วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี | Agriculture and Technology Journal

ปีที่ 2 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม 2564 | Vol.2 No.3 September – December 2021

Received: August 10, 2021; Revised: September 23, 2021; Accepted: October 1, 2021

ผลของการเสริมแทนนินต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ปริมาณ *Escherichia coli* และแลคโตบาซิลลัสในลูกสุกรหย่านม

Effects of Tannin supplementation on growth performance, *Escherichia coli* and Lactobacillus concentration in weaned pigs

สุทธิดล ปิยะเดชสุนทร[1] จริญญา เนียมจิตร์[1] อวัสดา ชูศรีสัตยา[1] และกรปภา ผานิตกุลวัต[1*]

Sudthidol Piyadeatsoontorn[1], Charinya Niamjit[1], Awatsada Chusrisattaya[1] and Kornpapha Phanitkullawat[1*]

[1]*คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์*

[*]*Corresponding Author E-mail Address: Kornpapha.ph@rmuti.ac.th*

บทคัดย่อ

แทนนิน (Tannin) คือ สารประกอบโพลิฟีนอลตามธรรมชาติ สามารถลดการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารและมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมแทนนินต่อปริมาณ *E. coli* และแลคโตบาซิลลัสของลูกสุกรหย่านม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยใช้ลูกสุกรหย่านม (ดูร็อค × แลนด์เรซ × ลาร์จไวท์) จำนวน 12 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 8.11±0.56 กิโลกรัม แบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว ได้แก่ T1) กลุ่มควบคุม (Placebo; distilled water) T2) แทนนิน 1% และ T3) กลุ่มควบคุมผลบวก (ยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin; 1–3 วัน) ใช้ระยะเวลาการทดลอง 7 วัน จากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) พบว่าแทนนินที่ระดับ 1% สามารถยับยั้ง *E. coli* (10^8 CFU/ml) ได้ระดับวงใสขนาด 7.00±0.00 มิลลิเมตร การเสริมแทนนินในปริมาณ 1% อย่างต่อเนื่องในกลุ่ม T2 ทำให้ปริมาณ *E. coli* ลดลงจาก 1.12±0.69 MPN/ml เป็น 0.62±0.52 MPN/ml ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงสุดที่ระดับ 457.25±0.04 กรัม ($p>0.05$) และส่งผลต่อระดับปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัสคงที่ (4.03±1.70-4.96±1.85 log CFU/ml) สรุปได้ว่าการเสริมแทนนินในการเลี้ยงลูกสุกรหย่านมไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและปริมาณ *E. coli* แต่มีแนวโน้มที่ดีกว่ากลุ่มทดลองอื่นในลูกสุกรหย่านม และทำให้ระดับปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัสในลูกสุกรหย่านมมีความคงที่ซึ่งส่งผลดีต่อลูกสุกร

คำสำคัญ: แทนนิน เชื้อ *อี. โคไล* แลคโตบาซิลลัส ลูกสุกรหย่านม

ABRTRACT

Tannin is a natural polyphenol compound. It can reduce the digestion of protein in food and has antibacterial effect. The objective of this study was to study tannin supplementation on growth performance (ADG), *Escherichia coli (E. coli)* and lactobacillus concentration in weaned pigs. A total of 12 crossbred weaned pigs (Duroc × Landrace × Large White) with an initial average body weight of 8.11±0.56 kg were randomly divided into three groups (4 replicates/pig/group). Treatments included: T1) Placebo control group (Distilled water); T2) 1% tannin; T3) positive control group (Enrofloxacin; 1-3 days). The trial period was 7 days. From *in vitro* experiment, the result showed that 1% tannin was able to clear zone inhibit *E. coli* (10^8 CFU/ml) at 7.00±0.00 mm. Under *in vivo,* the study showed that providing 1% tannin supplementation in weaned pig can result in stabilizing lactobacillus concentration level (4.03±1.70-4.96±1.85 log CFU/ml) which is good for piglets. While supplemented tannin had no effect on neither growth performance nor *E. coli* concentration (p>0.05).

Keywords: Tannin, *Escherichia coli*, Lactobacillus, Weaned Pigs

บทนำ

สุกรเป็นหนึ่งในสัตว์เศษฐกิจที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรไทย เมื่อพิจารณาประกอบกับข้อมูลทางสถิติของการผลิตสุกรในไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2559-2563 จากรายงานของกรมปศุสัตว์ไทย แสดงให้เห็นการเติบโตของอุตสาหกรรมการผลิตสุกรที่เพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องเพื่อตอบสนองปริมาณความต้องการบริโภคผลิตภัณฑ์จากสุกรของผู้บริโภคในตลาดที่สูงขึ้น อุตสาหกรรมตลาดเนื้อสุกรที่ขยายตัวขึ้น ส่งผลให้การผลิตลูกสุกรมากขึ้น และเพื่อลดการสูญเสียลูกสุกรหลังหย่านมซึ่งเป็นวัยที่เผชิญกับการเปลี่ยนแปลงสูงเนื่องจากการเปลี่ยนผ่านของอาหารและสภาพแวดล้อมซึ่งส่งผลต่อกระบวนการทำงานของระบบต่าง ๆ ในร่างกายโดยเฉพาะระบบภูมิคุ้มกันและจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารทำให้ลูกสุกรหย่านมมีความเสี่ยงติดเชื้อและเกิดโรคสูง ปัญหาโรคท้องร่วงเป็นสาเหตุสำคัญที่พบบ่อยในการเลี้ยงสุกร โดยมีเชื้อโรคหลากหลายชนิดที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย อาทิ *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* spp. และ *Clostridium perfringens* ซึ่ง *E. coli* เป็นหนึ่งในเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงมากที่สุดโดยเฉพาะในลูกสุกรหย่านม (Girard and Bee, 2020) เชื้อไวรัส Rotavirus และ Coronavirus และโปรโตซัวส่งผลให้เกิดอัตราการตายสูง ด้วยปัญหาเหล่านี้ส่งผลให้ลูกสุกรอนุบาลมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ความสามารถในการผลิตลดลง และต้นทุนค่าใช้จ่ายในการรักษาเพิ่มสูงขึ้น (Mohamed et al., 2017) โรคท้องร่วงจาก *E. coli* เป็นอาการที่เกิดจากความไม่สมดุลของลำไส้ ส่งผลให้เกิดภาวะการหลั่งกรดมากผิดปกติ (Hypersecretion) ของ chloride ions และ bicarbonate ions และการออสโมซิสของน้ำเข้าสู่โพรงลำไส้ (Lumen) ทำให้เกิดอาการท้องร่วง (Girard and Bee, 2020) เนื่องด้วยปัญหาเหล่านี้ส่งผลให้ผู้เลี้ยงสุกรเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาและเพื่อลดอุบัติการณ์ของโรคท้องร่วงในสุกรอนุบาลอย่างแพร่หลาย การใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในการผลิตสัตว์ ได้มีการนำมาใช้เป็นระยะเวลานานและได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีบทบาทในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ ทั้งยังสามารถลดแบคทีเรียก่อโรค โดยทั่วไปหากมีอาการท้องร่วงในสุกร เกษตรกรนิยมรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin หรือ Colistin อย่างไรก็ตามการใช้ยาปฏิชีวนะบ่อยครั้งและไม่สมเหตุผลส่งผลต่อการดื้อยาปฏิชีวนะในสุกร ประสิทธิภาพในการใช้ยาปฏิชีวนะลดลง และเกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ซึ่งอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะโลหะหนักอย่าง zinc และ

copper oxide ซึ่งเป็นส่วนประกอบพื้นฐานในยาปฏิชีวนะที่ใช้ในลูกสุกรหย่านม (2,000-3,000 ppm) (Caprarulo et al., 2021) ทั้งนี้องค์กรระหว่างประเทศหลายแห่งได้มีการรณรงค์ให้ลดการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรอย่างแพร่หลาย โดยปัจจุบันได้มีการวิจัยอย่างกว้างขวางเพื่อค้นหาทางเลือกจากธรรมชาติเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ สารสกัดจากพืชได้รับความสนใจเป็นอย่างมากและเป็นหนึ่งในสารประกอบที่ได้รับการศึกษามากที่สุด แทนนิน (Tannin) เป็นหนึ่งในสารประกอบที่ได้จากการสังเคราะห์ของพืช อันพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น กระถิน อบเชย มะม่วง ถั่ว เป็นต้น โดยพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็นดอก ใบ เปลือก เมล็ด ผล และราก (Brus et al., 2013) แทนนินมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายด้าน อาทิ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สารประกอบจากพืชโดยเฉพาะ แทนนินจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญในการใช้เป็นสารต้านจุลชีพที่สามารถนำมาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมสัตว์ได้ แลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) ชนิดหนึ่งที่พบได้ในระบบย่อยอาหาร มีประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต ในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อนำจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัสมาเป็นโปรไบโอติกส์อีกหนึ่งทางเลือกหลักที่ช่วยเสริมประสิทธิภาพการเติบโตของสุกรหลังหย่านมในกลุ่มผู้เลี้ยงสุกร โดยที่แลคโตบาซิลลัสมีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารและลดจุลชีพที่เป็นอันตรายต่อร่างกายสัตว์ (Dowarah et al., 2017) จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ที่มีวัตถุประสงค์ศึกษาผลของการเสริมแทนนินต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ปริมาณ *E. coli* และแลคโตบาซิลลัสในลูกสุกรหย่านม

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

ออกแบบการทดลองโดยใช้รูปแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) และคำนวณจำนวนสัตว์ทดลองด้วยโปรแกรม G power 3.1.9.7 โดยกำหนดค่าระดับผลกระทบ (Effect size f) 1.60 ค่าระดับนัยสำคัญ (α error probability) 0.05 ค่าอำนาจในการทดสอบ (1 – β error probability) 95 เปอร์เซ็นต์ และข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และใช้สถิติในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Tukey's Honesty Significant Difference; HSD ที่ระดับนัยสำคัญ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมคำนวณค่าทางสถิติ R Version 4.0.3

สัตว์ทดลองและการวางแผนการทดลอง

เพื่อศึกษาผลของการเสริมแทนนินต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ปริมาณ *E. coli* และแลคโตบาซิลลัสในลูกสุกรหย่านม ในการทดลองใช้ลูกสุกรหย่านม ลูกผสม 3 สายพันธุ์ (ดูร็อค × แลนด์เรซ × ลาร์จไวท์) จำนวน 12 ตัว โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 4 ซ้ำ แบบคละเพศ (เพศผู้ตอนแล้ว 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว) ซ้ำละ 1 ตัว ลูกสุกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 8.11±0.56 กิโลกรัม จัดแบ่งคอกสำหรับเลี้ยงสุกรออกเป็น 3 คอก โดยแต่ละคอกจะเลี้ยงลูกสุกรหย่านม 4 ตัว แบบคละเพศ ได้แก่ T1) กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมแทนนิน โดยให้ยาหลอก (Placebo) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร/ตัว/วัน ตลอดการทดลอง T2) กลุ่มที่เสริมแทนนิน 1 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง T3) กลุ่มควบคุมผลบวก (Positive control) ได้รับยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin ปริมาณ 10 มิลลิกรัม/ตัว/วัน เป็นการให้อย่างต่อเนื่องกันในวันที่ 1-3 และให้ยาหลอกแทนยา Enrofloxacin ในวันที่ 4-7 ของการทดลอง ลูกสุกรทุกตัวได้รับอาหารชนิดเดียวกันอย่างเต็มที่ โดยให้ลูกสุกรกินอาหารแบบไม่จำกัด (*ad libitum*) และมีน้ำสะอาดอย่างเพียงพอ มีการจัดสุขาภิบาลตามหลักวิชาการและมาตรฐานฟาร์มเลี้ยงสุกรตลอดระยะเวลาการทดลอง

วิธีการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

เตรียมน้ำกลั่นปริมาณ 4 มิลลิลิตรต่อตัว บรรจุลงในกระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร (T1) เตรียมสารแทนนินปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับน้ำปราศจากเชื้อบรรจุลงในกระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร (T2) เตรียมยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin ในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อตัวในปริมาณแบบรักษาโรค โดยวิธีการปั๊มใส่ปากลูกสุกรหย่านม โดยกลุ่ม T1 และ T2 ให้ทรีทเม้นต์อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการทดลอง ต่างจากกลุ่ม T3 ให้อย่างต่อเนื่องกันในวันที่ 1-3 ของการทดลอง และให้ Placebo แทนยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin ในวันที่ 4-7 ของการทดลอง โดยสอดปลายกระบอกฉีดยาเข้าบริเวณด้านข้างปากลูกสุกรหย่านมแล้วค่อย ๆ ดันน้ำกลั่นในกระบอกฉีดยาจนหมด

เก็บตัวอย่างมูลลูกสุกรในวันที่ 1 3 และ 7 ของการทดลอง เพื่อตรวจประเมินปริมาณ *E. coli* และปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัส ชั่งน้ำหนักลูกสุกรเพื่อวัดประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ใช้แทนนินทดสอบการยับยัง *E. coli* เพื่อสังเกตประสิทธิภาพของสารแทนนิน เก็บตัวอย่างมูลลูกสุกรหย่านมทั้ง 12 ตัว โดยทำการ rectal swab ด้วยไม้พันสำลีนึ่งฆ่าเชื้อนำตัวอย่างที่เก็บใส่ไว้ในสาร CARY-BLAIR MEDIUM (OXOID®) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างที่เก็บมาแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดสอบแทนนินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้ง *E. coli* (*in vitro*)

นำตัวอย่างมูลลูกสุกรหย่านมของทุกกลุ่มการทดลองปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Eosin Methylene Blue; EMB (OXOID®) โดยวิธีการกระจายเชื้อ Spread plate บ่มเชื้อบนอาหารที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบการต้านยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Disk diffusion ตามวิธีการของ Hudzicki (2009) คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเขียวเหลือบ (Metallic Sheen) รูปร่างกลม (Circular) ผิวเรียบ (Smooth) และระดับความนูนของโคโลนีโค้งจากผิวอาหารเล็กน้อย (Convex) มา Cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (EMB) เพื่อแยกโคโลนีของ *E. coli* ออกจากโคโลนีของเชื้อกลุ่มโคลิฟอร์มอื่น เลือก *E. coli* จำนวน 1 โคโลนี บ่มในสารละลายเปปโตนที่ปราศจากเชื้อ 8 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งได้เชื้อที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/ml เทียบกับ McFarland Standard 0.5 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำมา Spread plate ด้วยไม้พันสำลีที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และตรวจการยับยั้ง *E. coli* โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างระดับของสารแทนนิน ทดสอบด้วยการนำจานเพาะเชื้อที่มี EMB agar มาวางดิสก์ของสารแทนนินที่ระดับ 0.1 0.3 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 10 ไมโครลิตร และ Enrofloxacin 5 ไมโครกรัม (OXOID®) โดยเปรียบเทียบขนาดวงใส (Clear zone) รอบ ๆ แผ่นยาปฏิชีวนะและวัดเส้นผ่าศูนย์กลางเป็นหน่วยมิลลิเมตร

การตรวจประเมินปริมาณ *E. coli* (*in vivo*)

นำตัวอย่างมูลลูกสุกรหย่านมของทุกกลุ่มการทดลองตรวจหาปริมาณ *E. coli* ด้วยวิธีการตรวจนับจุลินทรีย์ MPN (Most probable number) (Myers et al., 2007) โดยการนำตัวอย่างปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร มาบ่มในสารละลายเปปโตน peptone) ทำการเจือจางต่อไปจนถึงระดับความเจือจางที่ 10 ปิเปตตัวอย่างที่แต่ละระดับความเจือจาง (10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}) ลงในหลอดอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LSTB) ที่มีหลอดดักก๊าซ นำหลอดอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงตรวจผลโดยนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก ยืนยันผลการทดสอบในขั้น Presumptive ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกใน LSTB ลงใน Escherichia coli Broth (EC broth) นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยที่หลอดที่ให้ผลบวกจะเกิดก๊าซ การทดสอบยืนยันตัวแบคทีเรีย *E. coli* ใช้ลูปแตะเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกใน อาหาร EC broth มา streak ลงบนผิวหน้าอาหาร EMB แล้วนำไปบ่มที่ 35–37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การเลือกโคโลนี *E. coli* โดยการถ่ายเชื้อลงบน Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35–37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อที่เจริญบนอาหาร PCA มาย้อมแกรม สังเกตรูปร่างของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์ซึ่ง จะเป็นแบคทีเรียแก

รมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ ถ้าใช่ให้นำไปทดสอบต่อไปโดยการทดสอบลักษณะจำเพาะของ *E. coli* จากการย้อมสีแกรมลบ ตามวิธีการของ Smith & Hussey (2005) ให้ผลบวก MR test และให้ผลลบของ VP test ตามวิธีของ Mcdevitt (2009) และให้ความขุ่นชัดเจน เก็บโคโลนีบริสุทธิ์ที่ผ่านการคัดแยกแล้วไว้ในสารละลายเปปโตนที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร ผสมกับกลีเซอรอล (Glycerol) 500 ไมโครลิตร

การตรวจประเมินปริมาณแลคโตบาซิลลัส (*in vivo*)

นำตัวอย่างมูลของกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มการทดลองปริมาณ 1 มิลลิลิตร เพื่อตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัส ด้วยวิธีการตรวจนับจุลินทรีย์มาตรฐาน (Standard Plate Count; SPC) อ้างอิงตามวิธีของ Sudthidol et al. (2018) โดยทำการละลายตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตนที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิเปตมูลที่เจือจางปริมาณ 1 มิลลิลิตรมาเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ที่เติม $CaCO_3$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ นับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณวงใส ที่มีลักษณะรูปร่างกลม คัดเฉพาะ plate ที่จำนวนโคโลนีนับได้อยู่ในช่วง 30-300 แล้วมาคำนวณหาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็น CFU/ml

การทดสอบคุณสมบัติแลคโตบาซิลลัส ตามวิธีของ Sudthidol et al. (2018) คัดเลือกโคโลนีที่มีบริเวณใสบน MRS agar ที่เติม $CaCO_3$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ นำไปย้อมสีแกรมเพื่อดูการติดสีแกรมบวก รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์ แล้วนำไปทดสอบเอนไซม์คะตะเลส โดยใช้ลูปเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สนใจลงบนสไลด์ที่มี H_2O_2 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 หยด ซึ่งแลคโตบาซิลลัส ให้ผลบวก (ไม่เกิดฟองอากาศ)

ผลการวิจัย

จากการทดลองเก็บตัวอย่างมูลลูกสุกรหย่านม มาแยกเชื้อโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง EMB และทดสอบการยับยั้ง *E. coli* ให้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของแทนนินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้ง *E. coli* (10^8 CFU/ml)

Items* Concentration of Tannin (%)	Clear zone (mm) Mean±SD
0.1	0^a
0.3	0^a
0.5	0^a
1.0	7.00 ± 0.00^b
Enrofloxacin 5 µg	18.33 ± 0.33^c

หมายเหตุ: * 3 replicates, $^{a-c}$ Mean followed by different superscript letters within a column are significantly different by Turkey's test ($p<0.05$)

จากการทดสอบการยับยั้ง *E. coli* (*in vitro*) โดยการนำ *E. coli* ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml ทดสอบด้วยวิธีการ Disk diffusion ด้วยคุณสมบัติของแทนนินต่อการพบวงใส ของ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 CFU/ml พบว่าแทนนินที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ให้วงใสเฉลี่ย 7.00±0.00 มิลลิเมตร ต่างจากแทนนินที่ระดับ 0.1 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่พบวงใส ในขณะที่ Enrofloxacin 5 ไมโครกรัม ให้วงใสขนาดเฉลี่ย 18.33±0.33 มิลลิเมตร

ชั่งน้ำหนักลูกสุกรหย่านม ในวันเริ่มต้นการทดลอง (Day 1) วันที่ 3 (Day 3) และวันสิ้นสุดการทดลอง (Day 7) นำมาคำนวณทางสถิติเพื่อหาค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของการเสริมแทนนิน 1 เปอร์เซ็นต์ ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านม (8.11±0.56 กิโลกรัม)

Items	Treatments (Mean±SD)			p-value
	T1	T2	T3	
Body weight (kg)				
Day 1	7.88±0.67	8.10±0.96	8.35±0.75	0.712
Day 3	9.00±0.67	9.30±0.96	9.05±0.75	0.847
Day 7	11.00±0.67	11.30±0.96	10.78±0.75	0.697
ADG (g)	446.50±0.03	457.25±0.04	346.75±0.10	0.102

หมายเหตุ: T1 = Placebo 4 ml/Day, T2 = Tannin 1%, Enrofloxacin 10 mg, ADG = Average Daily Gain (gram)

จากตารางที่ 2 เมื่อทำการทดลองในสุกร (*in vivo*) วันเริ่มต้น (Day1) พบว่ากลุ่ม T3 (8.35±0.75 กิโลกรัม) มีน้ำหนักเริ่มต้นมากกว่ากลุ่ม T2 (8.10±0.96 กิโลกรัม) และ กลุ่ม T1 (7.88±0.67 กิโลกรัม) ทั้งนี้น้ำหนักเริ่มต้นของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับวันที่ 3 (Day3) และ วันสุดท้ายของการทดลอง (Day7) ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่าง หากพิจารณาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น วันที่ 3 และวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าในกลุ่ม T2 น้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (11.30±0.67 กิโลกรัม) มากกว่าในวันเริ่มต้น (8.10±0.96 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.30±0.96 กิโลกรัม) ซึ่งไม่แตกต่างกัน ส่วนในกลุ่ม T1 พบน้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (11.00±0.67 กิโลกรัม) มากกว่าในวันเริ่มต้น (7.88±0.67 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.00±0.67 กิโลกรัม) ซึ่งไม่แตกต่างกัน เมื่อสังเกตกลุ่ม T3 พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (10.78±0.75 กิโลกรัม) สูงกว่าในวันเริ่มต้น (8.35±0.75 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.05±0.75 กิโลกรัม) ของการทดลอง ซึ่งไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเจริญเติบโตโดยการประเมินจากค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) พบว่ากลุ่ม T2 (457.25±0.04 กรัม) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงกว่ากลุ่ม T1 (446.50±0.03 กรัม) และกลุ่ม T3 (346.75±0.10 กรัม) ซึ่งไม่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองเก็บมูลลูกสุกรหย่านม มาประเมินปริมาณ *E. coli* ด้วยวิธี MPN และคำนวณทางสถิติเพื่อหาค่าเฉลี่ยปริมาณ *E. coli* ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 และเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และคำนวณทางสถิติเพื่อหาค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัส ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของการเสริมแทนนิน 1 เปอร์เซ็นต์ ต่อปริมาณ *E. coli* และแลคโตบาซิลลัสของลูกสุกรหย่านม

Items	Treatments (Mean±SD)			p-value
	T1	T2	T3	
Escherichia coli (MPN/ml)				
Day 1	0.43±0.21	1.12±0.69	0.82±0.58	0.236
Day 3	0.53±0.30	0.69±0.55	0.81±0.38	0.662
Day 7	0.56±0.27	0.62±0.52	0.85±0.97	0.816
p-value	0.742	0.462	0.997	
Lactobacillus (log CFU/ml)				
Day 1	7.19±0.14[a]	4.03±1.70	4.27±1.87	0.167
Day 7	2.78±0.06[b]	4.96±1.85	2.78±0.26	0.078
p-value	< 0.001	0.261	0.147	

หมายเหตุ: T1 = Placebo 4 ml/day, T2 = Tannin 1%, Enrofloxacin 10 mg, MPN = Most probable number, CFU = Colony forming unit, [a, b] Mean followed by different superscript letters within a column are significantly different by Turkey's test ($p<0.05$)

จากตารางที่ 3 เมื่อเริ่มต้นการทดลองพบว่ากลุ่ม T2 (1.12±0.69 MPN/ml) มีปริมาณ *E. coli* มากกว่ากลุ่ม T3 (0.82±0.58 MPN/ml) และกลุ่ม T1 (0.43±0.21 MPN/ml) ทั้งนี้ค่าระดับปริมาณ *E. coli* เริ่มต้นของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับวันที่ 3 และวันสุดท้ายในแต่ละกลุ่มการทดลองที่ค่าระดับปริมาณ *E. coli* ไม่แตกต่างกัน หากพิจารณาระดับปริมาณ *E. coli* ในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น วันที่ 3 และวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าในกลุ่ม T2 พบค่าระดับปริมาณของ *E. coli* ในวันสุดท้ายของการทดลอง (0.62±0.52 MPN/ml) ลดลงกว่าในวันเริ่มต้น (1.12±0.69 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.69±0.55 MPN/ml) เป็นค่าระดับปริมาณ *E. coli* ที่ลดลง แต่ไม่แตกต่างกัน เมื่อสังเกตจากกลุ่ม T1 พบค่าระดับปริมาณ *E. coli* ในวันสุดท้ายของการทดลอง (0.56±0.27 MPN/ml) สูงกว่าวันเริ่มต้นการทดลอง (0.43±0.21 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.53±0.30 MPN/ml) ซึ่งไม่แตกต่างกัน รวมถึงกลุ่ม T3 พบค่าระดับปริมาณ *E. coli* ในวันที่ 7 (0.85±0.97 MPN/ml) สูงกว่าในวันที่ 1 (0.82±0.58 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.81±0.38 MPN/ml) ซึ่งไม่แตกต่างกัน

จากการเสริมแทนนินในวันเริ่มต้นการทดลอง กลุ่ม T1 (7.19±0.14 log CFU/ml) พบค่าระดับความเข้มข้นของปริมาณแลคโตบาซิลลัส มากกว่ากลุ่ม T3 (4.27±1.87 log CFU/ml) และกลุ่ม T2 (4.03±1.70 log CFU/ml) ทั้งนี้ค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสเริ่มต้นของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน และในวันสุดท้ายของการทดลองกลุ่ม T2 (4.96±1.85 log CFU/ml) พบค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส สูงมากกว่ากลุ่ม T1 (2.78±0.06 log CFU/ml) และ T3 (2.78±0.26 log CFU/ml) ทั้งนี้ค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน หากพิจารณาระดับปริมาณของแลคโตบาซิลลัสในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น และวันสุดท้ายของการทดลองจะพบได้ว่าในกลุ่ม T1 พบค่าระดับปริมาณของแลคโตบาซิลลัสในวันเริ่มต้นการทดลอง (7.19±0.14 log CFU/ml) มีค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสสูงกว่าในวันสุดท้ายของการทดลอง (2.78±0.06 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) ต่างจากกลุ่ม T2 และ T3 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส อย่างไรก็ตามหากสังเกตปริมาณแลคโตบาซิลลัส ในกลุ่ม T2 จากวันเริ่มต้นการทดลอง (4.03±1.70 log CFU/ml) จนสิ้นสุดการทดลอง (4.96±1.85 log CFU/ml) ปริมาณแลคโตบาซิลลัส มีความคงที่ไม่มีการลดลงของระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส

การอภิปรายผล

ผลของแทนนินต่อการยับยั้ง *E. coli* (*in vitro*) ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml ต่อการพบวงใส พบว่าแทนนินที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ให้วงใสเฉลี่ย 7.00±0.00 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับการทดลองของ Min et al. (2008) ที่อธิบายว่าแทนนินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* โดยอาศัยกลไกการทำลายเสถียรภาพของผนังเซลล์ภายนอกของแบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ของแบคทีเรีย และสกัดกั้นไม่ให้สารอาหารเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ต่างจากแทนนินที่ระดับ 0.1 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่พบวงใส อย่างไรก็ตามหากทดลองในตัวสัตว์อาจมีผลต่อ *E. coli* ในลำไส้ โดยอาศัยกลไกการตอบสนองของร่างกายสัตว์ต่อสารแทนนินที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปจับกับ Fungal protein, Bacteria protein, Viral protein หรือ Macro-molecules อื่น ๆ ของเชื้อที่รุกรานในร่างกายทำให้เชื้อไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้ ในขณะที่ Enrofloxacin 5 ไมโครกรัม ให้วงใสขนาดเฉลี่ย 18.33±0.33 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Antje et al. (2017) ซึ่งพบว่า Enrofloxacin ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สามารถยับยั้ง *E. coli* ที่อยู่ในลำไส้ โดยการยับยั้งเอนไซม์ DNA-gyrase ทำให้ขัดขวางขบวนการสังเคราะห์ของ DNA ในโครงสร้างของเชื้อแบคทีเรียได้ ทั้งนี้ต้องมีการทดลองการเสริมในตัวลูกสุกรต่อไป

ผลของการเสริมแทนนินต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านม

จากตารางที่ 2 เมื่อทำการทดลองในสุกร (*in vivo*) วันเริ่มต้น (Day 1) พบว่ากลุ่ม T3 (8.35±0.75 กิโลกรัม) มีน้ำหนักเริ่มต้นมากกว่ากลุ่ม T2 (8.10±0.96 กิโลกรัม) และ กลุ่ม T1 (7.88±0.67 กิโลกรัม) ทั้งนี้น้ำหนักเริ่มต้นของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับวันที่ 3 (Day 3) และวันสุดท้ายของการทดลอง (Day 7) ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่าง หากพิจารณาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น วันที่ 3 และวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าในกลุ่ม T2 มีน้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (11.30±0.67 กิโลกรัม) มากกว่าในวันเริ่มต้น (8.10±0.96 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.30±0.96 กิโลกรัม) ซึ่งไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เพราะการศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการทดลองสั้นประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านมจึงไม่เห็นผลชัดเจน ทั้งนี้ผลการทดลองให้ผลลัพธ์เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Yu et al. (2020) ที่มีการเสริมแทนนิน 0.2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารลูกสุกรหย่านม ไม่พบความแตกต่างของอัตราการกินได้ อัตราการเจริญเติบโต และสอดคล้องกับการวิจัยของ Marion et al. (2018) ที่ศึกษาผลของการใช้แทนนินเกาลัด CT (Condensed Tannin) ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ระดับการเสริมแทนนิน 1 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงสุกรหย่านม (Swiss Large White) ที่มีน้ำหนัก 7.8±0.8 กิโลกรัม โดยใช้ระยะเวลาในการทดลอง 14 วัน พบว่าไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรหลังหย่านม นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Brus et al. (2013) อธิบายว่าหลังจากเสริมแทนนินเกาลัด CT ที่ระดับ 0.19 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงสุกร (Swedish Landrace × Large White) อายุ 23-127 วัน พบว่าการเสริมแทนนินมีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 23-82 ของการทดลอง จะสังเกตได้ว่าระยะเวลาที่นานขึ้นจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของอัตราการกินได้และการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ของลูกสุกรหย่านม สืบเนื่องมาจากคุณสมบัติของแทนนินที่เป็นสารต้านจุลชีพและต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงแทนนินเกาลัด CT ที่มีความคงตัวสูง ละลายน้ำได้น้อยกว่าชนิด HT (Hydrolyzable Tannin) จึงต้องอาศัยระยะเวลานานกว่าเพื่อส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต หากทำการทดลองที่มีระยะเวลายาวขึ้นอาจมีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตได้ ส่วนในกลุ่ม T1 พบน้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (11.00±0.67 กิโลกรัม) มากกว่าในวันเริ่มต้น (7.88±0.67 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.00±0.67 กิโลกรัม) ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากสัตว์ทดลองในกลุ่ม T1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก เป็นสุกรที่มีเงื่อนไขภาวะปกติ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่แสดงให้เห็นในวันที่ 1 วันที่ 3 และ วันที่ 7 แสดงให้เห็นถึงธรรมชาติของประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อสังเกตกลุ่ม T3 พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง (10.78±.75

กิโลกรัม) สูงกว่าในวันเริ่มต้น (8.35±0.75 กิโลกรัม) และวันที่ 3 (9.05±0.75 กิโลกรัม) ของการทดลอง ซึ่งไม่แตกต่างกัน โดยที่ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของกลุ่ม T3 ในทางสถิติไม่แตกต่างจากกลุ่ม T1 และ T2 อาจสืบเนื่องมาจากกลุ่ม T3 มีการปรับเปลี่ยนการให้ Enrofloxacin ในช่วงการทดลอง ซึ่งให้ต่อเนื่องจากวันเริ่มต้นการทดลองถึงวันที่ 3 หลังจากนั้นหยุดการให้ Enrofloxacin โดยใช้ยาหลอกแทนจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง บ่งชี้ว่าสัตว์ทดลองในกลุ่ม T3 ไม่ได้รับ Enrofloxacin ตั้งแต่วันที่ 4 ร่างกายสัตว์จึงมีการปรับเปลี่ยนประสิทธิภาพการเจริญเติบโตให้เป็นไปตามปกติ จากการศึกษาของ Foditsch et al. (2019) อธิบายว่า Enrofloxacin มีคุณสมบัติในการรักษาการติดเชื้อ และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า Enrofloxacin ที่เสริมในสุกรไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ลูกสุกรยังคงเจริญเติบโตตามปกติ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเจริญเติบโตโดยการประเมินจากค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) พบว่ากลุ่ม T2 (457.25±0.04 กรัม) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงกว่ากลุ่ม T1 (446.50±0.03 กรัม) และกลุ่ม T3 (346.75±0.10 กรัม) ซึ่งไม่แตกต่างกัน ด้วยเหตุผลอาจเป็นไปตามการศึกษาของ Faccin et al. (2020) ซึ่งอธิบายว่าลูกสุกรหย่านมที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นสูงจะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันดีกว่าลูกสุกรที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นต่ำ ซึ่งตามรายงานกลุ่ม T3 มีน้ำหนักเริ่มต้นมากที่สุดแต่เป็นกลุ่มที่ให้ Enrofloxacin ในวันที่ 1-3 และใช้ยาหลอกแทนในวันที่ 4 จนวันสุดท้ายของการทดลองจึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันต่ำกว่ากลุ่ม T2 ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าในวันเริ่มต้นการทดลองของวันที่ 3

ผลของการเสริมแทนนินต่อปริมาณ *E. coli* และแลคโตบาซิลลัสของลูกสุกรหย่านม

จากตารางที่ 3 เมื่อเริ่มต้นการทดลองพบว่ากลุ่ม T2 (1.12±0.69 MPN/ml) มีปริมาณ *E. coli* มากกว่ากลุ่ม T3 (0.82±0.58 MPN/ml) และกลุ่ม T1 (0.43±0.21 MPN/ml) ทั้งนี้ค่าระดับปริมาณ *E. coli* เริ่มต้นของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับวันที่ 3 และวันสุดท้ายในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน หากพิจารณาระดับปริมาณ *E. coli* ในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น วันที่ 3 และวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าในกลุ่ม T2 พบค่าระดับปริมาณของ *E. coli* ในวันสุดท้ายของการทดลอง (0.62 ± 0.52 MPN/ml) ลดลงมากว่าในวันเริ่มต้น (1.12±0.69 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.69±0.55 MPN/ml) เป็นค่าระดับปริมาณ *E. coli* ที่ลดลง แต่ไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Marion et al. (2018) อธิบายถึงการเสริมแทนนินเกาลัด (HT) 1 เปอร์เซ็นต์ ในลูกสุกรพันธุ์ Large White น้ำหนัก 7.8 ± 0.8 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 14 วันพบว่าการเสริมแทนนินช่วยลดความรุนแรงของอาการท้องร่วง โดยกลไกของแทนนินที่เข้าไปเกาะผนังเซลล์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่สามารถลดค่าระดับปริมาณ *E. coli* เช่นเดียวกับการศึกษาของ Giacomo et al. (2010) ที่อธิบายถึงการใช้สารสกัดจากไม้เกาลัดที่มีแทนนิน 75 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ 1.13, 2.25 และ 4.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าสารสกัดจากไม้เกาลัดที่อุดมไปด้วยแทนนินส่งผลต่อการลดปฏิกิริยาย่อยโปรตีนของแบคทีเรียในลำไส้ ทำให้ระดับปริมาณ *E. coli* มีแนวโน้มลดลง แต่ทั้งนี้สมควรได้รับการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อแสดงถึงค่าระดับปริมาณ *E. coli* ที่ชัดเจนมากขึ้น เมื่อสังเกตจากกลุ่ม T1 พบค่าระดับปริมาณ *E. coli* ในวันสุดท้ายของการทดลอง (0.56±0.27 MPN/ml) สูงกว่าวันเริ่มต้นการทดลอง (0.43±0.21 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.53±0.30 MPN/ml) ซึ่งไม่แตกต่างกัน เนื่องจากสัตว์ทดลองในกลุ่ม T1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก เป็นสุกรที่มีเงื่อนไขภาวะปกติ ระดับปริมาณเชื้อที่แสดงให้เห็นในวันเริ่มต้น วันที่ 3 และวันสุดท้ายของการทดลอง แสดงให้เห็นถึงธรรมชาติของค่าระดับปริมาณ *E. coli* ที่ไม่แตกต่างกัน และเมื่อสังเกตกลุ่ม T3 พบค่าระดับปริมาณ *E. coli* ในวันที่ 7 (0.85±0.97 MPN/ml) สูงกว่าในวันที่ 1 (0.82±0.58 MPN/ml) และวันที่ 3 (0.81±0.38 MPN/ml) ซึ่งไม่แตกต่างกัน สามารถอธิบายได้ว่ากลุ่ม T3 ได้รับ Enrofloxacin ต่อเนื่องจากวันเริ่มต้นการทดลองถึงวันที่ 3 ซึ่งหลังจากนั้นหยุดการให้ Enrofloxacin โดยใช้ยาหลอกแทนจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง บ่งชี้ว่าสัตว์ทดลองในกลุ่ม T3 ในช่วงวันที่ 1-3 ของการทดลอง Enrofloxacin ออกฤทธิ์ในวงกว้างทั้งต่อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวกโดยทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase ยับยั้งการสังเคราะห์และจำลองดีเอ็นเอของแบคทีเรีย และทำลายเซลล์แบคทีเรีย (Bactericidal) และเมื่อไม่ได้รับ Enrofloxacin ตั้งแต่วันที่ 4 ร่างกายสัตว์จึงมีการปรับระดับปริมาณ *E. coli* เพิ่มขึ้นแต่ยังคงเป็นไปตามปกติ

จากการเสริมแทนนินในวันเริ่มต้นการทดลอง กลุ่ม T1 (7.19±0.14 log CFU/ml) พบค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่ม T2 (4.03±1.70 log CFU/ml) และกลุ่ม T3 (4.27±1.87 log CFU/ml) ทั้งนี้ระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน และในวันสุดท้ายของการทดลองกลุ่ม T2 (4.96±1.85 log CFU/ml) พบค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส สูงกว่ากลุ่ม T1 (2.78±0.06 log CFU/ml) และกลุ่ม T3 (2.78±0.26 log CFU/ml) ทั้งนี้ค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน หากพิจารณาระดับปริมาณของแลคโตบาซิลลัสในแต่ละกลุ่มการทดลองเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการทดลองจะพบว่าในกลุ่ม T1 พบค่าระดับปริมาณของแลคโตบาซิลลัสในวันเริ่มต้นการทดลอง (7.19±0.14 log CFU/ml) มีค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส สูงกว่าในวันสุดท้ายของการทดลอง (2.78±0.06 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) ในกลุ่ม T2 และ T3 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส จากข้อมูลดังกล่าว ความแตกต่างที่เกิดขึ้นในวันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการทดลองของกลุ่ม T1 สามารถอธิบายเชิงสถิติได้ว่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสวันเริ่มต้นมีระดับที่สูงกว่าวันสุดท้ายของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) เนื่องจากสัตว์ทดลองในกลุ่ม T1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก เป็นลูกสุกรหย่านมที่มีเงื่อนไขภาวะเป็นปกติ ระดับปริมาณเชื้อที่แสดงให้เห็นในวันที่ 1 และวันสุดท้ายของการทดลอง แสดงให้เห็นธรรมชาติของระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสที่มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ข้อมูลดังกล่าวจะสอดคล้องกับระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส ในกลุ่ม T3 ที่มีระดับลดลงจาก 4.27±1.87 log CFU/ml เป็น 2.78±0.26 log CFU/ml ซึ่งในกลุ่ม T3 ให้ Enrofloxacin ต่อเนื่องจากวันเริ่มต้นการทดลองถึงวันที่ 3 หลังจากนั้นหยุดการให้ Enrofloxacin และให้ยาหลอกแทนจนถึงวันที่ 7 บ่งชี้ว่าสัตว์ทดลองในกลุ่ม T3 ไม่ได้รับ Enrofloxacin ตั้งแต่วันที่ 4 ร่างกายสัตว์จึงมีการปรับระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสให้เป็นไปตามปกติ หรือเป็นไปได้ว่าปริมาณแลคโตบาซิลลัสในกลุ่ม T3 ไม่ได้ลดลงเพราะ Enrofloxacin แต่ลดลงเองตามธรรมชาติเช่นเดียวกับกลุ่ม T1 ที่ปริมาณแลคโตบาซิลลัสลดลง แต่แตกต่างจากกลุ่ม T2 ที่ให้สารแทนนินตลอดการทดลอง ซึ่งไม่มีผลต่อระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส ซึ่งถ้าหากเปรียบเทียบกับระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสโดยธรรมชาติที่มีในกลุ่ม T1 และ T3 จะพบว่ากลุ่ม T2 มีค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัสสูงกว่ากลุ่ม T1 และ T3 ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าสารแทนนินที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเสริมความคงที่ของค่าระดับปริมาณแลคโตบาซิลลัส ทำให้ส่งผลดีต่อตัวสัตว์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Giacomo et al. (2010) เมื่อเสริมแทนนินไม้เกาลัด (CT) ที่ 1.13 2.5 และ 4.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าจำนวนแลคโตบาซิลลัส มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นในลำไส้เล็ก และแบคทีเรียไม่ได้รับผลกระทบหลังจากการเสริมแทนนิน

บทสรุป

การเสริมแทนนินในการเลี้ยงสุกรอนุบาลไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและปริมาณ *E. coli* แต่มีแนวโน้มที่ดีกว่ากลุ่มทดลองอื่นในลูกสุกรหย่านม และทำให้ระดับปริมาณความเข้มข้นของแลคโตบาซิลลัสในลูกสุกรหย่านมมีความคงที่ ซึ่งส่งผลดีต่อลูกสุกร

เอกสารอ้างอิง

Antje R., Gesine S., Saskia R., Jessica M., Jurgen W., Manfred K. and Heike K. (2017). Effects of intramuscularly administered Enrofloxacin on the susceptibility of commensal intestinal *Escherichia coli* in pigs (*Susscrofa domestica*). BMC Veterinary Research. 10: 118-126.

Brus M., Dolinsek J., Cencic A. and Skorjanc D. (2013). Effect of chestnut (*Castanea sativa* Mill) wood tannins and organic acids on growth performance and faecal microbiota of pigs from 23 to 127 days of age. Agricultural Science. 19(4): 841-847.

Caprarulo V., Giromini C. and Rossi L. (2021). Review: Chestnut and quebracho tannins in pig nutrition: the effects on performance and intestinal health. Animal. 15(1): 100064.

Dowarah R., Verma A.K. and Agarwal N. (2017). The use of Lactobacillus as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: A review. Animal Nutrition. 3(1): 1–6.

Faccin J.E.G., Laskoski F., Cemin H.S., Mellagi A.P.G., Bernardi M.L., Ulguim R.R., Bortolozzo F.P. and Tokach M.D. (2020). Evaluating the impact of weaning weight and growth rate during the first week post weaning on overall nursery performance. Journal of Swine Health and Production. 28(2): 70–78.

Foditsch C., Pereira R.V.V., Siler J.D., Altier C. and Warnick L.D. (2019). Effects of treatment with enrofloxacin or tulathromycin on fecal microbiota composition and genetic function of dairy calves. Plos One 14(12): e0219635.

Giacomo B. and Pinna C. (2010). The utilization of prebiotics and symbiotics in pig. Italian Journal of Animal Science. 13: 169–178.

Girard M. and Bee G. (2020). Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. Animal. 14(1): 95–107.

Hudzicki J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. Journal of American Society for Microbiology. 1-23.

Marion G., Sophie T., Nicolas P., Dou H., Catherine O. and Giuseppe B. (2018). Hydrolysable chestnut tannins for reduction of postweaning diarrhea: efficacy on an experimental ETEC F4 Model. Plos One. 13(5): 1–15.

McDevitt S. (2009). Methyl Red ang Voges-Proskauer test protocols. Journal of American Society for Microbiology. 1-9.

Min B.R., Pinchak W.E., Merkel R., Walker S., Tomita G. and Anderson R.C. (2008). Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. Scientific Research and Essays. 3(2): 066–073.

Mohamed R., Fairbrother J.M., Beaudry F. and Letellier A. (2017). Postweaning diarrhea in pig: risk factors and non-Colistin-based control strategies. Acta Veterinaria Strategies. 59(31): 1-19.

Myers D.N., Stoeckel D.M., Bushon R.N., Francy D.S. and Brady A.M.G. (2007). Fecal indicator bacteria: U.S. geological survey techniques of water-resources investigations, book 9, chap. A7, section 7.1 (version 2.0)

Smith A.C. and Hussey M.A. (2005). Gram stain protocols. American Society for Microbiology, 1(September 2005), 14.

Sudthidol P., Pairat S., Udom C. and Bopit P. (2018). Effect of Lactobacillus probiotics supplementation on intestinal bacteria and growth performance in weaned pigs. Veterinary Integrative Sciences. 16(3): 211–221.

Yu J., Song Y., Yu B., He J., Zheng P., Mao X., Huang Z., Luo Y., Luo J., Yan H., Wang Q., Wang H. and Chen D. (2020). Tannic acid prevents post-weaning diarrhea by improving intestinal barrier integrity and function in weaned piglets. Journal of Animal Science Biotechnology. 87: 1-11.