป็นตัวควบคุมเปรียบเทียบภายใน (internal control) โดยใช้สมการดังนี้

$$\text{Fold change} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

$$\Delta Ct = Ct^{\text{ยีนที่สนใจ}} - \text{ค่าเฉลี่ยของ } Ct^{\text{ยีนที่เป็นตัวควบคุมภายใน}}$$

$$\Delta\Delta Ct = [\Delta Ct]^{\text{กลุ่มที่สนใจ}} - \text{ค่าเฉลี่ยของ } [Ct]^{\text{กลุ่มควบคุม}}$$

ตารางที่ 3.4 แสดง primer ของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในสุกร และ 18S rRNA ที่ใช้เป็นตัวควบคุมภายใน

ยีน	Accession No.	ลำดับ (5' ไป 3')	ขนาด (bp)	แหล่งที่มา
PEPT1	AY180903.1	F: AGC ATC TTC TTC ATC GTG GTC AA	206	Xiao, 2005
		R: GTC TTG AAC TTC CCC AGC CA		
18S rRNA	AF102857	F: CCG CGG TTC TAT TTT GTT GGT TTT	399	Dave et al., 2004
		R: CGG GCC GGG TGA GGT TTC		

5.1.5 **ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอโดย** Gel Electrophoresis

ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอเป้าหมาย โดยใช้ agarose gel เพื่อให้ทราบขนาดของผลผลิต PCR มีขั้นตอนการตรวจสอบผลผลิต PCR ในขั้นตอนนี้ใช้ 2 เปอร์เซ็นต์ agarose gel โดยมีวิธีการ ดังนี้

1. เตรียม 2 เปอร์เซ็นต์ agarose gel โดยชั่งผง agarose 1 กรัม ละลายใน 1x TAE buffer 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่
2. ละลายผง agarose โดยเข้าตู้ไมโครเวฟ (microwave) 1 - 2 นาที

3. รอให้เย็นพอประมาณ จึงเติม ethidium bromide ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าเบาๆ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟอง
4. เทลงในถาด (tray) สำหรับเตรียมเจล แล้ววางหวี (comb) สำหรับทำช่องใส่ตัวอย่าง (wells)
5. รอให้เจลแข็งตัวสมบูรณ์ ใช้เวลาประมาณ 30 นาที
6. ดึงหวีออกและวางถาดเจลลงใน chamber in 1x TAE buffer ให้ท่วมเจล
7. ทำการหยอดตัวอย่างผลผลิต PCR ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ที่ผสมกับ loading dye ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละช่องของ 2 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ที่เตรียมไว้
8. ทำการหยอด DNA ladder ขนาด 100 bp ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงไป 1 ช่อง เพื่อวัดขนาดดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น
9. ทำการประกอบเครื่อง electrophoresis ให้เรียบร้อย และตั้งกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ใช้เวลาประมาณ 40 นาที จึงนำแผ่นเจลไปตรวจสอบการเรืองแสงของแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) ทำการถ่ายภาพและบันทึกผล

5.2 การตรวจสัณฐานเนื้อเยื่อลำไส้เล็ก

นำเนื้อเยื่อลำไส้เล็กที่เก็บรักษาในฟอร์มาลีน 10 เปอร์เซ็นต์ มาผ่านกระบวนการ dehydration โดยเริ่มจากใช้แอลกอฮอล์ 70 80 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผ่านไซลีนและฝังเนื้อเยื่อลงในบล็อกที่มีพาราฟิน หลังจากนั้นตัดชิ้นเนื้อเยื่อให้มีความหนา 4 - 5 ไมครอน นำไปย้อมสี Harris’ Alum Hematoxylin และ eosin นำตัวอย่างไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 20x วัดความสูงของวิลไลและความลึกของคริปท์ โดยใช้โปรแกรม Scion Image Software (Scion image; Scion Corporation, Frederick, MD) ส่วนวิธีการวัดความสูงของวิลไลและความลึกของคริปท์ในแต่ละชิ้นตัวอย่างจะแบ่งส่วนการนับออกเป็น 4 ส่วนหน้าตัด (section) การวัดความสูงของวิลไลวัดตั้งแต่ปลายบนสุดของวิลไลจนถึงฐานของวิลไล ซึ่งไม่รวมบริเวณคริปท์และนำค่าความสูงของวิลไลจากพื้นที่หน้าตัดทั้ง 4 ส่วนมาหาค่าเฉลี่ย ส่วนความลึกของคริปท์แบ่งส่วนการนับออกเป็น 4 ส่วนหน้าตัดเช่นเดียวกัน วัดความลึกตั้งแต่ฐานของวิลไลถึง mucosa cell และนำค่าความลึกของคริปท์ จากพื้นที่หน้าตัดทั้ง 4 ส่วนมาหาค่าเฉลี่ย แปลผลการ

ทดลองโดยการคำนวณสัดส่วนของวิลไลต่อคริปท์ ดังสมการข้างล่างนี้ (Martins - Rodrigues et al., 2007)

$$\text{สัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์} = \frac{\text{ความสูงของวิลไล}}{\text{ความลึกของคริปท์}}$$

5.3 การตรวจวัดดัชนีการงอกขยาย

ใช้เทคนิคอิมมูนโนฮิสโตเคมีตรวจวัดดัชนีการงอกขยาย (proliferative marker) ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กด้วยค่าโปรตีน Ki-67 โดยการนำเนื้อเยื่อลำไส้เล็กที่ตัดให้มีความหนา 4 - 5 ไมครอน วางชิ้นเนื้อเยื่อไว้บนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยพาราฟิน จากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการละลายพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อ (deparafinization) โดยใช้ไซลีน และเติมน้ำเข้าเนื้อเยื่อ (rehydration) โดยแช่ในแอลกอฮอล์จาก 100 95 85 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นบ่มในสารละลาย citrate buffer (10 mM, pH = 6) บ่มที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที เพื่อให้ antigen ในตัวอย่างกลับสู่สภาพเดิม ต่อมาแช่ตัวอย่างลงในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ในเมทานอลบริสุทธิ์ (absolute methanol) นาน 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง เพื่อทำลายปฏิกิริยาจาก endogenous peroxidase จากนั้นป้องกันผลของปฏิกิริยาจากการติดสีที่ไม่จำเพาะอื่นๆ โดยการบ่มในสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยหยด monoclonal anti - mouse Ki-67 (Clone MIB - I, DAKO, Denmark) ความเข้มข้น 1 ต่อ 200 ส่วน บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน (ประมาณ 14 - 15 ชั่วโมง) ล้าง antibody ออกด้วย phosphate buffer saline (PBS) 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หยด secondary antibody detection system (Envision®, DAKO) ในขนาดความเข้มข้น 1 ต่อ 400 ส่วน บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 45 นาที ล้าง antibody ออกด้วย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ทำให้เกิดสี โดยจุ่มในสารละลาย 3,3’-diaminobenzidine (DAB) 0.075 กรัม (DAKO) ใน Tris buffer 150 มิลลิลิตร และ H_2O_2 เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที และหยุดปฏิกิริยาโดยการล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำตัวอย่างย้อมทับด้วยสี hematoxylin นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำเปล่า และปิดผนึกสไลด์ ตรวจผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสว่างโดยใช้กำลังขยาย 40x (Nikon, Japan) อ่านผลโดยการนับ

จำนวนเซลล์ลำไส้เล็กที่ย้อมติดสีน้ำตาลแดงในชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณเซลล์คริปท์ต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลองด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลองด้วย Duncan's Multiple Range Test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางโภชนะจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่ามีองค์ประกอบทางโภชนะใกล้เคียงกับองค์ประกอบทางโภชนะในอาหารทดลองที่ได้จากการคำนวณ รวมทั้งใกล้เคียงกับความต้องการของสุกรหลังหย่านม ตามข้อกำหนดของ NRC (1998) ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของสูตรอาหารพื้นฐานสำหรับลูกสุกรหลังหย่านมที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (% วัตถุแห้ง)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
วัตถุแห้ง	90.66
เถ้า	6.59
โปรตีน	22.58
ไขมัน	5.43
เยื่อใย	4.01
แคลเซียม	0.82
ฟอสฟอรัสรวม	0.77
พลังงานรวม (gross energy) (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	4,222.80

หมายเหตุ เมื่อปรับค่าวัตถุแห้งเป็น 100% คิดเป็นค่าของเถ้าเท่ากับ 7.26% โปรตีนเท่ากับ 24.90% ไขมันเท่ากับ 5.98% เยื่อใยเท่ากับ 4.42% แคลเซียมเท่ากับ 0.90% ฟอสฟอรัสรวมเท่ากับ 0.84%

2. สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการตาย

2.1 น้ำหนักตัวของสุกรในแต่ละสัปดาห์ของการทดลอง

ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ที่มีต่อน้ำหนักตัวของสุกรช่วงหลังหย่านม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเติมยาปฏิชีวนะ พบว่าน้ำหนักตัวเริ่มต้นของสุกรทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง มีค่าอยู่ระหว่าง 5.63 ถึง 5.71 กิโลกรัม และตลอดระยะการทดลองน้ำหนักตัวของลูกสุกรหลังหย่านมทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

2.2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของสุกรในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

สำหรับผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว แสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าในช่วงวันที่ 22 - 28 ของการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวเพิ่มมากกว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ สำหรับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิ โกแซคคาไรด์ระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าทุกกลุ่มในการทดลอง แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร นอกจากนั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าในช่วงวันที่ 43 - 49 และในช่วงเดือนที่ 2 ระหว่างวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง พบว่าการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของลูกสุกรมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นมากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ

ตารางที่ 4.2 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อน้ำหนักตัวสุกร (กิโลกรัม)

วันที่ของการทดลอง	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
1	5.63 (14)	5.69 (14)	5.71 (13)	5.68 (14)	5.69 (13)	0.07	0.99
7	6.66 (13)	6.76 (11)	7.16 (12)	6.72 (13)	6.93 (12)	0.15	0.86
14	9.28 (13)	9.15 (11)	10.06 (12)	8.64 (13)	10.26 (12)	0.43	0.75
21	12.15 (12)	12.46 (11)	14.20 (12)	11.77 (11)	13.97 (12)	0.55	0.54
28	15.54 (12)	15.15 (11)	18.51 (12)	14.90 (11)	18.54 (12)	0.70	0.24
35	20.38 (8)	20.00 (8)	24.96 (9)	20.25 (8)	23.73 (9)	0.97	0.34
42	25.26 (8)	24.61 (8)	30.29 (9)	26.65 (7)	28.80 (9)	1.04	0.36
49	31.07 (8)	30.11 (8)	37.08 (9)	32.41 (7)	34.59 (9)	1.12	0.27
56	36.65 (8)	35.95 (8)	43.74 (9)	38.27 (7)	40.62 (9)	1.18	0.19

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.3 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

วันที่	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
1 - 7	1.07 (13)	1.03 (11)	1.42 (12)	0.98 (13)	1.18 (12)	0.10	0.71
8 - 14	2.61 (13)	2.39 (11)	2.89 (12)	1.91 (13)	3.33 (12)	0.32	0.70
15 - 21	3.06 (12)	3.30 (11)	4.14 (12)	2.90 (11)	3.71 (12)	0.17	0.14
22 - 28	3.23[กขค] (12)	2.69[ค] (11)	4.30[กข] (12)	3.12[ขค] (11)	4.57[ก] (12)	0.22	0.02
1 - 28	9.53 (12)	9.32 (11)	12.77 (12)	9.31 (11)	12.79 (12)	0.69	0.20
29 - 35	4.38 (8)	3.94 (8)	5.31 (9)	3.99 (8)	4.33 (9)	0.20	0.21
36 - 42	4.87 (8)	4.61 (8)	5.33 (9)	5.06 (7)	5.07 (9)	0.14	0.63
43 - 49	5.81[ข] (8)	5.49[ข] (8)	6.78[ก] (9)	5.75[ข] (7)	5.79[ข] (9)	0.15	0.06
50 - 56	5.57 (8)	5.84 (8)	6.66 (9)	5.86 (7)	6.03 (9)	0.18	0.36
29 - 56	20.65[กข] (8)	18.76[ข] (8)	24.09[ก] (9)	21.17[กข] (7)	21.23[กข] (9)	0.60	0.06
1 - 56	31.37 (8)	28.72 (8)	38.02 (9)	32.39 (7)	34.77 (9)	1.28	0.18

[กขค] หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึง ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

2.3 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกรในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกร แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าช่วงในวันที่ 22 - 28 ของการทดลอง ค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมากกว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่ไม่มีความแตกต่างกันจากกลุ่มอื่นนอกจากนี้พบว่าในวันที่ 43 - 49 ของการทดลอง อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (p=0.06) โดยกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมากกว่ากลุ่มอื่นๆ และเมื่อพิจารณาในช่วงเดือนที่ 2 ระหว่างวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง พบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมากที่สุดและมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในขณะที่กลุ่มอื่นๆ มีค่าไม่แตกต่างกัน

2.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวันของสุกรในแต่ละสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่อค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าตลอดระยะการทดลองค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวันของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

2.5 อัตราการเปลี่ยนอาหารของสุกรในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่ออัตราการเปลี่ยนอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าตลอดระยะเวลาการทดลองทั้ง 2 เดือน กลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีแนวโน้มต่อค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารของสุกรดีกว่ากลุ่มอื่นๆ (p=0.06)

ตารางที่ 4.4 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

วันที่	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก.อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
1 - 7	0.15	0.14	0.20	0.14	0.16	0.01	0.72
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
8 - 14	0.37	0.34	0.41	0.27	0.47	0.04	0.70
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
15 - 21	0.43	0.47	0.59	0.41	0.52	0.02	0.14
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
22 - 28	0.48[กขค]	0.38[ค]	0.61[กข]	0.44[ขค]	0.65[ก]	0.03	0.02
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
1 - 28	0.35	0.33	0.45	0.33	0.45	0.02	0.23
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
29 - 35	0.62	0.56	0.75	0.57	0.61	0.02	0.21
	(8)	(8)	(9)	(8)	(9)		
36 - 42	0.69	0.65	0.76	0.72	0.72	0.02	0.62
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
43 - 49	0.83[ข]	0.78[ข]	0.97[ก]	0.82[ข]	0.82[ข]	0.02	0.06
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
50 - 56	0.79	0.83	0.95	0.83	0.86	0.02	0.35
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
29 - 56	0.73[ข]	0.71[ข]	0.86[ก]	0.75[ข]	0.76[ข]	0.01	0.02
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
1 - 56	0.56	0.53	0.67	0.57	0.61	0.02	0.17
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		

[กขค]หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.5 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวันของสุกร (กิโลกรัม) ในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

วันที่	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
1 - 7	0.30	0.27	0.32	0.29	0.32	0.01	0.85
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
8 - 14	0.44	0.43	0.40	0.40	0.41	0.01	0.78
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
15 - 21	0.71	0.59	0.63	0.56	0.66	0.02	0.32
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
22 - 28	1.01	0.85	1.08	0.94	1.06	0.03	0.15
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
1- 28	0.60	0.54	0.61	0.55	0.61	0.02	0.42
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
29 - 35	1.29	1.03	1.28	1.14	1.17	0.05	0.37
	(8)	(8)	(9)	(8)	(9)		
36 - 42	1.52	1.42	1.51	1.47	1.15	0.06	0.18
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
43 - 49	1.85	1.73	1.86	1.79	1.76	0.04	0.76
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
50 - 56	2.12	1.94	2.09	2.06	2.00	0.05	0.82
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
29 - 56	1.70	1.53	1.68	1.63	1.52	0.04	0.51
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
1 - 56	1.15	1.05	1.15	1.11	1.07	0.03	0.65
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.6 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารของสุกรในแต่ละช่วงสัปดาห์และเดือนของการทดลอง

วันที่	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
1 - 7	2.88	4.02	1.16	4.95	2.07	0.58	0.24
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
8 - 14	1.79	1.75	0.67	2.53	0.96	0.26	0.17
	(13)	(11)	(12)	(13)	(12)		
15 - 21	1.96	1.35	1.16	2.22	1.35	0.14	0.09
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
22 - 28	2.97	1.71	2.10	1.37	1.60	0.28	0.42
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
1 - 28	2.44	2.21	1.27	2.43	1.49	0.18	0.12
	(12)	(11)	(12)	(11)	(12)		
29 - 35	2.18	2.12	1.71	2.72	2.02	0.16	0.41
	(8)	(8)	(9)	(8)	(9)		
36 - 42	2.33	2.19	2.01	2.04	1.66	0.09	0.20
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
43 - 49	2.26	2.28	1.95	2.20	2.21	0.06	0.48
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
50 - 56	2.53	2.15	1.96	2.28	2.17	0.09	0.41
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
29 - 56	2.32	2.18	1.91	2.16	2.01	0.06	0.24
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		
1 - 56	2.23^{ก}	2.09^{กข}	1.65^{ข}	1.96^{กข}	1.73^{ข}	0.07	0.06
	(8)	(8)	(9)	(7)	(9)		

^{กข} หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

2.6 อัตราการตาย

การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่ออัตราการตาย พบว่าตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง กลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการตายของลูกสุกรสูงสุดเท่ากับ 4 ตัว ลำดับต่อมาเป็นกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการตาย 3 และ 2 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งมีจำนวนสุกรที่ตายเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะเท่ากับ 1 ตัว ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่ออัตราการตายของสุกรตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง

กลุ่มทดลอง	จำนวนตัวที่ตาย/สุกรทั้งหมด
1. อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1%	2/14
2. อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร	3/14
3. อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร	1/13
4. อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร	4/14
5. อาหารกลุ่มที่ 1 และเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน 110 มก./กก.อาหาร	1/13

3. การตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา ยูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่า

3.1 ค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในแต่ละ 2 สัปดาห์ของการทดลอง

การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 0 14 28 42 และ 56 ของการทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ในระดับค่าเฉลี่ยปกติในแต่ละระยะการทดลอง ยกเว้นในวันที่ 0 ของการทดลองที่ลักษณะของการเปลี่ยนแปลงบ่งบอกถึงความเครียด (stress leukogram) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ถึง 4.11

ตารางที่ 4.8 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 0 และ14 ของการทดลอง

	วันที่ 0 ของการทดลอง (n = 3)	ค่าปกติ[1/]	วันที่ 14 ของการทดลอง					ค่าปกติ[1/]
			กลุ่มที่ 1 (n = 4)	กลุ่มที่ 2 (n = 4)	กลุ่มที่ 3 (n = 4)	กลุ่มที่ 4 (n = 4)	กลุ่มที่ 5 (n = 4)	
Red blood cell (10^6/μl)	6.87 ± 3.83	4.40-5.30	6.51 ± 0.21	6.13 ± 0.30	5.40 ± 0.60	6.16 ± 0.46	5.35 ± 0.71	5.90 - 6.80
Hemoglobin (g/dl)	11.33 ± 0.73	9.00-11.20	10.55 ± 0.24	9.93 ± 0.41	8.80 ± 0.64	9.43 ± 0.49	8.60 ± 0.98	11.30 - 13.30
Hematocrit (%)	43.87 ± 3.79	35.50-40.50	38.73 ± 0.78	35.75 ± 1.77	31.63 ± 2.90	35.00 ± 2.18	31.45 ± 4.09	37.00 - 44.00
MCV (fl)	64.00 ± 2.52	70.00-82.00	60.00 ± 2.48	58.50 ± 1.55	59.00 ± 3.03	57.25 ± 2.39	59.00 ± 1.78	62.00 - 68.00
MCH (pg)	16.73 ± 0.90	19.00-23.00	16.25 ± 0.71	16.25 ± 0.46	16.55 ± 1.07	15.43 ± 0.82	16.25 ± 0.64	18.80 - 20.00
MCHC (%)	26.00 ± 0.59	26.00-29.00	27.15 ± 0.09	27.80 ± 0.36	27.93 ± 0.71	26.90 ± 0.67	27.53 ± 0.49	28.00 - 32.00
White blood cell (x10^3/ μl)	14.80 ± 3.83	6.20-10.50	19.88 ± 2.71	22.65 ± 6.22	22.45 ± 3.44	16.88 ± 5.34	13.53 ± 3.31	12.70 - 20.90
Neutrophil (%)	55.50 ± 1.61	13.50-39.50	49.75 ± 7.70	49.75 ± 11.40	53.63 ± 7.50	58.00 ± 7.19	55.25 ± 3.37	28.00 - 43.00
Eosinophil (%)	1.00 ± 0.58	0.00-2.00	0.63 ± 0.24	0.38 ± 0.38	0.75 ± 0.32	1.13 ± 0.55	1.00 ± 0.20	3.50 - 14.00
Basophil (%)	0.00 ± 0.00	0.00-0.50	0.13 ± 0.13	0.13 ± 0.13	0.13 ± 0.13	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 - 1.50
Lymphocyte (%)	42.50 ± 1.26	55.00-82.00	47.63 ± 8.00	48.38 ± 10.81	43.63 ± 7.09	39.38 ± 7.27	42.50 ± 3.63	40.00 - 68.00
Monocyte (%)	1.00 ± 0.29	2.00-7.00	1.88 ± 1.03	1.38 ± 0.85	1.88 ± 0.55	1.38 ± 0.80	1.25 ± 0.78	3.00 - 10.50

ข้อมูลรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± S.E.M.

กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก. 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

[1/] Normal values from Duroc-Jersey pigs at day 20 and 36 from Weiss and Wardrop, 2010

ตารางที่ 4.9 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 28 ของการทดลอง

	วันที่ 28 ของการทดลอง					ค่าปกติ[1/]
	กลุ่มที่ 1 (n = 3)	กลุ่มที่ 2 (n = 3)	กลุ่มที่ 3 (n = 3)	กลุ่มที่ 4 (n = 3)	กลุ่มที่ 5 (n = 3)	
Red blood cell ($10^6/\mu l$)	5.25 ± 0.68	5.56 ± 0.29	5.83 ± 0.50	5.29 ± 0.80	6.14 ± 0.65	4.40 - 8.60
Hemoglobin (g/dl)	9.20 ± 1.18	9.53 ± 0.49	9.90 ± 0.89	10.47 ± 2.70	10.17 ± 1.18	9.00 - 16.20
Hematocrit (%)	30.87 ± 4.47	31.93 ± 1.21	33.63 ± 2.08	28.30 ± 3.45	35.03 ± 3.61	33.90 - 45.90
MCV (fl)	59.00 ± 2.65	57.33 ± 0.67	58.00 ± 1.53	54.00 ± 2.08	57.33 ± 1.33	17.60 - 79.60
MCH (pg)	17.57 ± 0.45	17.10 ± 0.47	16.90 ± 0.15	19.50 ± 3.71	16.57 ± 0.28	15.20 - 56.30
MCHC (%)	29.93 ± 0.72	29.80 ± 0.90	29.23 ± 1.03	36.23 ± 7.30	29.00 ± 1.05	29.40 - 35.90
White blood cell ($x10^3/\mu l$)	18.03 ± 8.22	12.90 ± 1.67	20.57 ± 1.84	16.93 ± 6.21	16.50 ± 5.76	6.30 - 21.10
Neutrophil (%)	31.33 ± 8.84	40.67 ± 12.17	49.50 ± 7.94	53.00 ± 7.55	39.83 ± 5.10	22.00 - 60.60
Eosinophil (%)	1.83 ± 1.01	1.33 ± 0.73	2.00 ± 1.04	0.17 ± 0.17	0.67 ± 0.44	0.00 - 7.70
Basophil (%)	0.17 ± 0.17	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 - 1.30
Lymphocyte (%)	62.83 ± 8.15	52.83 ± 9.43	46.00 ± 5.58	44.67 ± 9.05	58.33 ± 4.21	38.10 - 73.10
Monocyte (%)	3.17 ± 0.93	3.67 ± 1.33	2.33 ± 1.59	0.33 ± 0.33	1.17 ± 0.60	0.00 - 15.00

ข้อมูลรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± S.E.M.

กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

[1/] Normal values from pigs 35-55 kg from Bollen และคณะ (2000)

ตารางที่ 4.10 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 42 ของการทดลอง

	วันที่ 42 ของการทดลอง					ค่าปกติ[1/]
	กลุ่มที่ 1 (n = 3)	กลุ่มที่ 2 (n = 3)	กลุ่มที่ 3 (n = 3)	กลุ่มที่ 4 (n = 3)	กลุ่มที่ 5 (n = 3)	
Red blood cell (10^6/µl)	5.69 ± 0.49	5.64 ± 0.35	5.03 ± 0.03	5.60 ± 0.14	4.79 ± 0.62	4.40 - 8.60
Hemoglobin (g/dl)	9.67 ± 0.35	9.40 ± 0.64	8.90 ± 0.49	9.57 ± 0.18	8.73 ± 0.70	9.00 - 16.20
Hematocrit (%)	34.10 ± 0.67	33.00 ± 1.15	31.43 ± 0.18	33.70 ± 1.59	30.83 ± 2.85	33.90 - 45.90
MCV (fl)	61.37 ± 4.06	58.77 ± 1.53	62.43 ± 0.30	60.17 ± 1.69	62.53 ± 2.72	17.60 - 79.60
MCH (pg)	17.30 ± 1.31	16.70 ± 0.44	17.90 ± 0.83	17.13 ± 0.32	17.77 ± 0.88	15.20 - 56.30
MCHC (%)	28.37 ± 1.03	28.43 ± 1.17	28.57 ± 1.19	28.53 ± 1.27	28.40 ± 1.08	29.40 - 35.90
White blood cell (x10^3/ µl)	19.17 ± 4.73	19.20 ± 4.18	18.60 ± 5.33	15.93 ± 4.97	14.90 ± 1.10	6.30 - 21.10
Neutrophil (%)	54.83 ± 0.44	58.17 ± 6.62	65.17 ± 2.09	63.00 ± 6.01	52.67 ± 10.25	22.00 - 60.60
Eosinophil (%)	2.67 ± 0.83	1.68 ± 0.84	2.00 ± 1.00	2.00 ± 0.76	1.67 ± 0.67	0.00 - 7.70
Basophil (%)	0.50 ± 0.50	0.17 ± 0.17	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 - 1.30
Lymphocyte (%)	41.00 ± 1.76	38.33 ± 7.62	31.67 ± 2.17	33.33 ± 6.34	44.67 ± 10.76	38.10 - 73.10
Monocyte (%)	1.00 ± 0.58	1.50 ± 0.00	1.00 ± 0.29	1.67 ± 1.01	0.83 ± 0.83	0.00 - 15.00

ข้อมูลรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± S.E.M.

กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

[1/] Normal values from pigs 35-55 kg from Bollen และคณะ (2000)

ตารางที่ 4.11 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสุกรในวันที่ 56 ของการทดลอง

	วันที่ 56 ของการทดลอง					ค่าปกติ[1/]
	กลุ่มที่ 1 (n = 5)	กลุ่มที่ 2 (n = 4)	กลุ่มที่ 3 (n = 5)	กลุ่มที่ 4 (n = 4)	กลุ่มที่ 5 (n = 5)	
Red blood cell ($10^6/\mu l$)	6.35 ± 0.15	6.28 ± 0.50	5.80 ± 0.30	5.90 ± 0.17	5.91 ± 0.19	4.40 - 8.60
Hemoglobin (g/dl)	10.40 ± 0.27	10.15 ± 0.61	9.56 ± 0.29	10.60 ± 0.18	9.96 ± 0.19	9.00 - 16.20
Hematocrit (%)	36.70 ± 1.16	34.85 ± 1.94	32.78 ± 0.80	35.85 ± 1.17	34.10 ± 0.72	33.90 - 45.90
MCV (fl)	58.00 ± 1.87	56.00 ± 1.83	57.00 ± 2.21	61.25 ± 1.49	57.80 ± 2.08	17.60 - 79.60
MCH (pg)	16.42 ± 0.53	16.30 ± 0.63	16.58 ± 0.57	18.00 ± 0.51	16.90 ± 0.47	15.20 - 56.30
MCHC (%)	28.36 ± 0.21	29.15 ± 0.28	29.06 ± 0.36	29.40 ± 0.61	29.18 ± 0.31	29.40 - 35.90
White blood cell ($x10^3/\mu l$)	16.82 ± 2.34	17.30 ± 2.19	15.28 ± 1.41	17.43 ± 2.86	17.60 ± 2.12	6.30 - 21.10
Neutrophil (%)	34.10 ± 6.44	34.38 ± 7.73	41.40 ± 11.25	36.00 ± 8.24	35.80 ± 3.18	22.00 - 60.60
Eosinophil (%)	2.20 ± 0.51	1.38 ± 0.77	4.10 ± 1.32	1.75 ± 0.48	3.40 ± 1.20	0.00 - 7.70
Basophil (%)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.20 ± 0.20	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 - 1.30
Lymphocyte (%)	62.40 ± 6.63	63.50 ± 8.67	53.30 ± 12.95	59.75 ± 7.68	60.00 ± 4.55	38.10 - 73.10
Monocyte (%)	1.20 ± 0.51	0.75 ± 0.43	0.90 ± 0.40	2.38 ± 0.85	0.80 ± 0.50	0.00 - 15.00

ข้อมูลรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± S.E.M.

กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

[1/] Normal values from pigs 35-55 kg from Bollen และคณะ (2000)

3.2 ค่ายูเรียไนโตรเจนและโปรตีนรวมในพลาสม่าของสุกรในแต่ละ 2 สัปดาห์ของการทดลอง

ก่อนเริ่มทำการทดลอง (วันที่ 0) ค่ายูเรียไนโตรเจนของลูกสุกรมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.00 $\pm$ 0.95 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในระดับปกติซึ่งโดยปกติยูเรียไนโตรเจนในสุกรเท่ากับ 8.00 - 24.00 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Blood and Studdert, 1988) ทางด้านค่าโปรตีนรวมในพลาสม่ามีค่าเท่ากับ 6.03 $\pm$ 0.18 กรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งอยู่ในระดับปกติเช่นเดียวกัน โดยค่าปกติโปรตีนรวมในพลาสม่าในสุกรเท่ากับ 5.60 $\pm$ 1.00 กรัมต่อเดซิลิตร (Michael Swindle, 2007) ต่อมาผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เติมลงไปในอาหารสุกร ผลจากการทดลองพบว่าค่ายูเรียไนโตรเจน และค่าโปรตีนรวมในพลาสม่าในแต่ละ 2 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 4.12 พบว่าตลอดแต่ละระยะช่วงการทดลอง ค่าดังกล่าวไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ระหว่าง 5 กลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.12 ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่ายูเรียไนโตรเจนและค่าโปรตีนรวมในพลาสม่าของสุกรในวันที่ 14 28 42 และ 56 ของการทดลอง

วันที่ของการทดลอง	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก.อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
ค่ายูเรียไนโตรเจนในพลาสม่า (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)							
14	15.15	14.30	15.43	16.83	15.83	0.71	0.88
	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)		
28	14.07	15.13	13.73	11.90	15.07	0.89	0.84
	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)		
42	14.47	14.50	16.23	15.33	15.13	0.95	0.98
	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)		
56	19.58	16.88	20.90	18.50	19.98	0.80	0.63
	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)		
ค่าโปรตีนรวมในพลาสม่า (กรัมต่อเดซิลิตร)							
14	5.05	5.25	5.10	5.25	5.00	0.06	0.59
	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)		
28	6.43	6.30	6.70	6.57	6.27	0.17	0.95
	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)		
42	6.27	6.60	6.13	6.07	6.13	0.10	0.45
	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)		
56	6.36	6.40	6.34	6.63	6.56	0.06	0.51
	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)		

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงจำนวนสุกรในกลุ่มการทดลอง

ค่าปกติยูเรียไนโตรเจนในสุกรเท่ากับ 8.00 - 24.00 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Blood and Studdert, 1988)

ค่าปกติโปรตีนรวมในพลาสม่าในสุกรเท่ากับ 5.60 $\pm$ 1.00 กรัมต่อเดซิลิตร (Michael Swindle, 2007)

4. สภาพความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสิ่งที่อยู่ในกระเพาะอาหาร

ในวันที่ 0 ของการทดลอง ค่าความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุอยู่ในกระเพาะอาหารเท่ากับ 4.26 $\pm$ 0.05 ส่วนผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสุกรต่อความเป็นกรด - ด่างในกระเพาะอาหาร พบว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างในกระเพาะอาหารของกลุ่มลูกสุกรที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 กลุ่มลดลง แต่ผลดังกล่าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าในวันที่ 56 ของการทดลองนั้นมีแนวโน้มที่จะเกิดสภาวะความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (p=0.09) เมื่อสุกรได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารในความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสภาพความเป็นกรด - ด่างภายในกระเพาะอาหารของสุกร ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง

วันที่	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin	SEM	*p*-value
	0	75	150	225	(110 มก./ กก.อาหาร)		
28	4.25	3.97	3.94	3.47	4.30	0.13	0.29
56	4.27[ก]	3.47[กข]	3.69[กข]	3.20[ข]	4.16[ก]	0.15	0.09

[กข] หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (แต่ละกลุ่ม n=3)

5. การย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนปลาย (ส่วนไอเลี่ยม)

ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อค่าการย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม (ileal digestibility) ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง แสดงดังตารางที่ 4.14

ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ ของเถ้า โปรตีน ไขมัน แคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) คือกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์

การย่อยได้ของเถ้าสูงเทียบเท่ากับกลุ่มที่เติมยาปฏิชีวนะและมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในการทดลอง ในขณะที่กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบการย่อยได้ของเถ้าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโปรตีน พบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของโปรตีนมากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของโปรตีนต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของไขมัน พบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของไขมันมากกว่ากลุ่มอื่นๆ และไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าการย่อยได้ของไขมันต่ำและไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของแคลเซียม พบว่ากลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเทียบเท่ากับกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะและไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่มีค่าการย่อยได้ของแคลเซียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทั้งสองกลุ่มหลังนี้ไม่ต่างกัน สำหรับผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เติมลงไปในอาหารที่มีต่อการย่อยได้ของฟอสฟอรัส พบว่ากลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะมีการย่อยได้ของฟอสฟอรัสที่ไม่แตกต่างกัน พบว่ามีการย่อยได้ของฟอสฟอรัสต่ำในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เติมลงไปในอาหารที่มีต่อการย่อยได้ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ พบว่ากลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด ลำดับต่อมาเป็นกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ กลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร กลุ่มควบคุม และพบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ

ในวันที่ 56 ของการทดลอง ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อค่าการย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม พบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของเถ้า โปรตีน ไขมัน แคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังนี้ กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มี

การเติมยาปฏิชีวนะ มีค่าการย่อยได้ของเถ้ามากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโปรตีน พบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ แต่มีค่าการย่อยได้ของโปรตีนมากกว่ากลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าการย่อยได้ของโปรตีนต่ำแต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของไขมัน พบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของไขมันเทียบเท่ากับกลุ่มได้รับยาปฏิชีวนะและมากกว่ากลุ่มอื่นๆ กลุ่มที่ได้รับการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่ามีค่าการย่อยได้ของไขมันน้อยกว่ากลุ่มอื่นในการทดลอง แต่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และมากกว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของแคลเซียม พบว่ากลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะมีการย่อยได้ของแคลเซียมมากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของแคลเซียมน้อยกว่าทุกกลุ่ม แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับการย่อยได้ของฟอสฟอรัสพบว่ากลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะมีการย่อยได้มากกว่ากลุ่มอื่นๆ และไม่ต่างกับกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการย่อยได้ของฟอสฟอรัสน้อยที่สุด และผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เติมลงไปในอาหารต่อการย่อยได้ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ พบว่ากลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการย่อยได้ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้มากกว่ากลุ่มอื่นแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ ลำดับต่อมาเป็นกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มควบคุมมีการย่อยได้ของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 4.14 ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยมของสุกร ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณที่เสริมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก.อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
วันที่ 28 ของการทดลอง							
วัตถุแห้ง	84.85	84.92	86.55	85.68	86.74	0.31	0.15
เถ้า	6.65^{ข}	6.79^{ข}	7.35^{ก}	5.92^{ค}	7.78^{ก}	0.14	<.0001
โปรตีน	68.55^{ค}	67.80^{ค}	78.66^{ก}	64.90^{ง}	76.26^{ข}	1.01	<.0001
ไขมัน	72.87^{ค}	73.06^{ค}	76.29^{ก}	73.89^{ขค}	74.98^{กข}	0.34	0.0020
เยื่อใย	55.10	53.44	55.25	55.09	54.53	0.29	0.28
แคลเซียม	53.77^{ง}	54.77^{คง}	57.82^{กข}	56.26^{ขค}	58.45^{ก}	0.42	<.0001
ฟอสฟอรัสรวม	51.66^{ข}	51.73^{ข}	57.95^{ก}	55.85^{กข}	59.30^{ก}	0.85	0.0021
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กก.)	2,019.58^{ง}	2,078.07^{ค}	2,191.59^{ก}	1,936.26^{จ}	2,095.25^{ข}	22.68	<.0001
วันที่ 56 ของการทดลอง							
วัตถุแห้ง	85.35^{ค}	86.15^{กขค}	87.70^{กข}	85.53^{ขค}	87.92^{ก}	0.36	0.05
เถ้า	6.88^{ข}	7.77^{ก}	7.13^{กข}	6.51^{ข}	7.17^{กข}	0.12	0.01
โปรตีน	70.34^{ค}	71.87^{ข}	77.58^{ก}	69.66^{ค}	76.74^{ก}	0.64	<.0001
ไขมัน	75.55^{ข}	75.35^{ข}	78.13^{ก}	74.29^{ค}	77.89^{ก}	0.29	<.0001
เยื่อใย	55.39	54.83	57.59	56.60	57.03	0.53	0.47
แคลเซียม	58.93^{ง}	60.75^{คง}	63.44^{กข}	61.96^{ขค}	65.18^{ก}	0.51	<.0001
ฟอสฟอรัสรวม	54.90^{ข}	57.94^{กข}	57.44^{กข}	54.09^{ข}	59.00^{ก}	0.62	0.04
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กก.)	2,234.11^{ง}	2,308.28^{ข}	2,451.90^{ก}	2,291.32^{ค}	2,441.48^{ก}	23.12	<.0001

^{กขคงจ} หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (แต่ละกลุ่ม n=3)

การคำนวณค่าการย่อยได้ที่ปรากฏของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้

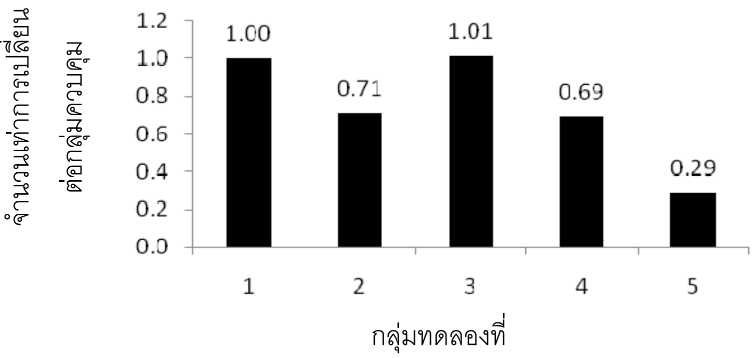
= พลังงานรวมในอาหาร - (พลังงานรวมในตัวอย่างลำไส้ x (โครมิกในอาหาร / โครมิกในตัวอย่างลำไส้))

6. ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสูตรอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 (PepT1) ที่ลำไส้เล็กของสุกร

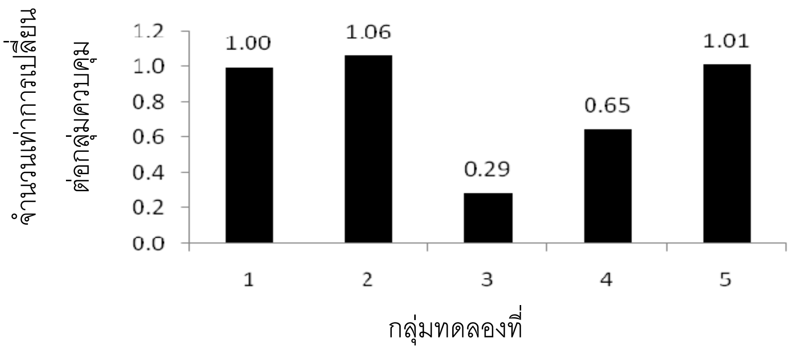
6.1 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 ในวันที่ 28 ของการทดลอง

ในวันที่ 28 ของการทดลอง ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1ที่ลำไส้เล็กของลูกสุกรหลังหย่านม เมื่อใช้กลุ่มควบคุมเป็นตัวเปรียบเทียบจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลง (fold change) ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง จากที่ปรับเป็นค่าเท่ากับ 1 และในการเปรียบเทียบผลหากพบการแสดงออกของยีนดังกล่าวมากกว่ากลุ่มควบคุมถึง 2 เท่า ถือว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น จากผลการทดลองที่ลำไส้ส่วนดูโอดีนัมพบค่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ มีปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ก. ส่วนที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม พบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร การแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ข. และที่ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม พบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เพิ่มขึ้น ส่วนในกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ พบว่าปริมาณการแสดงออกลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ค.

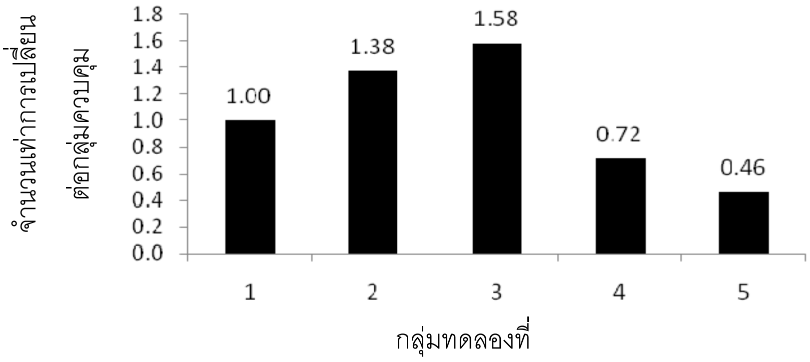
ก.



ข.



ค.

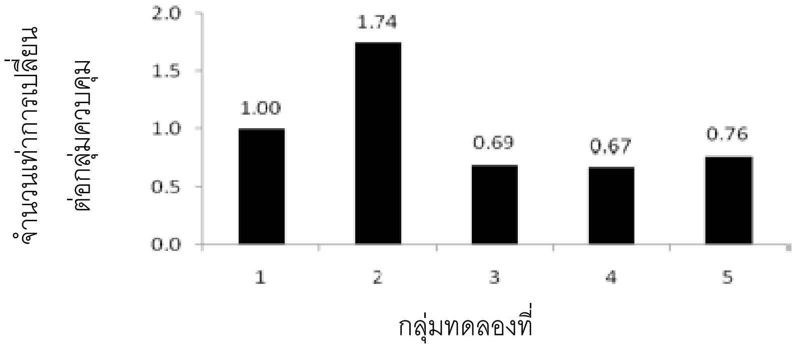


รูปที่ 4.1 เปรียบเทียบจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลอง (ก) ส่วนดูโอดีนัม (ข) ส่วนเจจูนัม และ (ค) ส่วนไอเลี่ยม (กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร)

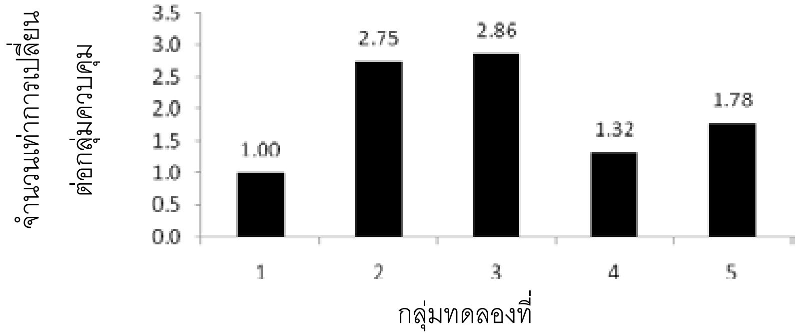
6.2 ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในวันที่ 56 ของการทดลอง

ในวันที่ 56 ของการทดลอง ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์1 ที่ลำไส้เล็กของลูกสุกรหลังหย่านม พบว่าลำไส้ส่วนดูโอดีนัม กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร รวมทั้งกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ พบว่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังรูปที่ 4.2 ก. สำหรับที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.75 และ 2.86 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ตามลำดับ และกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร กับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะมีค่าปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่ากับ 1.32 และ 1.78 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ข. และที่ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ค. ทั้งนี้ทำการตรวจสอบความถูกต้องทั้งความจำเพาะและขนาดของยีนที่ทำการศึกษาโดยใช้ dissociation curves และ gel electrophoresis ดังแสดงในรูปที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

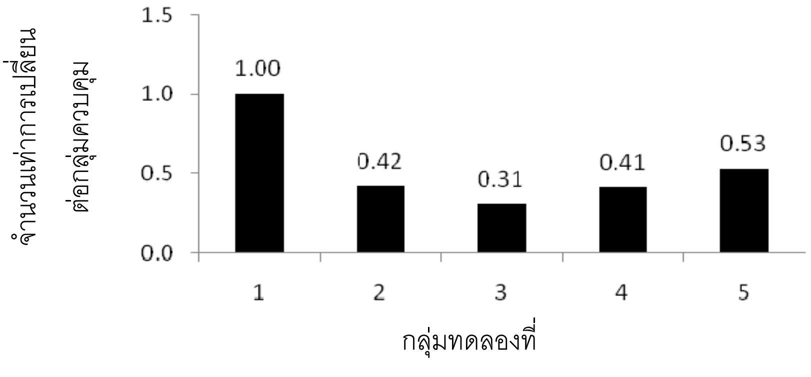
ก.



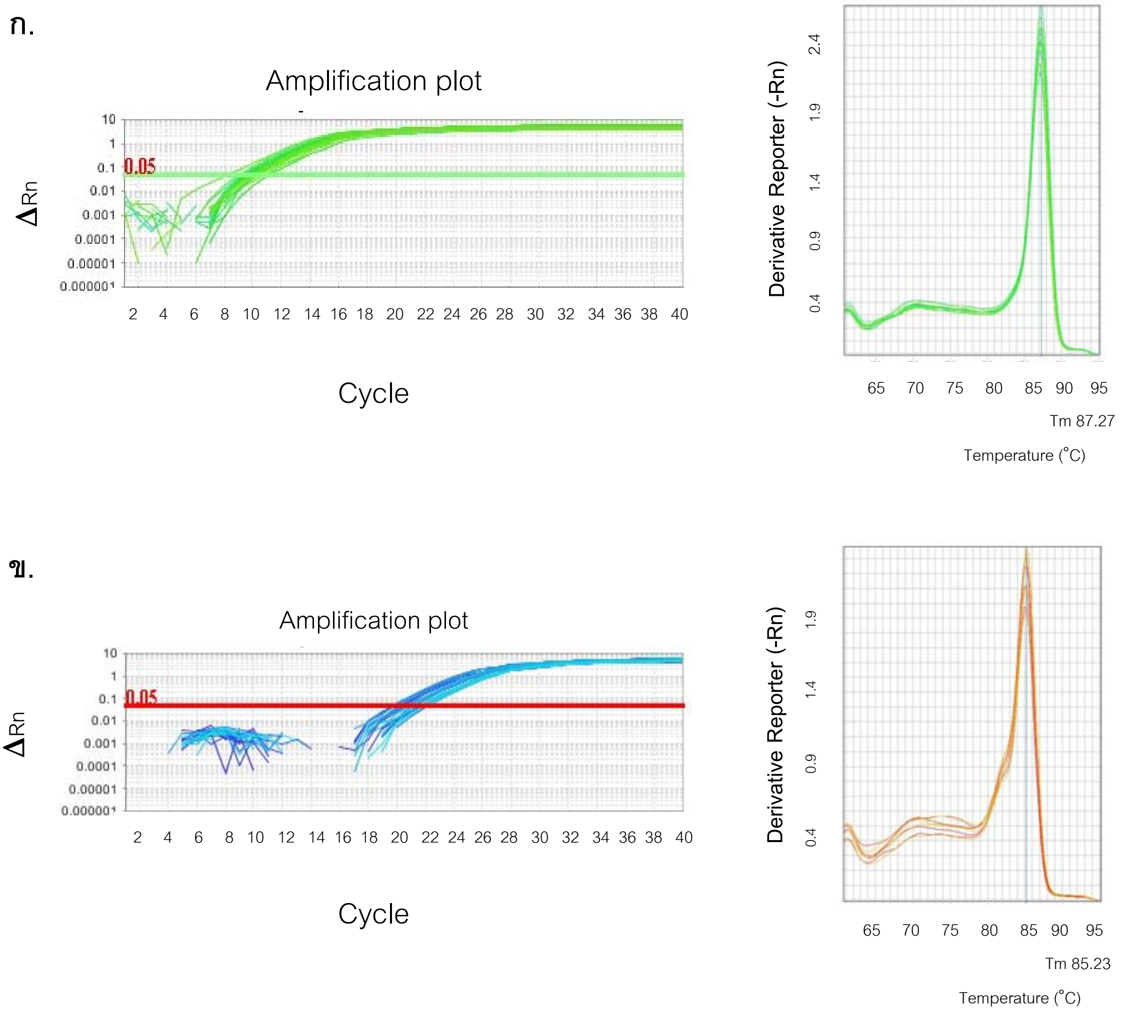
ข.



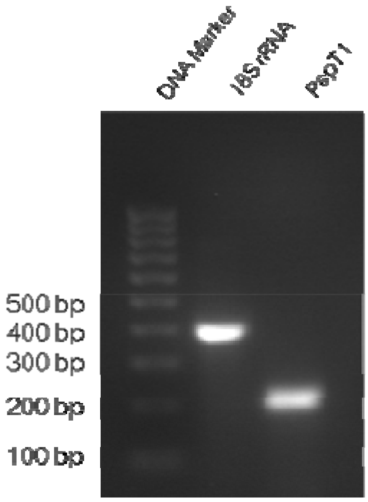
ค.



รูปที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในวันที่ 56 ของการทดลอง (ก) ส่วนดูโอดีนัม (ข) ส่วนเจจูนัม และ (ค) ส่วนไอเลี่ยม (กลุ่มทดลอง 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร)



รูปที่ 4.3 แสดงผล Amplification curve (ด้านซ้ายมือ) และแสดงผล dissociation curves (ด้านขวามือ) ของยีน 18S rRNA (ก) และ PepT1 (ข)



รูปที่ 4.4 การตรวจขนาด PCR amplification products จากเนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกร ของยีนเป้าหมาย 18s rRNA (ขนาด 399 เบส) และ PepT1 (ขนาด 206 เบส) ด้วย gel electrophoresis

7. ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้เล็กสุกร

ก่อนเริ่มการทดลองค่าสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กลูกสุกร แสดงดังรูปที่ 4.5 และตารางที่ 4.15

ตาราง 4.15 สัณฐานวิทยาเซลล์ลำไส้เล็กของลูกสุกรก่อนเริ่มการทดลอง

สิ่งที่ศึกษาส่วนของลำไส้เล็ก	ค่าเฉลี่ย (3 ตัว)	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ความสูงวิลไล (ไมโครเมตร)		
ส่วนดูโอดีนัม	124.20	2.42
ส่วนเจจูนัม	149.51	4.30
ส่วนไอเลี่ยม	121.13	4.12
ความลึกคริปท์ (ไมโครเมตร)		
ส่วนดูโอดีนัม	142.18	5.79
ส่วนเจจูนัม	93.55	2.55
ส่วนไอเลี่ยม	99.13	2.59
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกของคริปท์		
ส่วนดูโอดีนัม	0.93	0.03
ส่วนเจจูนัม	1.72	0.09
ส่วนไอเลี่ยม	1.28	0.06

รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วน ที่ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin ก่อนเริ่มการทดลอง (40x; scale bar 10 μm)

7.1 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 28 ของการทดลอง

ในวันที่ 28 ของการทดลอง การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่อสัณฐานเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กของลูกสุกรช่วงหลังหย่านม ดังแสดงในรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.16 ดังนี้

ลำไส้ส่วนดูโอดีนัม พบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ รองลงไปคือกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลน้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร ส่วนค่าความลึกของเซลล์คริปท์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความลึกของเซลล์คริปท์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร กลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุม และยังพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความลึกของเซลล์คริปท์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ ในการทดลอง แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในการทดลอง และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ และไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ลำไส้ส่วนเจจูนัมพบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลสูงกว่ากลุ่มอื่น แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะที่ไม่ต่างจาก

กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ส่วนค่าความลึกของเซลล์คริปท์ทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) สำหรับค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในการทดลอง ยกเว้นกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ และพบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

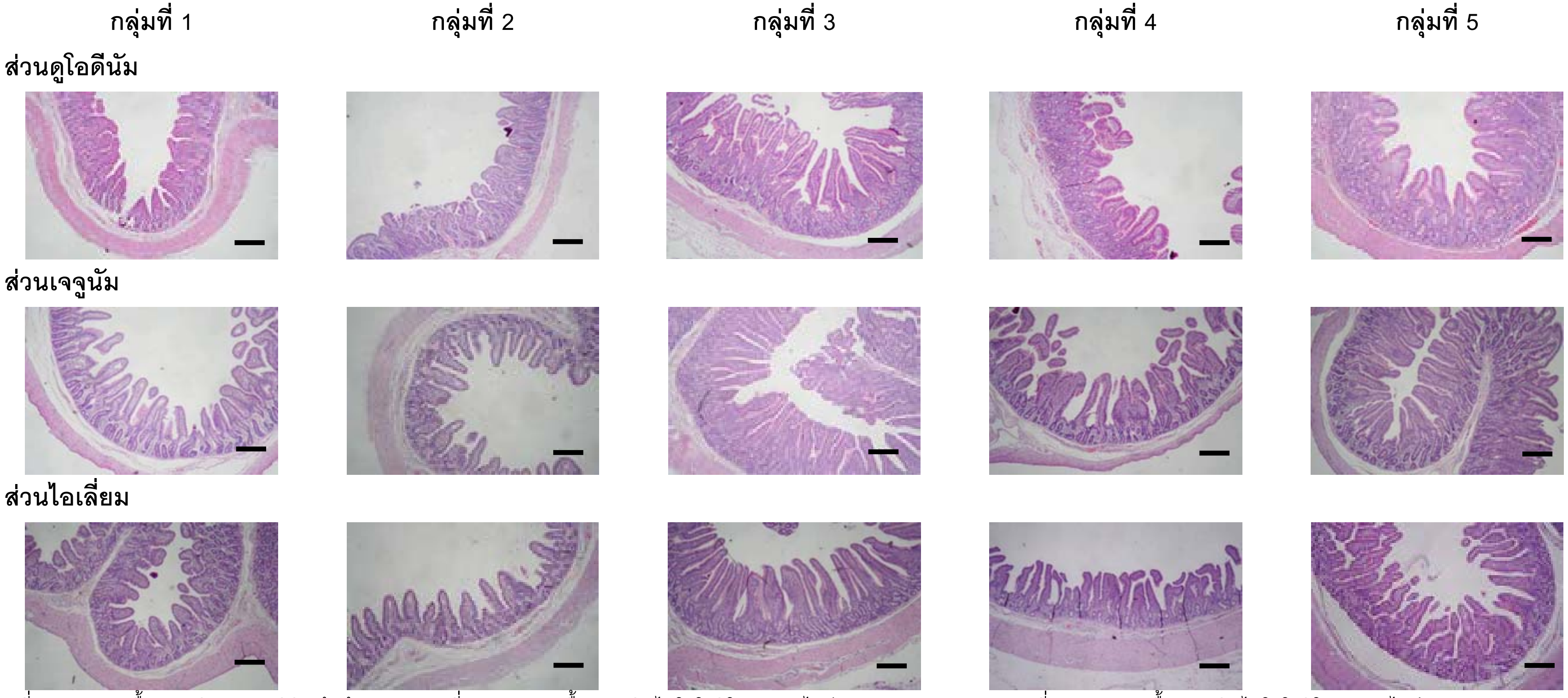
สำหรับที่ลำไส้ส่วนไอเลี่ยม พบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลมากกว่ากลุ่มอื่นในการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ รองลงไปเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ พบว่าค่าความลึกของคริปท์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มควบคุมมีค่าความลึกของเซลล์คริปท์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความลึกของเซลล์คริปท์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะมีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์มากกว่ากลุ่มอื่นในการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุมมีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ตาราง 4.16 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสัณฐานเซลล์ลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 28 ของการทดลอง

ส่วนของลำไส้เล็ก	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
ส่วนดูโอดีนัม							
ความสูงวิลไล, µm	206.05[ขค]	182.78[คง]	268.47[ก]	178.95[ง]	210.28[ข]	4.16	<.0001
ความลึกคริปท์, µm	187.15[กข]	173.85[ข]	186.53[กข]	198.88[ก]	197.80[ก]	2.79	0.03
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	1.14[ข]	1.11[ขค]	1.57[ก]	0.94[ค]	1.12[ข]	0.03	<.0001
ส่วนเจจูนัม							
ความสูงวิลไล, µm	200.95[ค]	167.26[ง]	251.83[ก]	223.63[ข]	236.75[กข]	3.50	<.0001
ความลึกคริปท์, µm	158.32	137.83	150.16	149.18	150.66	2.43	0.12
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	1.32[ค]	1.35[ค]	1.78[ก]	1.55[ข]	1.65[กข]	0.03	<.0001
ส่วนไอเลี่ยม							
ความสูงวิลไล, µm	211.83[ข]	210.87[ข]	247.72[ก]	176.20[ค]	250.58[ก]	3.70	<.0001
ความลึกคริปท์, µm	169.20[ก]	125.18[ข]	156.73[ก]	132.06[ข]	155.93[ก]	2.55	<.0001
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	1.34[ข]	1.73[ก]	1.66[ก]	1.43[ข]	1.81[ก]	0.03	<.0001

[กขคง] หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (แต่ละกลุ่ม n=3)



กลุ่มที่ 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% กลุ่มที่ 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร
กลุ่มที่ 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคเซลล์ลำไส้เล็กของสุกร ที่ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin ในวันที่ 28 ของการทดลอง (40x; scale bar 10 μm)

7.2 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 56 ของการทดลอง

ในวันที่ 56 ของการทดลอง การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีต่อสัณฐานเซลล์ลำไส้เล็กของลูกสุกรช่วงหลังหย่านม ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.17 ดังนี้

ลำไส้ส่วนดูโอดีนัม พบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ แต่มีค่าความสูงของวิลไลสูงกว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ผลการทดลองในส่วนของค่าความลึกของเซลล์คริปท์ และค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ระหว่างทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง

ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม พบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความสูงของวิลไลต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ในการทดลอง ซึ่งกลุ่มอื่นๆ ทั้ง 4 กลุ่มมีค่าความสูงของวิลไลที่ไม่แตกต่างกัน ส่วนค่าความลึกของเซลล์คริปท์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มควบคุมมีค่าความลึกของเซลล์คริปท์มากกว่ากลุ่มอื่น แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าความลึกของเซลล์คริปท์น้อยที่สุดและไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ สำหรับค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

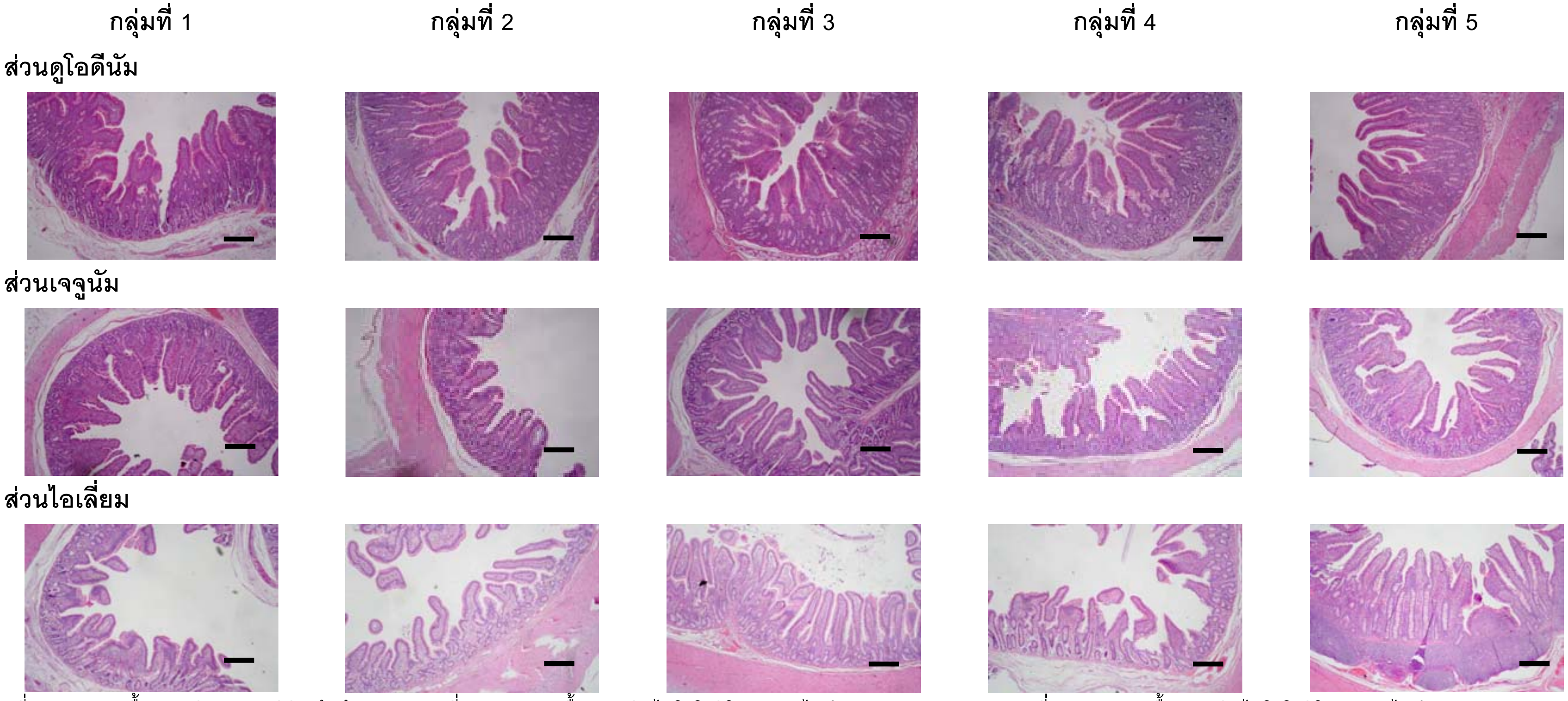
ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม พบว่าค่าความสูงของวิลไลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและมีค่าความสูงของวิลไลสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยที่พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าความสูงของวิลไลต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่วนค่าความลึกของเซลล์คริปท์และค่าสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์ระหว่างกลุ่มการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตาราง 4.17 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อสัณฐานเซลล์ลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 56 ของการทดลอง

ส่วนของลำไส้เล็ก	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก. อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
ส่วนดูโอดีนัม							
ความสูงวิลไล, µm	260.05[ขค]	232.63[ค]	269.92[กข]	255.52[ขค]	292.68[ก]	4.46	0.0006
ความลึกคริปท์, µm	109.33	101.50	97.40	105.68	107.76	2.95	0.70
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	2.96	2.96	3.40	2.86	3.26	0.09	0.34
ส่วนเจจูนัม							
ความสูงวิลไล, µm	361.83[ก]	344.23[ก]	347.38[ก]	271.93[ข]	332.75[ก]	4.64	<.0001
ความลึกคริปท์, µm	141.76[ก]	130.21[ก]	108.56[ข]	90.41[ค]	103.10[ขค]	2.92	<.0001
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	2.94[ค]	3.11[ขค]	3.68[ก]	3.28[กขค]	3.57[กข]	0.07	0.01
ส่วนไอเลี่ยม							
ความสูงวิลไล, µm	214.87[ค]	220.37[ขค]	242.15[กข]	215.98[ค]	259.13[ก]	3.82	0.0003
ความลึกคริปท์, µm	90.11	76.70	82.01	81.31	93.15	2.39	0.17
สัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกคริปท์	2.98	3.39	3.48	3.27	3.63	0.11	0.49

[กขค] หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (แต่ละกลุ่ม n=3)



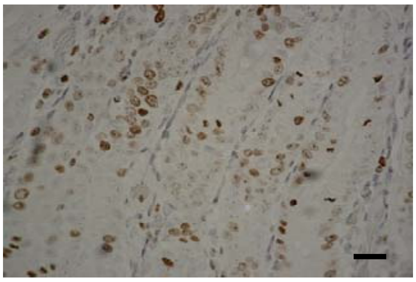
กลุ่มที่ 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% กลุ่มที่ 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคเซลล์ลำไส้เล็กของสุกร ที่ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin ในวันที่ 56 ของการทดลอง (40x; scale bar 10 μm)

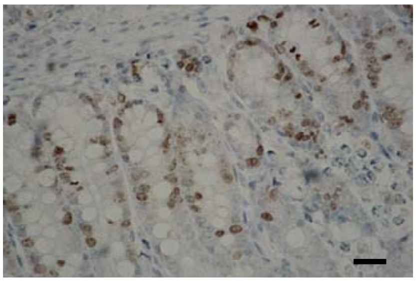
8. ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร โดยใช้โปรตีน Ki-67

ก่อนเริ่มการทดลอง (ในวันที่ 0) ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ที่ลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนของลูกสุกร จำนวน 3 ตัว ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.18

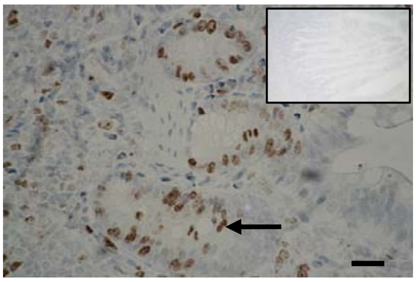
ส่วนดูโอดีนัม



ส่วนเจจูนัม



ส่วนไอเลี่ยม



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนของลูกสุกร ที่ย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี ก่อนเริ่มการทดลอง (200x; scale bar 10 μm) ลูกศรที่ชี้คือเซลล์ที่ติดสีโปรตีน Ki-67 และรูปเล็กแสดงถึงการย้อมที่ไม่บ่มกับแอนติบอดี้ต่อ Ki-67 (negative control)

ตาราง 4.18 ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันก่อนเริ่มการทดลอง

ส่วนของลำไส้เล็ก	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67	SEM
ส่วนดูโอดีนัม	35.66	1.13
ส่วนเจจูนัม	41.40	2.51
ส่วนไอเลี่ยม	35.53	1.66

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

8.1 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร โดยใช้โปรตีน Ki-67 ในวันที่ 28 ของการทดลอง

ในวันที่ 28 ของการทดลอง การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารที่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ดังแสดงในรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.19 ดังนี้

ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายค่ามากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุม และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วนดังกล่าวนี้น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุม

ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มากกว่ากลุ่มอื่นในการทดลอง แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ และพบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายค่าโปรตีน Ki-67 น้อยกว่ากลุ่มอื่นในการทดลองแต่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม

ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยมค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะมีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

8.2 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร โดยใช้โปรตีน Ki-67 ในวันที่ 56 ของการทดลอง

สำหรับในวันที่ 56 ของการทดลอง การศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารที่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ดังแสดงในตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.10 ดังนี้

ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ รองลงไปคือกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะที่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพบว่ากลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์น้อยกว่ากลุ่มอื่นในการทดลอง แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม พบว่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีเปอร์เซ็นต์การงอกขยายค่ามากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ และพบว่ากลุ่มที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีเปอร์เซ็นต์การงอกขยายค่าน้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม

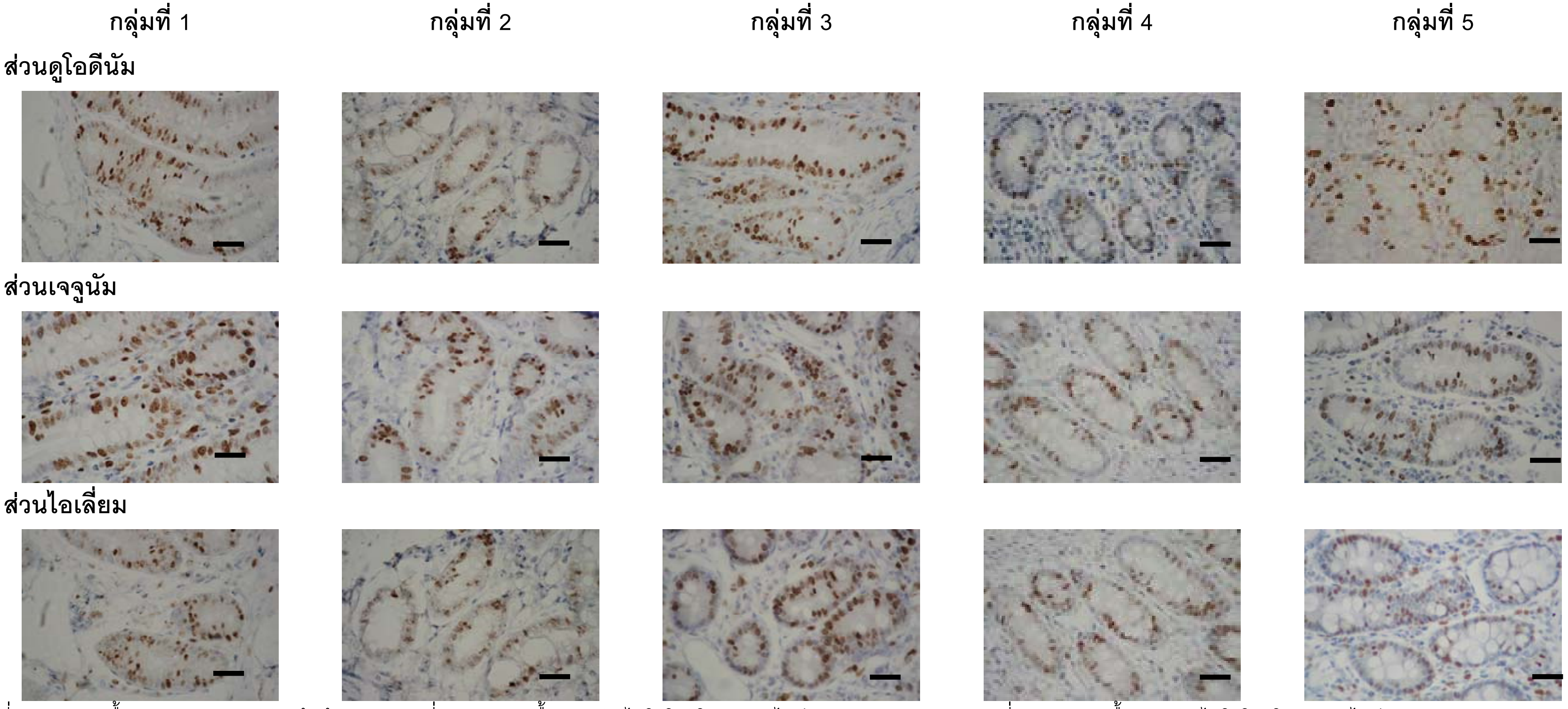
ลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม พบว่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.0001) โดยกลุ่มที่เติมยาปฏิชีวนะมีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายของเซลล์มากกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่ามากกว่าอีก 2 กลุ่มการทดลองคือกลุ่มไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ที่ไม่มีความแตกต่างกัน

ตาราง 4.19 ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง

โปรตีน Ki-67 (%) ในส่วนลำไส้เล็ก	ปริมาณที่เติมในอาหาร (มก./กก.อาหาร)				Lincomycin (110 มก./กก.อาหาร)	SEM	*p*-value
	0	75	150	225			
วันที่ 28 ของการทดลอง							
ส่วนดูโอดีนัม	42.26^{กข}	36.20^{ข}	49.06^{ก}	38.26^{ข}	45.33^{ก}	1.15	0.0014
ส่วนเจจูนัม	45.66^{ข}	41.46^{ข}	54.53^{ก}	48.06^{กข}	48.13^{กข}	1.28	0.0240
ส่วนไอเลี่ยม	38.60^{ก}	21.06^{ข}	39.80^{ก}	24.46^{ข}	42.93^{ก}	1.23	<.0001
วันที่ 56 ของการทดลอง							
ส่วนดูโอดีนัม	34.46^{คง}	29.93^{ง}	52.86^{ก}	39.86^{ขค}	43.26^{ข}	1.36	<.0001
ส่วนเจจูนัม	39.46^{ข}	37.66^{ข}	55.73^{ก}	51.86^{ก}	48.46^{ก}	1.45	<.0001
ส่วนไอเลี่ยม	33.06^{ก}	21.26^{ข}	33.53^{ก}	21.80^{ข}	38.06^{ก}	1.09	<.0001

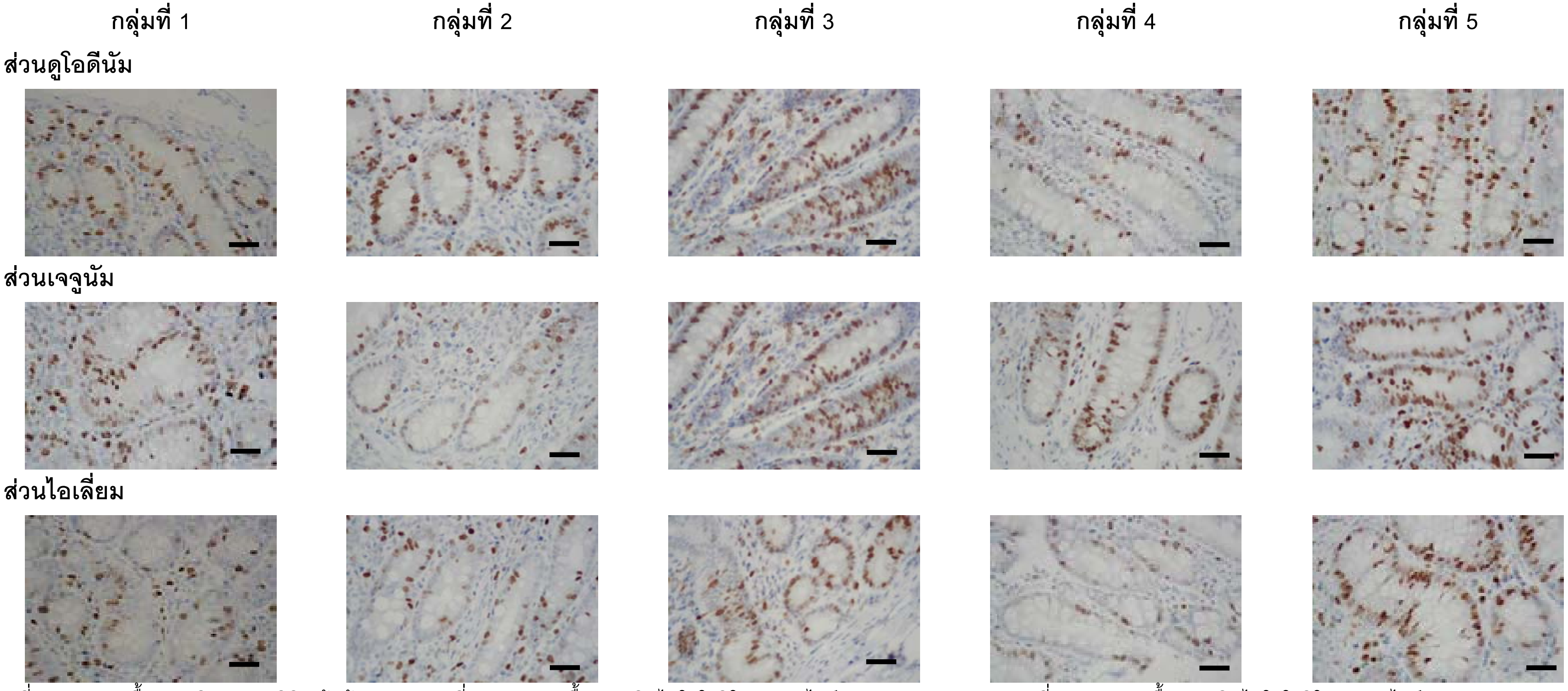
^{กขคง} หมายถึง อักษรในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SEM หมายถึงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (แต่ละกลุ่ม n=3)



กลุ่มที่ 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% กลุ่มที่ 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร
กลุ่มที่ 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ที่ย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี ในวันที่ 28 ของการทดลอง (200x; scale bar 10 μm)



กลุ่มที่ 1 = อาหารพื้นฐานเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1% กลุ่มที่ 2 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 75 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 3 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มก./กก.อาหาร
กลุ่มที่ 4 = อาหารพื้นฐานเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 225 มก./กก.อาหาร กลุ่มที่ 5 = อาหารพื้นฐานเติมยาปฏิชีวนะลินโคมัยซิน (Lincomycin) ขนาด 110 มก./กก.อาหาร

รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาค ดัชนีการงอกขยายด้วยโปรตีน Ki-67 ของเซลล์เนื้อเยื่อลำไส้เล็กสุกร ที่ย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี ในวันที่ 56 ของการทดลอง (200x; scale bar 10 μm)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. อาหารและส่วนที่เติมในการทดลองรวมทั้งองค์ประกอบทางโภชนะ

เนื่องจากไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติที่ละลายได้ในกรดอ่อน ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายและใช้ในปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอาหารที่ต้องผสม จึงต้องระมัดระวังในเรื่องการกระจายตัวที่ต้องทำให้ได้ดีที่สุด เมื่อต้องนำมาผสมกับอาหารสุกรที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ โดยได้ทำการแบ่งปริมาณอาหารมาผสมกับสารละลายไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในแต่ละวันหรือสัปดาห์ในการทดลอง รวมทั้งใช้อุปกรณ์เครื่องมือบางอย่างสามารถช่วยแก้ปัญหาในการผสมและการกระจายตัว ส่วนข้อกังวลในด้านองค์ประกอบทางโภชนะเนื่องจากความแปรปรวนของโภชนะในวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยทั่วไปในท้องตลาด เมื่อได้ทำการออกสูตรอาหาร จัดหาวัตถุดิบอาหารสัตว์และทำการผสมอาหารเองนั้นค่าที่ได้จากการคำนวณตามระดับความต้องการโภชนะของสุกร อาจเกิดความไม่เหมาะสมได้แต่หลังจากที่เก็บตัวอย่างอาหารที่ผสมแล้วเสร็จ นำมาตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่ามีคุณค่าทางโภชนะใกล้เคียงกับเป้าหมายตามคำแนะนำของ NRC และที่สำคัญไม่เกิดปัญหาในการนำมาใช้เลี้ยงสุกรทดลองในครั้งนี้

2. สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการตายของสุกร

น้ำหนักตัวลูกสุกรเริ่มต้นทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง มีค่าระหว่าง 5.63 - 5.71 กิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าน้ำหนักตัวที่สัมพันธ์กับอายุที่ 21 - 25 วันของลูกสุกรตามเกณฑ์มาตรฐานในฟาร์มเลี้ยงสุกรโดยทั่วไปในประเทศ ซึ่งลูกสุกรที่ถูกนำมาใช้ในการทดลอง ได้คัดเลือกและซื้อมาจากฟาร์มเลี้ยงสุกรแห่งหนึ่งในจังหวัดนครปฐม โดยในการคัดเลือกสุกรเข้ามาศึกษา คำนึงถึงการกำหนดวันคลอด ลำดับท้องในการคลอด จำนวนลูกสุกรต่อครอกของแม่สุกร รวมทั้งน้ำหนักแรกคลอดและน้ำหนักตัวในวันที่ 18 - 21 วันของลูกสุกร ให้อยู่ในช่วงและมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด เพื่อลดปัจจัยที่อาจจะส่งผลต่อการทดลอง รวมทั้งทำการสุ่มตรวจค่าโลหิตวิทยาเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ด้านสุขภาพของลูกสุกรก่อนเริ่มทำการทดลอง ซึ่งพบว่าระดับเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปกติเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวร่วมกับการเพิ่มขึ้นของฮีโมโกลบิน ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น การ

เพิ่มขึ้นของนิวโทรฟิล และการลดลงของลิมโฟไซต์ การเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนของนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ สะท้อนลักษณะเฉพาะของความเครียด (stress leukogram) ซึ่งสามารถพบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวภายใน 2 นาที (Weiss and Wardrop, 2010) ซึ่งไม่น่ามีผลต่อสุขภาพโดยรวมของลูกสุกรในการทดลองนี้ สำหรับผลการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสุกรระยะหลังหย่านมที่ระดับ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 22 - 28 มากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และส่งผลสืบเนื่องมีแนวโน้มเพิ่มสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ในช่วงวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง (p=0.07) หลังจากนั้นเมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณเป็นค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน พบว่าสอดคล้องกันในช่วงระยะสัปดาห์การทดลองระหว่างช่วงวันที่ 22 - 28 และส่งผลถึงช่วงเดือนที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 29 - 56 ของการทดลอง มีค่ามากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ซึ่งทั้งการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากปริมาณการกินอาหารได้ของสุกรในปริมาณมากขึ้น แต่เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยปริมาณการกินได้ต่อวัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองทั้ง 5 กลุ่มตลอดระยะการทดลองเป็นเวลา 56 วัน ต่อมาเมื่อนำข้อมูลปริมาณการกินอาหารได้และการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว มาคิดคำนวณเป็นค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารตลอดการทดลอง พบว่าในลูกสุกรที่ได้รับการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารที่ระดับ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีแนวโน้มที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ (p=0.06) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Liu และคณะ (2008) ที่พบว่าการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสุกรหย่านมที่อายุ 16 วัน ในระดับความเข้มข้นที่ 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับสุกรที่เสริมยาปฏิชีวนะในอาหารและดีกว่าสุกรในกลุ่มควบคุม (p<0.05)

สำหรับอัตราการตายของสุกร ส่วนใหญ่พบในกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารระดับ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร อาการที่พบในสุกรแต่ละกลุ่มก่อนตายเกิดจากการเบื่ออาหาร หยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีอาการท้องเสีย ลูกสุกรที่เสียชีวิตระหว่างการทดลองทุกตัวถูกนำส่งเพื่อชันสูตรสาเหตุที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผลจากการชันสูตรรายงานว่า เกิดจากร่างกายไม่แข็งแรงและหรือติดเชื้อในกระแสเลือด นอกจากนี้สาเหตุที่ลูกสุกรตายระหว่างการทดลองอีกสาเหตุหนึ่งอันเนื่องจากเป็นช่วงสุกรหลังหย่านมและเลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิดโดยทั่วไปทำให้สุกรไม่สามารถปรับตัวได้ จึงส่งผลให้เกิดการป่วยและตาย จากจำนวนสุกรที่ตายสูงสุด จำนวน 4 ตัว จากสุกรทั้งหมด 14 ตัวในกลุ่มที่มีการ

เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารระดับ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าตายในช่วง 1 เดือนแรกของการทดลอง จำนวน 3 ตัว และในช่วงเดือนที่ 2 ของการทดลอง จำนวน 1 ตัว แสดงให้เห็นว่าอาจเป็นผลมาจากการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารและหรือจากสภาวะสิ่งแวดล้อม

จากผลการทดลองในด้านการเจริญเติบโตและอัตราการตายที่เกิดขึ้น อธิบายว่าอาจเนื่องมาจากสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์จัดอยู่ในกลุ่มพรีไบโอติก (prebiotic) สารกลุ่มนี้เมื่อเข้าไปอยู่ในทางเดินอาหารมีคุณสมบัติประการหนึ่งในการต่อต้านแบคทีเรียให้โทษ (Gibson and Roberfroid, 1995) เช่น *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* โดยกลไกการยับยั้งเกิดจากการเข้าจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และขับทิ้งแบคทีเรียเหล่านี้ออกไปกับอุจจาระ ทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ที่มีอยู่ในทางเดินอาหารมีสัดส่วนที่มากกกว่ากลุ่มแบคทีเรียให้โทษเป็นผลดีต่อสุขภาพสัตว์ (Paton et al., 2006) เกิดสมดุลของจุลชีพที่เป็นประโยชน์ในทางเดินอาหาร เมื่อแบคทีเรียกลุ่มนี้มากขึ้นสัดส่วนของแบคทีเรียให้โทษลดลง เกิดภูมิคุ้มกันในร่างกายจากการป้องกันผิวหน้าลำไส้ไม่ให้ถูกทำลายจากแบคทีเรียก่อโรคได้ และอีกกลไกที่อาจเป็นไปได้คือไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เมื่อเข้าไปอยู่ในทางเดินอาหารแล้วสามารถทำให้ระยะเวลาของอาหารในการผ่านระบบทางเดินอาหารเพิ่มนานขึ้น ส่งผลให้เกิดการย่อยและหมักได้ผลผลิตที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์และจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์อย่างเช่น กลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก รวมทั้งทำให้ลำไส้เล็กทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งการย่อยตลอดจนการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ จึงเป็นผลให้มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของการใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เติมลงในอาหารสุกร มีผลต่อทั้งสมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการตาย ในการทดลองครั้งนี้ปริมาณระดับความเข้มข้นที่เลือกใช้ทั้ง 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 75 150 และ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ได้มาจากข้อมูลแนะนำระดับที่เหมาะสม คือ 158.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (Liu et al., 2008) และในการทดลองครั้งนี้ได้มีการลดและเพิ่มระดับความเข้มข้นอีก 1 เท่าตัวของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เติมลงในอาหารสุกร เพื่อศึกษาผลที่เกิดขึ้น โดยมีกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐานและกลุ่มที่ได้รับการเติมยาปฏิชีวนะ เป็นกลุ่มเปรียบเทียบทั้งด้านควบคุมลบและควบคุมบวก ตามลำดับ เพื่อให้ได้ข้อมูลการเปรียบเทียบพิจารณาเพื่อนำไปใช้งาน

3. ค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจนและค่าโปรตีนรวมในพลาสม่าของสุกร

ก่อนเริ่มทำการทดลองและในทุกๆ 2 สัปดาห์ของการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกรในแต่ละกลุ่ม เพื่อตรวจสุขภาพและเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่อาจจะเกิดขึ้นได้ ผลจากการทดลองพบว่าการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในทุกกลุ่มการทดลองไม่ส่งผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาตลอดระยะการทดลอง และค่าทางโลหิตวิทยาของลูกสุกรทุกกลุ่มอยู่ในช่วงปกติ แสดงว่าลูกสุกรทดลองทุกกลุ่มมีสุขภาพที่ไม่แตกต่างกัน

นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่าการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 กลุ่มการทดลองในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ไม่สามารถส่งผลเปลี่ยนแปลงค่ายูเรียไนโตรเจน และค่าโปรตีนรวมในพลาสม่า ระหว่าง 5 กลุ่มการทดลอง ซึ่งได้ผลที่ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Tang และคณะ (2005) ที่ทดลองเติมสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ได้แก่ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร และกาแลคโตแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (GMOS) 0.20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารในอาหารสุกรหลังหย่านมที่อายุ 14 วัน พบว่าค่ายูเรียไนโตรเจนลดลง ในขณะที่ค่าโปรตีนรวมในพลาสม่ากลับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ความแตกต่างที่เกิดขึ้น อาจเป็นผลมาจากชนิด รูปแบบโครงสร้างและปริมาณความเข้มข้นของสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ รวมทั้งอายุของสุกรและระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

4. ความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุอยู่ในกระเพาะอาหารของสุกร

ผลการทดลองพบค่าความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุอยู่ในกระเพาะอาหารของกลุ่มสุกรที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าต่ำกว่าในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ แต่เมื่อเปรียบเทียบทุกกลุ่มไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยในวันที่ 56 ของการทดลอง พบแนวโน้มที่ลดลงของค่าความเป็นกรด - ด่างที่วัดได้จากการทดลอง ค่าความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุอยู่ในกระเพาะอาหารสุกร อาจเกิดขึ้นมาได้จากผลโดยทางตรงหรือทางอ้อมของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่หากส่งผลที่ทำให้ภายในกระเพาะอาหารมีความเป็นกรดที่เหมาะสม อาจจะสามารถช่วยให้การทำงานของเอ็นไซม์บางตัว เช่น เอ็นไซม์เปปซินที่ช่วยย่อยโปรตีนที่กระเพาะอาหารให้ทำงานได้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น จากผลการทดลองไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารในกระเพาะอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาของ Houdijk และคณะ (2002) ที่ทดลองเสริมสารในกลุ่มโอลิโก

แซคคาไรด์ (non-digestible oligosaccharides) ได้แก่ ทรานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารสุกรอายุ 57 วัน เป็นระยะเวลานาน 44 วัน พบว่าหลังจาก 3 ชั่วโมงที่ให้อาหาร ค่าความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุในกระเพาะอาหารมีแนวโน้มลดลงระหว่าง 4.4 - 4.2 ซึ่งอธิบายสนับสนุนผลการเติมกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่แตกต่างกันอาจเกิดผลจากการหมักในสิ่งที่อยู่ในกระเพาะที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับที่พบในการทดลองนี้ ผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด - ด่างของสิ่งที่บรรจุในกระเพาะอาหารมีแนวโน้มลดลงระหว่าง 3.69 - 3.20 ความแตกต่างที่เกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากชนิด รูปแบบโครงสร้างและปริมาณความเข้มข้นของสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ รวมทั้งอายุของสุกรและระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

5. การย่อยได้ของโภชนะบริเวณลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยมของสุกร

จากผลการทดลองพบว่าทั้งในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง กลุ่มสุกรที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารที่ระดับ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้มีค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของพลังงาน โปรตีน ไขมัน แคลเซียม และฟอสฟอรัส ดีกว่ากลุ่มควบคุมและหรือเทียบเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ ซึ่งสอดคล้องกับผลด้านสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรในช่วงระหว่างวันที่ 22 - 28 และช่วงเดือนที่ 2 ระหว่างวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง สำหรับกลไกการทำงานที่จะอธิบายผลดังกล่าว ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อย่างไรก็ตามสอดคล้องกับการศึกษาของ Liu และคณะ (2008) ที่รายงานว่าการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสุกรหย่านม ส่งผลให้เพิ่มการย่อยได้ของโภชนะที่ไอเลี่ยม เหตุผลประการหนึ่งที่ใช้อธิบายผลที่เกิดขึ้นจากการศึกษาเกิดจากไคโตโอลิโกแซคคาไรด์อาจกระตุ้นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำหน้าที่ของเอ็นไซม์ในการย่อยอาหาร จากโมเลกุลอาหารที่เป็นสารประกอบที่ซับซ้อนและมีขนาดใหญ่ให้มีขนาดที่เล็กลงกลายเป็นสารประกอบที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ ส่งผลให้เกิดการย่อยได้ที่มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในบริเวณลำไส้เล็ก ช่วยให้การดูดซึมสารอาหารเช่น โปรตีนและแร่ธาตุบางตัวเข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น เมื่อการย่อยและการดูดซึมสารอาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ลดการขับทิ้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากตัวสัตว์ ทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้น การเสริมในระดับที่สูงสามารถส่งผลเชิงลบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต เพราะไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีปริมาณมากเมื่อเข้าไปอยู่ในทางเดินอาหารสามารถรวมกับสิ่งคัดหลั่งและกรดในกระเพาะอาหาร (gastric acid) กลายเป็นสารประกอบที่คล้ายเจล ซึ่งจับกับสารอาหารที่เป็นประโยชน์ไม่สามารถถูกนำผ่าน

เข้าสู่เซลล์ไปใช้ประโยชน์ได้ ในที่สุดส่วนผสมเหล่านี้ก็จะถูกขับทิ้งออกไปกับอุจจาระ ดังนั้นการดูดซึมสารอาหาร เช่น ไขมัน และโคเลสเตอรอลต่างๆ เข้าสู่ร่างกายจึงลดลง (Tang et al., 2005)

6. ปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 จากลำไส้เล็กของสุกร

จากผลการศึกษาผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ที่วัดจากลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนของสุกรช่วงหลังหย่านม พบว่าในวันที่ 28 ของการทดลอง กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ที่ลำไส้ส่วนดูโอดีนัมไม่แตกต่างกัน ส่วนเจจูนัมมีปริมาณที่ลดลงและส่วนไอเลี่ยมมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อสุกรมีอายุมากขึ้น ในวันที่ 56 ของการทดลอง กลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งดังกล่าวที่ลำไส้ส่วนเจจูนัมมีปริมาณการแสดงออกเพิ่มขึ้นประมาณ 2.9 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลด้านสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรช่วงเดือนที่ 2 ระหว่างวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง รวมทั้งค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโปรตีนในวันที่ 56 ของการทดลอง จากกลุ่มที่มีการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยความสามารถในการดูดซึมและขนส่งเปปไทด์ไปใช้ประโยชน์ในสุกร เกิดขึ้นได้ในลำไส้ส่วนเจจูนัมเป็นส่วนใหญ่ (Ogihara et al., 1999) ในขณะที่ลำไส้ส่วนดูโอดีนัมและไอเลี่ยมมีปริมาณการแสดงออกในทางตรงกันข้าม ตัวขนส่งเปปไทด์ 1 เป็นตัวขนส่งที่ทำหน้าที่นำกรดอะมิโนที่เป็นกลาง กรด และเบส เข้าสู่เซลล์ Shen และคณะ (2001) อธิบายว่าการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในลำไส้ถูกเหนี่ยวนำหลังคลอดได้โดยช่วงอายุดูดนมและหลังจากหย่านม การเพิ่มหรือลดปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีความสัมพันธ์กับระดับสารอาหารที่ได้สัตว์ได้รับ คือปริมาณการแสดงออกของยีนสามารถถูกควบคุมตามระดับสารอาหารโปรตีนที่ได้รับ และสัมพันธ์กับบทบาททางสรีรวิทยาของเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการดูดซึมสารอาหารโปรตีนที่ผ่านการย่อยบริเวณลำไส้เล็ก ดังนั้นการศึกษาตัวขนส่งเปปไทด์ 1 ที่ลำไส้เล็กมีความสำคัญในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับโภชนะอาหารโปรตีน

7. สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อลำไส้เล็กของสุกร

ลำไส้เล็กมีหน้าที่หลักในการดูดซึมสารอาหาร ซึ่งที่บริเวณฐานด้านล่างระหว่างวิลไลแต่ละอัน มีคริปท์เซลล์ที่ภายในมีเซลล์ต้นกำเนิดที่ยังไม่เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะ เมื่อมีการแบ่งตัวเซลล์เหล่านี้สามารถเปลี่ยนแปลง (differentiation) ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างๆ ได้แก่ เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการดูดซึม (absorptive cell) หลั่งเมือก (goblet cell) หลั่งฮอร์โมน (enteroendocrine cell) สร้างเอ็นไซม์ (enteroenzyme cell) และการแบ่งเซลล์ที่คริปท์มีเพียงส่วนหนึ่งที่สามารถเจริญขึ้นไปตามความสูงของวิลไลแทนที่วิลไลที่ต้องหลุดลอกหมดอายุออกไปตามธรรมชาติ (Burrin and Mersmann, 2005) ลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนของสุกรช่วงหลังหย่านม มีส่วนประกอบหลักของเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างๆ และตัวบ่งชี้ที่นิยมศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ได้แก่ ความสูงของวิลไล ความลึกของคริปท์ และค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ การศึกษาส่วนประกอบความสูงของวิลไลหรือความลึกของคริปท์ อย่างใดอย่างหนึ่งไม่สามารถได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการนำมาใช้อธิบายได้อย่างสมบูรณ์ ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์เป็นค่าที่แสดงความสามารถในการย่อยและการดูดซึมสารอาหารที่ลำไส้เล็ก กล่าวคือสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ที่มีค่ามาก แสดงถึงความสามารถในการย่อยและการดูดซึมที่มีประสิทธิภาพมาก (Montagne et al., 2003)

ในช่วง 1 เดือนแรกของการทดลอง ผลการทดลองในลำไส้เล็กแต่ละส่วน พบความแตกต่างทั้งความสูงของวิลไล ความลึกของคริปท์ และส่งผลให้ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความลึกของคริปท์ของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม เมื่อพิจารณาในกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ที่ลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วน มีค่าดีกว่าและหรือเทียบเท่ากับกลุ่มที่ได้รับการเติมยาปฏิชีวนะในอาหาร ส่วนในเดือนที่ 2 ของการทดลอง พบความแตกต่างจากในช่วงเดือนที่ 1 คือพบความแตกต่างความสูงของวิลไลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างในส่วนความลึกของคริปท์ และส่งผลให้ค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ไม่แตกต่างกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่าง 5 กลุ่มการทดลองที่พบในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและไอเลี่ยม มีผลตรงข้ามกับที่เกิดขึ้นกับลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม โดยพบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองทั้งความสูงของวิลไล ความลึกของคริปท์ และค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึก

ของคริปท์ของกลุ่มที่ได้รับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ดีกว่ากลุ่มควบคุมและเทียบเท่ากับกลุ่มที่ได้รับการเติมยาปฏิชีวนะในอาหาร ซึ่งอาจจะนำมาใช้อธิบายผลที่สอดคล้องกับสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรช่วงเดือนที่ 2 ระหว่างวันที่ 29 - 56 ของการทดลอง นอกจากนี้สอดคล้องกับในงานทดลองของ He และคณะ (2006) ที่ทดลองในหนูแรท และงานวิจัยของ Spencer และคณะ (1997) ที่ทำการทดลองในสุกร ซึ่งกลไกหนึ่งที่เป็นไปได้ในการอธิบายคือ ในโครงสร้างของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วย N-acetylglucosamine ซึ่งเป็น receptor-activeในโอลิโกแซคคาไรด์ (Klemm and Schembri, 2000) และ N - acetylglucosamine เป็นองค์ประกอบของ glycoconjugates ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อเมือก (mucin) การจับกันของ receptor - active ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับ glycoconjugates ของเยื่อเมือกบริเวณลำไส้ ทำให้สามารถป้องกันการทำลายลำไส้จากแบคทีเรียก่อโรค ลดการฝ่อของ mucosa เป็นการลดจำนวนแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่มีประโยชน์ที่บริเวณผิวหน้าของลำไส้เล็ก นอกจากนี้ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของเซลล์เยื่อบุ เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการพัฒนาเซลล์ของลำไส้เล็ก ส่งผลให้การทำหน้าที่ในการย่อยและดูดซึมเป็นไปอย่างเต็มประสิทธิภาพ

8. ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีตัวบ่งชี้การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กของสุกร

ผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กด้วยดัชนีตัวบ่งชี้โปรตีน Ki-67 ของสุกรช่วงหลังหย่านมในวันที่ 28 และ 56 ของการทดลอง พบว่าการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็ก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมแต่เทียบเท่ากับกลุ่มที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ ผลการทดลองที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์เกิดขึ้นที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม สอดคล้องนำไปอธิบายสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร นอกจากนี้ผลการทดลองในครั้งนี้เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Rekiel และคณะ (2010) ที่ทำการทดลองเสริมโปรไบโอติก พรีไบโอติก และยาปฏิชีวนะในอาหารสุกรต่อจำนวนไมโตติกเซลล์ (mitotic cell) ที่ศึกษา โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กด้วยโปรตีน Ki-67 เป็นดัชนีตัวบ่งชี้ พบว่าการเสริมสารดังกล่าวไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ลำไส้เล็กของสุกร รวมทั้งค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กที่เพิ่มขึ้น ขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารที่สัตว์ได้รับ

สรุปผลการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐาน พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารสุกรหลังหย่านมที่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลานาน 2 เดือน สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ เพิ่มอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเดือนที่ 2 ของการทดลอง แต่มีปริมาณการกินอาหารได้ต่อวันไม่แตกต่างกัน และส่งผลให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารมีแนวโน้มที่ดีกว่าในกลุ่มอื่นๆ ซึ่งตลอดระยะเวลาการทดลองผลที่เกิดขึ้นสามารถใช้ข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้มาอธิบายสนับสนุนบางส่วน ประกอบด้วยการเพิ่มการย่อยได้ของสารอาหารหลักที่เก็บตัวอย่างมาจากลำไส้ส่วนไอเลี่ยม ช่วยพัฒนาเปลี่ยนแปลงเซลล์ที่ทำหน้าที่ดูดซึมสารอาหารในลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วนได้จากผลการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและค่าเปอร์เซ็นต์การงอกขยายของเซลล์ลำไส้เล็กด้วยดัชนีตัวบ่งชี้โปรตีน Ki-67 โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มความสูงของวิลไล ความลึกของคริปท์ที่ลดลง และส่งผลให้เพิ่มค่าสัดส่วนความสูงของวิลไลต่อความลึกของคริปท์ รวมทั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์ที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม ซึ่งทำหน้าที่หลักในการดูดซึมและขนส่งผ่านสารอาหารจากระบบทางเดินอาหารเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต นำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสมได้ดีกว่าสุกรกลุ่มควบคุมและหรือดีเทียบเท่ากับสุกรกลุ่มที่ได้รับการเติมยาปฏิชีวนะ รวมทั้งผลการทดลองในระดับอณูชีวโมเลกุลที่แสดงปริมาณการแสดงออกของยีนตัวขนส่งเปบไทด์ 1 ในแต่ละส่วนของลำไส้เล็กโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มปริมาณการแสดงออกที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมในวันที่ 56 ของการทดลอง นอกจากนี้การที่มีค่าทางโลหิตวิทยา ค่ายูเรียไนโตรเจนและค่าโปรตีนรวมในพลาสม่า ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อทำการเปรียบเทียบสุกรทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง สะท้อนให้เห็นว่าไม่เกิดอันตรายและสัตว์มีสุขภาพอยู่ในสภาวะเกณฑ์เฉลี่ยตามปกติ ดังนั้นการพิจารณาเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในระดับปริมาณหรือความเข้มข้นที่เหมาะสมในอาหาร จึงเป็นสารทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเติมในอาหารสุกร ซึ่งส่งผลเสียทำให้เชื้อโรคเกิดการดื้อยาได้ง่ายและมีสารตกค้างในผลผลิตก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพ นำไปสู่ปัญหาการกีดกันการค้าระหว่างประเทศ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องความหนาแน่นของวิลไลต่อพื้นที่ในลำไส้เล็กของลูกสุกรหย่านมเพิ่มเติม เพื่อพิสูจน์ว่าสารไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารนอกจากช่วยเพิ่มความสูงของวิลไลแล้ว สามารถเพิ่มความหนาแน่นของวิลไลต่อพื้นที่เพื่อการเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหารได้หรือไม่ ตลอดจนศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจว่าหากนำมาใช้จริงในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรจะสามารถลดต้นทุนการผลิต เมื่อเทียบราคากับการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารสุกรหย่านมได้ รวมทั้งศึกษารูปแบบของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในรูปแบบอื่นๆ เช่น มีโครงสร้างขนาดรูปแบบโมเลกุลที่แตกต่างกัน หรือลักษณะรูปแบบที่เป็นผง สะดวกต่อการใช้งานจริงในการนำมาผสมอาหารสำหรับเลี้ยงลูกสุกรหลังหย่านมมากกว่ารูปแบบที่เป็นสารละลาย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

สุรชัย สุทธิธรรม. 2011 (2554). อุตสาหกรรมสุกรจะหาทางรอดได้อย่างไร. ธุรกิจอาหารสัตว์ เล่มที่ 136 มกราคม - กุมภาพันธ์ 2554. 57.

ภาษาอังกฤษ

AOAC. 1990. Method of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.

Barton, M.D. 2000. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. Nutr. Res. Rev. 13: 279-299.

Berkeveld, M., Langendijk, P., van Beers-Schreurs, H.G., Koets, A.P., Taverne, M.A.M. and Verheijden, J.H.M. 2007. Postweaning growth check in pigs is markedly reduced by intermittent suckling and extended lactation. J. Anim. Sci. 85: 258-266.

Bierhoff, M.L. and Levine, G.M. 1988. Luminal and metabolic regulation of jejunal amino acid absorption in the rat. J. Gastroenterol. 95(1): 63-68.

Birren, B., Green, E.D., Klapholz, S., Myers, R.M. and Roskams, J. 1997. Quantitation of DNA Analyzing DNA In: A laboratory manual: Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York, U.S.A: p. 624.

Blood, D.C. and Studdert, V.P. 1988. Baillieye's comprehensive veterinary dictionary. Carling, R.C.J. (ed): Great Britain: p. 1002.

Bollen, P.A., Hansen, A.K. and Rasmussen, M.A. 2000. The Laboratory Swine. In: Important Biological Features. M. A. Suckow (ed): CRC Press: New York, U.S.A: p.13.

Buddington, R.K., Elnif, J., Puchal-Gardiner, A.A. and Sangild, P.T. 2001. Intestinal apical amino acid absorption during development of the pig. Am. J. Physiol. (Regul. Integr. Comp.) Physiol. 280: R241-R247.

Burrin, D.G. and Mersmann, H.J. 2005. Fetal metabolism. In: Biology of Metabolism in Growing Animals. 3rd ed. London: Elsevier. pp. 3-34.

Chae, S.Y., Jang, M. and Nah, J. 2005. Influence of molecular weight on oral absorption of water soluble chitosans. J. Control. Release. 102: 383-394.

Daniel, H. 2004. Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. Annu. Rev. Physiol. 66: 361-384.

Dave, M.H., Schulz, N., Zecevic, M., Wagner, C.A. and Verrey, F. 2004. Expression of heteromeric amino acid transporters along the murine intestine. J. Physiol. 558: 597-610.

D'Mello, J.P.F. 2000. Farm animal metabolism and nutrition. Part I; absorption and metabolism of nutrients. CABI Publishing: Education, UK: pp. 1-182.

D'Mello, J.P.F. 2003. Amino acids as multifunctional molecules. In: Amino Acids in Animal Nutrition. 2nd ed. J.P.E. D'Mello (ed): CABI Publishing: Education, UK: pp. 1-14.

Fahey, V.A., Culter, R.S. and Spicer, E.M. 1990. Diseases of weaning pigs. In: Pig Production in Australia. J.A.A. Gardner, A.C. Dunkin and L.C. Lloys (eds): Butterworths: Sydney, Australia: p.169.

Ferraris, R.P. 2001. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. Biochem. J. 360(Pt2): 265-276.

Ganapathy, V., Brandsch, M. and Leibach, F.H. 1994. Intestinal transport of amino acids and peptides. Physiology of Gastrointestinal Tract. 3rd ed. New York: Raven Press. pp. 1773-1794.

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

Hanson, W.R. 1982. Proliferative and morphological adaptation of the intestine to experimental resection. Scand. J. Gastroenterol. 17(Suppl.74): 11-20.

He, Y.N., She, R.P., Wu, J., Duan, Z.Y., Li, C., Zheng, Y., Ma, Y.H. and Fan, S.T. 2006. Effects of galacto-mann-oligosaccharides and oligochitosan on the structure of gut mucosa and the activity of AKP in rats. Sci. Technol. Eng. 6: 131-135.

Healy, B.J., Hancock, J.D., Kennedy, G.A., Bramel-Cox, P.J., Behnke, K.C. and Hines, R.H. 1994. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. J. Anim. Sci. 72: 2227-2236.

Heger, J. 2003. Essential to non-essential amino acid ratios. In: Amino Acid in Animal Nutrition. 2nd ed. J.P.F. D'Mello (ed): CABI Publishing: Edinburgh, UK: pp. 103-124.

Hejazi, R. and Amiji, M. 2003. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. J. Control. Release. 89: 151-165.

Houdijk, J.G.M., Verstegena, M.W.A., Boscha, M.W. and van Laere, K.J.M. 2002. Dietary fructooligosaccharides and transgalactooligosaccharides can affect fermentation characteristics in gut contents and portal plasma of growing pigs. Livest. Prod. Sci. 73: 175-184.

Jaeng, M.K., Kong, B.G., Jeong, Y.I., Lee, C. H. and Nah, J.W. 2004. Physicochemical characterization of α-chitin, β-chitin and γ-chitin separated from natural resources. J. Polym. Sci. 42(14): 3423-3432.

Jenkin, D.J.A, Kendall, C.E.C. and Vuksan, V. 1999. Inulin, oligosaccharide and intestinal function. J. Nutr. 129: 1431S-1433S.

Jeon, Y.J., Shahidi, F. and Kim, S.K. 2000. Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods. Food Rev. 16(2): 159-176.

Khor, E. and Lim, L.Y. 2003. Implantable applications of chitin and chitosan. Biomaterials. 24: 2339-2349.

Klemm, P. and Schembri, M. A. 2000. Bacterial adhesins: Structure and function. Int. J. Med. Microbiol. 290: 27-35.

Lauronen, J., Pakarinen, M.P., Kuusanmaki, P., Savilahti, E., Vanto, P., Paavonen, T., and Halttunen, J. 1998. Intestinal adaptation after massive proximal small-bowel resection in the pig. Scand. J. Gastroenterol. 33: 152-158.

Le Dividich, J. and Herpin, P. 1994. Effects of climatic conditions on the performance, metabolism and health status of weaned piglets: a review. Livest. Prod. Sci. 38: 79-90.

Lee, H. E., Kim, M. A., Lee, B.L. and Kim, W.H. 2010. Low Ki-67 proliferation index is an indicator or poor prognosis in gastric cancer. J. Surg. Oncol. 102(3): 201-206.

Liu, P., Piao, X.S., Kim, S.W., Wang, L., Shen, Y.B., Lee, H.S. and Li, S.Y. 2008. Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of *Escherichia coli* and *Lactobacilli* in weaning pigs. J. Anim. Sci. 86: 2609-2618.

Martins Rodrigues, M.A., Oliveira Silva, D.A., Taketomi, E.A. and Hernandez-Blazquez, F.J. 2007. IgA production, coliforms analysis and intestinal mucosa morphology of piglets that received probiotics with viable or inactivated cells. Pesq. Vet. Bras. 27(6): 241-245.

Michael Swindle, M. 2007. Swine in the labolatory surgery, anesthesia, imaging, and experimental techniques. In: Hematology and Serum Chemistry 2nd ed. M., Michael Swindle (ed): CRC Press: New York, U.S.A: p.109.

Montagne, L., Pluske, J.R. and Hampson, D.J. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. Anim. Feed Sci. Technol. 108: 95-117.

National Research Council. 1998. Nutritional requirement of swine, 10th ed. Natl. Acad. Sci. Washington, DC. 188 p.

Ogihara, H., Suzuki, T., Nagamachi, Y., Inui, K. and Takata, K. 1999. Peptide transporter in the rat small intestine: ultrastructural localization and the effect of food deprivation and administration of amino acids. Histochem. J. 31(3): 169-174.

Pacha, J. 2000. Development of intestinal transport function in mammals. Physiol. Rev. 80: 1633-1667.

Paton, A.W., Morona, R. and Paton, J.C. 2006. Designer probiotics for prevention of enteric infections. Nat. Rev. Microbiol.4:193-200.

Pluske, J.R., Thompson, M.J., Atwood, C.S., Bird, P.H., Williams, L.H. and Hartmenn, P.E. 1996. Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cows' whole milk after weaning. Br. J. Nutr. 76: 409-422.

Ravi Kumar, M.N.V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. Reactive and Func. Polym. 46: 1-27.

Rekiel, A., Bielecki, W., Więcek, J. and Kulisiewicz, J. 2010. Histological changes in the small intestinal epithelium in fattening pigs fed selected feed additives. Acta. Vet. Brno. 79: 67-71.

Rome, S., Barbot, L., Windsor, E., Kapel, N., Tricottet, V., Huneau, J.F., Reynes, M., Gobert, J.G. and Tome, D. 2002. The regionalization of PepT1, NBAT and EAAC1 transporters in the small intestine of rats are unchanged from birth to adulthood. J. Nutr. 132(5): 1009-1011.

Rossi, F., Morlacchini, M., Gatti, P., Soldi, S., Callegari, M.L. and Piva, G. 2008. Effects of a glucooligosaccharide supplement on the morphological characteristics of the gastro-intestinal tract and growth performance in weaned piglets. Ital. J. Anim. Sci. 7: 185-198.

Scholzen, T. and Gerdes, J. 2000. The Ki-67 protein from the known and the unknown. J. Cell. Physiol. 182: 311-322.

Scott, T.A., Silversides, F.G., Classen, H.L., Swift, M.L. and Bedford, M.R. 1998. Comparison of sample source (excreta or ileal digesta) and age of broiler chick on measurement of apparent digestible energy of wheat and barley. Poult. Sci. 77: 456-463.

Shen, H., Smith, D.E. and Brosius, F.C., 3rd. 2001. Developmental expression of PEPT1 and PEPT2 in rat small intestine, colon, and kidney. Pediatr. Res. 49(6): 789-795.

Spencer, J.D., Touchete, K.J., Liu, H., Alle, G.L., Newcom, M.D., Kerley, M.S. and Pace, L.W. 1997. Effect of spray-dried plasma and fructooligosaccharide on nursery performance and small intestinal morphology of weaned pigs. J. Anim. Sci. 75(Suppl.1): 199. (Abs.)

Tang, Z.R., Yin, Y.L., Nyachoti C.M., Huanga, R.L., Li, T.J., Yang, C., Yang, X.J., Gonge, J., Peng, J., Qi, D.S., Xing, J.J., Suna, Z.H. and Fan, M.Z. 2005. Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. Domest. Anim. Endocrinol. 28(4): 430-441.

Tsai, G.J. and Hwang, S.P. 2004. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of shrimp chitosan against some intestinal bacteria. Fisheries sci. 70: 675-681.

Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. 2010. Normal Hematology of The Pig. In: Schalm's veterinary hematology 6th ed. D.J. Weiss and K.J. Wardrop (eds): Ames (IA): Blackwell: New York, U.S.A: pp. 1027-1033.

Williams, C.H., David, D.J. and Lipmaa, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. J. Agric. Sci. (Camb.) 59: 381-385.

Wilson, M.R. and Friendship, R.M. 1996. Pig health management and disease. In: Pig production. M.R. Taverner and A.C. Dinkin (ed). Elsvier Science BV. Amsterdam, the Netherlands. p. 222.

Xiao, X. 2005. Developmental regulation of the expression of nutrient transporter and brush border membrane hydrolase genes in the small intestine of piglets. (dissertation). Virginia Polytechnic Institute and State University. 186 p.

Yen, M.T., Yang, J.H. and Mau, J.L. 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. Carbohydr. Polym. 74: 840-844.

Zabielski, R., Godlewski, M.M. and Guilloteau, P. 2008. Control of development of gastrointestinal system in neonates. J. Physiol. Pharmacol. 59. (Suppl. 1): 35-54.

Zeng, L., Qin, C., Wang, W., Chi, W. and Li, W. 2008. Absorption and distribution of chitosan in mice after oral administration. Carbohydr. Polym. 71: 435-440.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุรีรัตน์ สุธงษา เกิดเมื่อวันที่ 8 มีนาคม 2526 ที่จังหวัดเลย จบการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ จากภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีการศึกษา 2549 เข้าศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2551

ผลงานวิจัยจากวิทยานิพนธ์ที่เคยนำเสนอในงานประชุมวิชาการ

1. **สุรีรัตน์ สุธงษา** บุญฤทธิ์ ทองทรง สฤณี กลันทกานนท์ ทองทรง และรัฐ พิชญางกูร. 2555. ประสิทธิผลของไคโตซานสายสั้นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยโปรตีนที่ลำไส้ส่วนไอเลี่ยม และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในลูกสุกรหย่านม. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 50 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 31 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2555. บางเขน กรุงเทพ.

2. **S. Suthongsa**, B. Thongsong, S. Kalandakanond-Thongsong, R. Pichyangkura. 2012. EFFECTS OF DIETARY CHITO-OLIGOSACCHARIDE ADDITIVES ON GROWTH PERFORMANCE AND ILEAL NUTRIENT DIGESTIBILITY IN WEANING PIGS. The 37th International Conference on Veterinary Science (37th ICVS) and IICAB/APHIS/FAO Symposiums on 29 February - 2 March 2012. MuangThong Thani, Thailand.