



การเสริมส่วนผสมของกรดอินทรีย์กับน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบไมโครแคปซูลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และสุขภาพทางเดินอาหารของไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลระดับสูง

ปัทวิกานต์ ปรีสงค์¹ ปรีดา เลิศวัชรสารกุล² อัครเดช สี่มาเจริญศรี³ Glenmer Tactacan³ และยูวเรศ เรืองพานิช^{1, #}

¹ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

³บริษัท Jefe Nutrition จำกัด เขต-ไฮยาซินธ์ ควิบอก J2S 7B6 ประเทศแคนาดา

บทคัดย่อ: การศึกษาการเสริมส่วนผสมของกรดอินทรีย์กับน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบไมโครแคปซูลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและสุขภาพทางเดินอาหารของไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลระดับสูง ทำการทดลองในไก่เนื้อเพศผู้สายพันธุ์ Ross 308 จำนวน 1,050 ตัว ใช้แผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์แบ่งไก่เนื้อออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 14 ซ้ำ มีกลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐานข้าวโพดและกากถั่วเหลือง (CS) กลุ่มที่ 2 อาหาร CS ที่มีกากข้าวโพดหมักเอทานอลและข้าวสาลี (WD) กลุ่มที่ 3 อาหาร WD ร่วมกับการเสริมกรดอินทรีย์และน้ำมันหอมระเหย (WD + EOS) ที่ระดับ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร สมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อตลอดช่วง 1-35 วัน พบว่าไก่เนื้อกลุ่ม WD และ WD + EOS มีปริมาณอาหารที่กินได้ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวที่ต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CS ($P < 0.01$) ในขณะที่น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเกิดตึง และอัตราการตายของแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ทางด้านการประเมินสุขภาพทางเดินอาหารของลำไส้เล็กส่วนกลางที่อายุ 35 วัน พบว่าการเสริม EOS ในอาหาร WD ส่งผลให้มีการแสดงออกของยีน claudin-1 และ occludin เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ ($P < 0.01$) ทางด้านของเสียไนโตรเจนจากการหมักของจุลินทรีย์ในไส้ติ่ง พบว่าไก่เนื้อที่เลี้ยงด้วยอาหาร WD มีระดับแอมโมเนีย คาร์ดาเวอรินและฟูเทรซินในสิ่งย่อยไส้ติ่งสูงกว่ากลุ่ม CS ($P < 0.05$) การเสริม EOS ในอาหาร WD ส่งผลให้ระดับฟูเทรซินลดลงต่ำกว่ากลุ่ม WD ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม CS และไม่มีผลต่อระดับแอมโมเนียและคาร์ดาเวอริน ดังนั้นการเสริมส่วนผสมของกรดอินทรีย์กับน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบไมโครแคปซูลอาจมีผลต่อการปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารและช่วยลดผลกระทบด้านลบจากการใช้ข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลระดับสูงในอาหารไก่เนื้อได้

คำสำคัญ: กรดอินทรีย์ น้ำมันหอมระเหย สุขภาพทางเดินอาหาร ไก่เนื้อ

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2565. 17(1): 1-12.

E-mail address: agryos@ku.ac.th

The Supplementation of Micro-encapsulated Organic Acids and Essential Oils Mixture on Growth Performance and Gut Health of Broiler Chickens Fed High Wheat and Corn Distiller's Dried Grain Diet

Pattaveekan Preesong¹, Preeda Lertwatcharasarakul², Akaradet Seemacharoensri³,
Glenmer Tactacan³, and Yuwares Ruangpanit^{1,#}

¹Animal Science Department, Faculty of Agriculture Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand; ²Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140, Thailand; ³Jefo Nutrition Inc., Saint-Hyacinthe, Quebec J2S 7B6, Canada

Abstract: Aims of this study were to evaluate the supplementation of micro-encapsulated organic acids and essential oils mixture on growth performance and gut health of broiler chickens fed diet containing high wheat and corn distiller's dried grain. A total of 1,050 male broilers (Ross 308) were allocated into 3 treatments with 14 replicates per treatment using a Completely Randomized Design. The treatments were: 1) corn-soybean meal basal diet (CS), 2) CS with high wheat and corn distiller's dried grain diet (WD), 3) WD with 300 mg/kg of micro-encapsulated organic acids and essential oils mixture (WD + EOS). Overall performance (1-35 DOA), feed intake and feed conversion ratio of bird fed WD and WD + EOS diets were highly significant increased ($P < 0.01$) when compared with CS diet. There were no significant differences in body weight gain, percentage of culling and percentage of mortality. In term of evaluation of gut health in intestinal jejunum at 35 DOA, tight junction mRNA relative gene expression of claudin-1 and occludin were up-regulated ($P < 0.01$) in WD + EOS diet. Birds fed WD diet had a higher cecal ammonia, cadaverine and putrescine levels than that of CS group ($P < 0.05$). The supplementation of EOS in WD diet lowered putrescine level when compared to that of WD group ($P < 0.01$) but did not differ from the CS group ($P > 0.05$). The results showed that the supplementation of micro-encapsulated organic acids and essential oils mixture improved gut health and reduce the negative effects of high wheat and corn's distiller dried grain levels in broiler chicken diets.

Keywords: Essential oil, Organic acid, Gut health, Broiler

[#]Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2022 17(1): 1-12.

E-mail address: agryos@ku.ac.th

บทนำ

ข้าวสาลีเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานหลักในการผลิตอาหารสัตว์ปีก ในยุโรป แคนาดา และออสเตรเลีย (Yan et al., 2017) ในประเทศไทยมีการใช้ข้าวสาลีอย่างกว้างขวางในช่วงระยะเวลาหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากช่วยควบคุมต้นทุนค่าอาหารและลดปริมาณการใช้ข้าวโพดซึ่งเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานหลัก กากข้าวโพดหมักเอทานอลเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลและถูกนำมาพิจารณาเป็นวัตถุดิบทางเลือกแหล่งโปรตีน เนื่องจากผลผลิตที่มีปริมาณมากและมีปริมาณโภชนาการที่หลากหลาย ซึ่งเมื่อนำมาใช้ในอาหารสัตว์ปีกจะช่วยลดการใช้กากถั่วเหลืองและช่วยควบคุมต้นทุนได้ด้วยเช่นกัน (Wang et al., 2007a) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลต่างมีข้อจำกัดในการใช้เลี้ยงไก่เนื้อ โดยข้าวสาลีมีองค์ประกอบของอะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) (Knudsen, 2014) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มระดับความชื้นในทางเดินอาหาร (Gao et al., 2008) ทำให้เกิดการลดโอกาสการเข้าถึงของเอนไซม์กับสารตั้งต้น สิ่งที่เกิดขึ้นดังกล่าวนอกจากสัตว์จะย่อยและใช้ประโยชน์จากอาหารได้น้อยลงแล้ว ยังก่อให้เกิดการส่งผ่านสารอาหารไปยังจุลินทรีย์ในลำไส้ อีกทั้งยังส่งเสริมการเพิ่มระดับของเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Clostridium* (Yan et al., 2017) *Escherichia coli* (*E. coli*) (Roofchaei et al., 2019) ในขณะที่การใช้กากข้าวโพดหมักเอทานอลในการเลี้ยงไก่เนื้อมากกว่า 20 หรือ 25 % พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่เนื้อลดลง (Wang et al., 2007a; Wang et al., 2007b) เนื่องจากกากข้าวโพดหมักเอทานอลมีองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide) และระดับการย่อยได้ของกรดอะมิโนที่มีความแปรปรวนแตกต่างกันตามแหล่งผลิต (Latorre et al., 2017) ทำให้การใช้วัตถุดิบทางเลือกเพื่อลดต้นทุนการผลิตอาหารสัตว์ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพทางเดินอาหาร ในขณะเดียวกัน

ณ ปัจจุบัน ผู้บริโภคมีความตื่นตัวเกี่ยวกับเชื้อดื้อยาและการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ ทำให้หลายประเทศมีการจำกัดการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต จึงเกิดประเด็นปัญหาในการหาสารทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยจากรายงานการศึกษาผลของการเสริมกรดอินทรีย์และน้ำมันหอมระเหย (EOS) ในไก่เนื้อส่วนใหญ่พบว่ามียาเสพติดต่อการปรับปรุงสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค การปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารและการส่งเสริมประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Yang et al., 2018; Wang et al., 2019; Yang et al., 2019) ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงได้มีการใช้ข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลเพื่อทดแทนการใช้ข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเพื่อประเมินผลของการเสริม EOS ต่อการปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารและสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วิธีการทดลองและการจัดการการเลี้ยงดู

การศึกษานี้ใช้ไก่เนื้อเพศผู้สายพันธุ์ Ross308 อายุแรกเกิด จำนวน 1,050 ตัว ถูกสุ่มแบ่งออกตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 14 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 25 ตัว โดยมีกลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง (CS) กลุ่มที่ 2 CS ที่มีกากข้าวโพดหมักเอทานอลและข้าวสาลี (WD) กลุ่มที่ 3 WD ที่เสริมด้วยส่วนผสมของกรดอินทรีย์และน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบไมโครแคปซูลที่ระดับ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร (WD + EOS) โดยน้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ได้มาจากผลิตภัณฑ์ภายใต้ชื่อทางการค้า GALLINAT[®] (Jefo Nutrition, Inc., Quebec, Canada) ประกอบด้วยส่วนผสมของสารสกัดจากน้ำหอมระเหย ได้แก่ ไทมอล วานิลิน ยูจีนอล กรดซอร์บิก กรดฟูลิก กรดซิตริก และกรดมาลิก ที่ผลิตด้วย micro-encapsulation technology

Table 1 Ingredients composition and calculated analysis of experimental diets

Ingredients (%)	Starter diet		Grower diet		Finisher diet	
	CS	WD	CS	WD	CS	WD
Corn, 7.9%CP	53.46	30.30	56.22	26.86	60.34	25.40
Wheat, 13%CP	-	20.00	-	25.00	-	30.00
Soybean meal, 48.5%CP	37.62	29.60	34.29	24.72	29.65	17.87
Corn DDGS, 26%CP	-	10.00	-	12.50	-	15.00
Soybean oil	3.62	4.44	4.71	5.83	5.56	6.85
Mono-dicalcium phosphate	1.94	1.74	1.76	1.50	1.56	1.25
Limestone	1.21	1.29	1.10	1.19	1.02	1.13
Salt	0.15	0.07	0.17	0.08	0.18	0.06
Broiler vit/min premix	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
DL-Methionine	0.33	0.34	0.28	0.29	0.25	0.27
L-Lysine HCl	0.23	0.44	0.17	0.42	0.16	0.47
Sodium bicarbonate	0.33	0.36	0.30	0.32	0.30	0.33
Choline Chloride, 60%	0.38	0.38	0.36	0.36	0.35	0.35
Calculated nutrient (%)						
ME for poultry; Kcal/kg	3,000	3,000	3,100	3,100	3,200	3,200
Crude protein	23.0	23.0	21.5	21.5	19.5	19.5
Crude fat	6.22	7.17	7.33	8.61	8.26	9.74
Crude fiber	3.03	3.48	2.92	3.14	2.78	3.03
Calcium	0.960	0.960	0.870	0.870	0.790	0.790
Total phosphorus	0.818	0.818	0.760	0.752	0.695	0.683

ไก่ทั้งหมดถูกเลี้ยงในระบบโรงเรือนปิด ให้ อาหารและน้ำแบบไม่จำกัด (ad libitum) ทำการให้ วัคซีนป้องกันโรค ได้แก่ วัคซีน ND (B1 strain) + IB, IBD และ ND (LaSota strain) + IB เมื่ออายุ 7, 13 และ 21 วัน ตามลำดับ องค์ประกอบของวัตถุดิบและคุณค่าทาง โภชนะที่ได้จากการคำนวณได้แสดงไว้ใน Table 1 การ ให้อาหาร แบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ ที่อายุ 1-10 วัน (อาหารเม็ดขบ) อายุ 11-24 วัน (อาหารอัดเม็ด) และอายุ 25-35 วัน (อาหารอัดเม็ด) โดยอาหารมีคุณค่าทาง

โภชนะเป็นไปตามมาตรฐานที่สายพันธุ์กำหนด (Aviagen, 2014)

การเก็บข้อมูล การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์ ตัวอย่าง

บันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักไก่แต่ละตัว และอาหารเหลือเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง นำ ข้อมูลมาคำนวณหาน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่ กินได้ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว บันทึก จำนวนไก่ตายและไก่ที่ถูกคัดทิ้งในแต่ละกลุ่มทดลองเป็น รายวัน แล้วนำมาคำนวณหาอัตราการตายและการคัดทิ้ง

ที่อายุ 35 วันทำการสุมไก่เนื้อจำนวน 1 ตัวต่อเช้า เพื่อสุม
เก็บเนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วนกลางและสิ่งย่อยในทางเดิน
อาหารส่วนไส้ติ่ง

นำตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนกลางมาทำการ
วิเคราะห์การแสดงของยีนที่ควบคุมโปรตีน tight
junction ซึ่งประกอบด้วยยีน claudin-1 ยีน zona
occludens 1 (ZO-1) และยีน occludin โดยทำการ
สกัด RNA ตามข้อแนะนำของ RNA Kit (Biotechrabbit
GmbH., Berlin, Germany) ทำการกำจัด DNA ที่เจือ
ปนตามข้อแนะนำของ DNA สำเร็จรูป (TURBO DNA
free™ kit, Life Technologies Corp., CA) สังเคราะห์
cDNA (complementary DNA) ตามข้อแนะนำของชุด
cDNA Synthesis Kit (Biotechrabbit GmbH., Berlin,
Germany) จำลองปฏิกิริยาเพิ่มจำนวน cDNA ต้นแบบ
โดยใช้ SYBR Green of CAPITAL™ qPCR Greenmix
(Biotechrabbit GmbH., Berlin, Germany) ด้วยเครื่อง

Real-Time PCR ตรวจวัดผลด้วยโปรแกรม CFX
manager software version 3.0 (Bio-Rad,
Laboratories, Inc., Berkeley, CA) ปฏิบัติการประกอบ
ด้วย reverse และ forward primer ของแต่ละยีนตาม
Table 2 และคำนวณ relative gene expression โดย
ใช้ TBP และ GAPDH เป็น housekeeping gene

นำตัวอย่างของสิ่งย่อยในทางเดินอาหารส่วนไส้
ติ่งมาทำการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียและปริมาณ
ไบโอเจนิคเอมีน ได้แก่ สารคาร์ดาเวอริน สารพูเทรสซิน
โดยวิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียในสิ่งย่อยจากไส้ติ่งได้
ดำเนินการตามวิธีการของ Weatherburn (1967) และ
วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไบโอเจนิคเอมีน ในสิ่งย่อยจากไส้
ติ่งได้ดำเนินการสกัดตัวอย่างตามวิธีการของ Saarinen
(2002) ทำปฏิกิริยาสารสร้างสารอนุพันธ์เอมีนกับสารเดนซิล
คลอไรด์ (dansyl chloride) และใช้ condition HPLC
ตามวิธีการของ Hirvi et al. (1993)

Table 2 Nucleotide sequences of primers for quantitative real-time PCR assay

Name	Primer sequences	GenBank accession number
Claudin-1	FP 5'-AAGGTGTACGACTCGCTGCT-3' RP 5'-CAGCAACAAACACACCAACC-3'	NM_001013611.2
ZO-1 ¹	FP 5'-AAGTGGGAAGAATGCCAAAA-3' RP 5'-GGTCCTTGGATCCCGTATCT-3'	XM_015278975.2
Occludin	FP 5'-ACGGCAAAGCCAACATCTAC-3' RP 5'-ATCCGCCACGTTCTTCAC-3'	NM_205128.1
GAPDH ¹	FP 5'-CAACCCCAATGTCTCTGTT-3' RP 5'-TCAGCAGCAGCCTTCACTAC-3'	NM_204305.1
TBP ¹	FP 5'-GTCCACGGTGAATCTTGGTT-3' RP 5'-GCGCAGTAGTACGTGGTTCTC-3'	NM_205103.1

¹GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ZO-1, zona occludens 1; TBP, TATA-binding protein; Source of primer of ZO-1, Occludin, GAPDH and TBP are from Gilani et al. (2018) except Claudin-1 from Chen et al. (2015).

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ด้วย Free Statistical Software, SAS[®] University Edition โดยใช้ GLM Procedure และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's multiple rang test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

สมรรถภาพการผลิต

ผลของการเสริม EOS ต่อสมรรถภาพการผลิตเตี้ยโตของไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลระดับสูง ในช่วงอายุ 1-35 วัน แสดงดังใน Table 3 จากการศึกษาพบว่าไก่เนื้อในกลุ่ม WD และ WD + EOS มีปริมาณอาหารที่กินได้สูงกว่ากลุ่ม CS ($P < 0.01$) แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการตาย และอัตราการคัดทิ้งระหว่างกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) จึงส่งผลให้กลุ่ม WD และกลุ่ม WD + EOS มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่ม CS ($P < 0.01$) โดยมีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลที่กล่าวมาข้างต้น 2 ปัจจัยหลักดังนี้ ปัจจัยที่หนึ่ง คือการใช้ข้าวสาลีทดแทนข้าวโพด เนื่องจากข้าวสาลีมีองค์ประกอบของเยื่อใยเฮมิเซลลูโลสสูงกว่าในข้าวโพด 2 เท่า โดยเฉพาะเยื่อใยอะราบิโนไซแลนซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นเยื่อใยที่สามารถละลายน้ำได้ (Knudsen, 2014) สามารถส่งผลต่อการเพิ่มระดับความชื้นหนืดในทางเดินอาหาร (Gao et al., 2008) ทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของสิ่งย่อยในทางเดินอาหารลดลง (Van Der Klis et al., 1993) อีกทั้งยังลดโอกาสการเข้าถึงของเอนไซม์กับสารตั้งต้น ประสิทธิภาพการย่อยอาหารลดลงและก่อให้เกิดปัญหาของสุขภาพทางเดินอาหาร (Roofchaei et al., 2019) ปัจจัยที่สอง คือการใช้กากข้าวโพดหมักเอทานอลทดแทนการใช้กากถั่วเหลือง เนื่องจากกากข้าวโพดหมักเอทานอลมีความผัน

แปรของคุณค่าทางโภชนาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งระดับของเยื่อใย คุณภาพของโปรตีน และไขมัน ซึ่งเกิดจากความแตกต่างของรูปแบบกระบวนการผลิตและการที่ต้องผ่านกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลานาน (Pedersen et al., 2014) อุณหภูมิที่สูงก่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างน้ำตาลและโปรตีน เรียกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Latorre et al., 2017) จึงส่งผลให้ค่าการย่อยได้ของกรดอะมิโน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนไลซีนมีค่าต่ำลง (Adedokun et al., 2008) นอกจากนี้กากข้าวโพดหมักเอทานอลยังประกอบด้วยเยื่อใยในกลุ่มของเซลลูโลสและอะราบิโนสในระดับสูง ซึ่งจัดเป็นสารต้านโภชนาที่สามารถขัดขวางการย่อยและการดูดซึมสารอาหารในไก่เนื้อ (Pedersen et al., 2014) ด้วยเหตุนี้การใช้ข้าวสาลีร่วมกับกากข้าวโพดหมักเอทานอลในระดับสูง จึงส่งผลให้ไก่เนื้อที่กินอาหาร WD มีการย่อยได้และการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่ากลุ่ม CS ส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวในกลุ่มที่กินอาหาร WD แย่ลง จึงมีการปรับเพิ่มปริมาณการกินได้ เนื่องจากได้รับพลังงานต่อหน่วยอาหารที่กินน้อยลง (Youssef et al., 2008)

การศึกษาค้นคว้านี้ไม่พบอิทธิพลของการเสริม EOS ในไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลในระดับสูง ในขณะที่ Yang et al. (2018) รายงานถึงผลของการเสริมกรดซอร์บิกและกรดฟumaric ร่วมกับสารสกัดไทมอล (200 กรัม/ตันอาหาร) พบว่ามีผลช่วยปรับปรุงอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ในไก่เนื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ รวมถึง Yang et al. (2019) และ Liu et al. (2018) ที่รายงานผลในทิศทางเดียวกันถึงผลของการเสริมสารสกัดไทมอล กรดซอร์บิก และกรดฟumaric ในรูปแบบแคปซูล พบว่ามีผลช่วยปรับปรุงอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวในไก่เนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในด้านกลไกของน้ำมันหอมระเหยต่อการปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่เนื้อคือการช่วยปรับปรุง

Table 3 Growth performance of broiler chickens fed micro-encapsulated essential oils and organic acids mixture during 1-35 DOA

Parameter	Treatment			Pooled SEM	P-value
	CS	WD	WD + EOS		
Body weight gain (g/bird)	2298.70	2285.62	2302.92	25.005	0.6796
Feed intake (g/bird)	3377.02 ^b	3474.65 ^a	3486.67 ^a	38.123	0.0018
Feed conversion ratio	1.467 ^b	1.529 ^a	1.515 ^a	0.014	<0.0001
Mortality (%)	1.43	0.29	0.29	1.225	0.7724
Culling (%)	1.71	1.14	2.00	1.319	0.8528

^{a,b} Within a column, means with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

สรีระวิทยาของระบบย่อยอาหาร เช่น การกระตุ้นการหลั่งน้ำลาย เอนไซม์ย่อยอาหารจากกระเพาะอาหาร และตับอ่อน (Steiner and Syed, 2015) แต่อย่างไรก็ตามงานทดลองข้างต้นได้ทดลองในสูตรอาหารพื้นฐานข้าวโพดและกากถั่วเหลือง ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าความแตกต่างระหว่างองค์ประกอบของวัตถุดิบในอาหารที่ทดลองระดับการเสริม และองค์ประกอบของ EOS อาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของ EOS ต่อการปรับปรุงสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

การแสดงออกของยีน tight junction โปรตีนบนเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้เล็กส่วนกลาง

ผลของการเสริม EOS ต่อการแสดงออกของยีน tight junction บนเยื่อบุผิวลำไส้เล็กส่วนกลางในไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลระดับสูง ที่อายุ 35 วัน แสดงดังใน Figure 1 จากการศึกษาพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหาร WD + EOS มีการแสดงออกของยีน claudin-1 และยีน occludin เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหาร CS และ WD ในขณะที่การแสดงออกของยีน ZO-1 ไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Yang et al. (2019) ที่รายงานว่า การเสริมสารสกัดไทมอล กรดซอร์บิก และกรดฟumaric ในอาหารไก่เนื้อ มีผลเพิ่มการ

แสดงออกของยีน claudin-1 นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ McKnight et al. (2019) ที่พบว่าการเสริมกรดอินทรีย์ร่วมกับสารสกัดจากพืช (ไม่ระบุองค์ประกอบ) ในอาหารไก่เนื้อ มีผลต่อการเพิ่มระดับการแสดงออกของยีน claudin-1 มีงานวิจัยที่ศึกษาพบว่าการแสดงออกของยีน claudin-1 บนเยื่อบุผิวลำไส้ของลูกสุกรหลังหย่านมนั้นสามารถถูกลดระดับลงได้เมื่อได้รับเชื้อ *E. coli* และ lipopolysaccharide (Pu et al., 2018) เนื่องจากโปรตีน claudin, ZO-1 และ occludin เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างโปรตีน tight junction ซึ่งมีหน้าที่ในการคัดเลือกสารที่ผ่านเข้าออกทางช่องว่างระหว่างเซลล์ (paracellular pathway) มีบทบาทสำคัญต่อการป้องกันสารแปลกปลอมในช่องทางเดินอาหารผ่านเข้าสู่กระแสเลือด ได้แก่ โมเลกุลและอะตอมที่มีประจุบวกหรือลบ เชื้อจุลินทรีย์ และสารพิษ (Ulluwishewa et al., 2011) การเสริม EOS ในอาหารไก่เนื้ออาจมีบทบาทต่อการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหาร โดยน้ำมันหอมระเหยมีกลไกในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย คือการเจาะและทำให้เกิดการรั่วไหลของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (Shao et al., 2013) จึงทำให้กรดอินทรีย์มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อก่อโรคได้ดีขึ้นโดยการเพิ่มระดับการแพร่โมเลกุลของกรดเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียและปลดปล่อยไอออนประจุบวก (H^+)

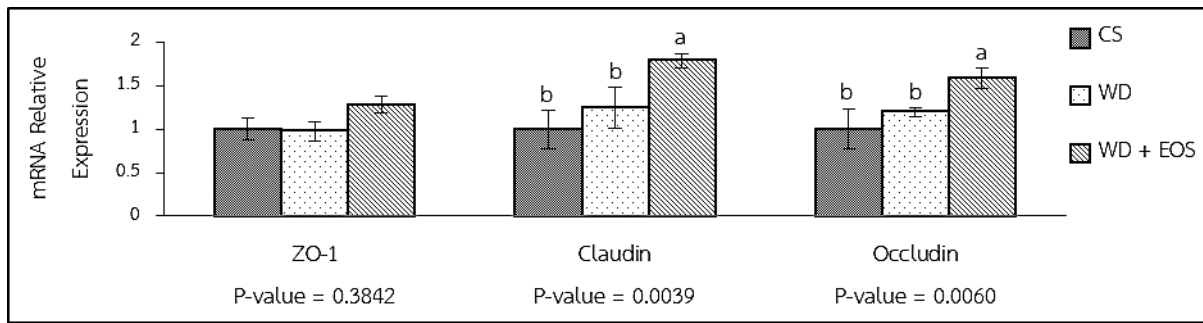


Figure 1 mRNA relative expression in jejunum mucosa of broiler chickens fed micro-encapsulated essential oils and organic acids mixture at 35 DOA. Different letters denote significant difference ($P < 0.05$).

เพื่อให้สภาวะ pH รอบข้างมีค่าต่ำกว่าระดับค่า pKa ของกรดอ่อน (pH 3-5) และทำให้ค่า pH ภายในเซลล์ จุลินทรีย์ลดลง (Nguyen et al., 2018) จากกลไกการทำงานร่วมกันระหว่างน้ำมันหอมระเหยและกรดอินทรีย์ข้างต้น จึงส่งผลให้มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง ลดการสร้างสารพิษที่รบกวนความแข็งแรงของเยื่ออุ ล่าไส้เล็ก โดยเฉพาะ tight junction จึงส่งผลให้การ แสดงออกของยีน tight junction โปรตีนเพิ่มขึ้น

ปริมาณแอมโมเนียและไบโอเจนิคเอมีนในสิ่งย่อยของ ไส้ติ่ง

ผลของการเสริม EOS ต่อระดับแอมโมเนีย และไบโอเจนิคเอมีน ในสิ่งย่อยของไส้ติ่งของไก่เนื้อที่ ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอล ระดับสูง ที่อายุ 35 วัน แสดงดัง Table 4 พบว่าไก่เนื้อที่ เลี้ยงด้วยอาหาร WD มีระดับแอมโมเนีย คาร์ดาเวอริน และพูเทรสซินในสิ่งย่อยไส้ติ่งสูงกว่ากลุ่ม CS ($P < 0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าอาหาร WD ส่งผลกระทบต่อการลด ประสิทธิภาพการย่อยและการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ จึงส่งผลให้มีการหลงเหลือของสารอาหารไปยังลำไส้ส่วน ปลายมากขึ้น โดยสะท้อนจากปริมาณของแอมโมเนีย และไบโอเจนิคเอมีน เช่น คาร์ดาเวอริน พูเทรสซินของสิ่ง ย่อยในไส้ติ่งที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากข้าวสาลีที่มีอยู่ในระดับสูง สามารถส่งผลต่อการเพิ่มระดับความชื้นหนืดในทางเดิน อาหารและลดประสิทธิภาพการใช้อาหารในทางเดิน อาหาร (Gao et al., 2008) จึงเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้เกิด การหลงเหลือของสารอาหารไปยังทางเดินอาหารส่วน

ปลาย ในขณะที่กากข้าวโพดหมักเอทานอลที่มีอยู่ใน ระดับสูงนั้นมีการใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนต่ำ โดยเฉพาะกรดอะมิโนไลซีน (Adedokun et al., 2008) จากการทำปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างน้ำตาลและโปรตีน เรียกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Latorre et al., 2017) จึง เป็นปัจจัยที่ส่งผลให้มีการหลงเหลือของกรดอะมิโนที่ไม่ สามารถย่อยและดูดซึมได้ในทางเดินอาหารส่วนต้นและ ส่วนกลาง จึงถูกส่งมายังทางเดินอาหารส่วนท้ายเพิ่มขึ้น (Bryan et al., 2019) โดยกรดอะมิโนที่ถูกส่งมายัง ทางเดินอาหารส่วนท้ายจะถูกจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงเป็น แอมโมเนียจากกระบวนการดีอะมิเนชัน หรือ เปลี่ยนแปลงเป็นไบโอเจนิคเอมีน เช่น คาร์ดาเวอรินจาก กระบวนการดีคาร์บอกซิเลชันของกรดอะมิโนไลซีน (Davila et al., 2013) สารแอมโมเนียที่ถูกผลิตขึ้นยัง สามารถส่งผลต่อการเพิ่มค่า pH ของสภาพแวดล้อมในไส้ ตีง ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อ โรคในทางเดินอาหาร (Abdel-Rahe et al., 2011) และ ยังส่งผลบต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ (Nyachoti et al., 2006) และอาจก่อให้เกิดการถดถอย ของประสิทธิภาพการใช้อาหาร ซึ่งแสดงให้เห็นจากรายงานการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหาร WD มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวน้อยกว่า ไก่เนื้อที่ได้รับอาหาร CS อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณของ พูเทรสซินในกลุ่ม WD + EOS มีระดับต่ำกว่ากลุ่ม WD ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม CS และไม่มีผลต่อ ระดับแอมโมเนียและคาร์ดาเวอริน จึงแสดงให้เห็นว่าการ

Table 4 Microbial metabolite in ceca content of broiler chickens fed micro-encapsulated essential oils and organic acids mixture at 35 DOA

Parameter	Treatment			Pooled SEM	P-value
	CS	WD	WD + EOS		
Ammonia (mg/g)	5.40 ^b	6.67 ^a	6.76 ^a	0.682	0.0324
Putrescine (µg/g)	19.43 ^b	84.30 ^a	33.30 ^b	25.586	0.0089
Cadaverine (µg/g)	657.30 ^b	1575.53 ^a	1301.94 ^a	178.615	<0.0001

^{a,b}Within a column, means with different superscripts differ significantly (P < 0.05)

เสริม EOS มีบทบาทต่อการควบคุมจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารและส่งผลให้เกิดการลดระดับการผลิตพุเทรสซินจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชันของกรดอะมิโนอาร์จินิน (Davila et al., 2013) ซึ่งกรดอะมิโนอาร์จินินมีอัตราการย่อยได้ที่ประมาณ 73% และไลซีนที่มีอัตราการย่อยได้เพียง 48.7% ในกากข้าวโพดหมักเอทานอลสีเข้ม (Adedokun et al., 2008) ดังนั้นการเสริม EOS จึงมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารจากบทบาทการควบคุมจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนปลายในไก่เนื้อที่ได้รับผลกระทบจากการใช้วัตถุดิบที่ส่งผลให้มีการหลงเหลือของโปรตีนไปยังลำไส้ส่วนปลายซึ่งได้แสดงให้เห็นจากการศึกษาครั้งนี้ว่าโปรตีน tight junction บนเยื่อบุผิวลำไส้เล็กส่วนกลางมีความสมบูรณ์มากขึ้นในกลุ่ม WD + EOS เมื่อเปรียบเทียบกับทุกกลุ่มทดลอง

สรุป

ไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลในระดับสูง ส่งผลให้ปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น แต่ก่อให้เกิดการถดถอยของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ซึ่งเป็นผลมาจากการถดถอยของสุขภาพทางเดินอาหาร การเพิ่มขึ้นของระดับของเสียจากไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียและไบโอเจนิคเอมีนในทางเดินอาหารส่วนปลาย แต่การเสริม EOS ที่ระดับ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ในไก่เนื้อที่ได้รับ

อาหารที่มีข้าวสาลีและกากข้าวโพดหมักเอทานอลในระดับสูง พบว่าไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตเนื่องจากมีปัจจัยจากองค์ประกอบของวัตถุดิบในอาหารเข้ามาเกี่ยวข้อง แต่การเสริม EOS สามารถก่อให้เกิดการปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารของไก่เนื้อ โดยการเพิ่มความสมบูรณ์ของเยื่อบุผิวลำไส้ จากการเพิ่มระดับโปรตีน tight junction และลดระดับการผลิตของเสียจากไนโตรเจนในทางเดินอาหารส่วนปลายของไก่เนื้อ

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาครั้งนี้ขอขอบคุณศูนย์การเรียนรู้วิชาการด้านสัตวศาสตร์ ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนที่เอื้อเฟื้อสถานที่ดำเนินงานวิจัย และบริษัท Jefe Nutrition, Inc. ประเทศแคนาดา สำหรับทุนการวิจัยและผลิตภัณฑ์สำหรับการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Abdel-Rahe, S. M., R. Leitgeb and C. Iben. 2011. Effects of dietary Inclusion level of distillers' dried grains with solubles (DDGS) from wheat and corn on amino acid digestibilities in broilers. Int. J. Poult. Sci. 10: 952-958

- Adedokun, S. A., O. Adeola, C. M. Parsons, M. S. Lilburn, and T. J. Applegate. 2008. Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poults using a nitrogen-free or casein diet. *Poult. Sci.* 87: 2535-2548.
- Aviagen. 2014. Ross 308 Broiler Nutrition Specifications. Available Source: http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308BroilerNutritionSpecs2014-EN.pdf, March 5, 2020
- Bryan, D., D. A. Abbott, A. G. Van Kessel, and H. L. Classen. 2019. In vivo digestion characteristics of protein sources fed to broilers. *Poult. Sci.* 98: 3313-3325.
- Chen, J., G. Tellez, J. D. Richards, and J. Escobar. 2015. Identification of potential biomarkers for gut barrier failure in broiler chickens. *Front. Vet. Sci.* 2: 1-10.
- Davila, A. M., F. Blachier, M. Gotteland, M. Andriamihaja, P. H. Benetti, Y. Sanz, and D. Tome. 2013. Intestinal luminal nitrogen metabolism: role of the gut microbiota and consequences for the host. *Pharmacol. Res.* 68: 95-107.
- Gao, F., Y. Jiang, G. H. Zhou, and Z. K. Han. 2008. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 142: 173-184.
- Gilani, S., G. S. Howarth, G. Nattrass, S. M. Kitessa, R. Barekatain, R. E. A. Forder, C. D. Tran, and R. J. Hughes. 2018. Gene expression and morphological changes in the intestinal mucosa associated with increased permeability induced by short-term fasting in chickens. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102:e653-e661.
- Hirvi, T., E. Lindfors, R. Hinkkanen, and S. Eerola. 1993. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *J. AOAC. Int.* 76: 575-577.
- Knudsen, K. E. 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poult. Sci.* 93: 2380-2393.
- Latorre, J. D., X. Hernandez-Velasco, J. L. Vicente, R. Wolfenden, B. M. Hargis, and G. Tellez. 2017. Effects of the inclusion of a *Bacillus* direct-fed microbial on performance parameters, bone quality, recovered gut microflora, and intestinal morphology in broilers consuming a grower diet containing corn distillers dried grains with solubles. *Poult. Sci.* 96: 2728-2735.
- Liu, S., M. Song, W. Yun, J. Lee, C. Lee, W. Kwak, N. Han, H. Kim, and J. Cho. 2018. Effects of oral administration of different dosages of carvacrol essential oils on intestinal barrier function in broilers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 102: 1257-1265.

- McKnight, L. L., W. Peppler, D. C. Wright, G. Page, and Y. Han. 2019. A blend of fatty acids, organic acids, and phytochemicals induced changes in intestinal morphology and inflammatory gene expression in coccidiosis-vaccinated broiler chickens. *Poult. Sci.* 0: 1-8.
- Nguyen, D. H., K. Y. Lee, M. Mohammadigheisar, and I. H. Kim. 2018. Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. *Poult. Sci.* 97: 4351-4358.
- Nyachoti, C. M., F. O. Omogbenigun, M. Rademacher and G. Blank. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84: 125-134.
- Pedersen, M. B., S. Dalsgaard, K. E. B. Knudsen, S. Yua, and H. N. Laeke. 2014. Compositional profile and variation of distiller's dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197: 130-141.
- Pu, J., D. Chen, G. Tian, J. He, P. Zheng, X. Mao, J. Yu, Z. Huang, L. Zhu, J. Luo, Y. Luo, and B. Yu. 2018. Protective effects of benzoic acid, bacillus coagulans, and oregano oil on intestinal injury caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned piglets. *Biomed. Res. Int.* 2018: 1-12.
- Roofchaei, A., V. Rezaei pour, S. Vatandour, and F. Zaefarian. 2019. Influence of dietary carbohydrases, individually or in combination with phytase or an acidifier, on performance, gut morphology and microbial population in broiler chickens fed a wheat-based diet. *Anim. Nutr.* 5: 63-67.
- Saarinen, M. T. 2002. Determination of biogenic amines as dansyl derivatives in intestinal digesta and feces by reversed phase HPLC. *Chromatographia.* 55: 297-300.
- Shao, X., S. Cheng, H. Wang, D. Yu, and C. Mungai. 2013. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. *J. Appl. Microbiol.* 114: 1642-1649.
- Steiner, T. and B. Syed. 2015. Phytogetic in animal nutrition, pp. 403-423. In A. E. Mathe, Ed. *Medicinal and Aromatic Plants of The World*. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Ulluwishewa, D., R. C. Anderson, W. C. McNabb, P. J. Moughan, J. M. Wells, and N. C. Roy. 2011. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *J. Nutr.* 141: 769-776.
- Van Der Klis, J. D., A. Van Voorst, and C. Van Cruyningen. 1993. Effect of a soluble

- polysaccharide (carboxy methyl cellulose) on the physico-chemical conditions in the gastrointestinal tract of broilers. *Br. Poult. Sci.* 34: 971-983.
- Wang, H., S. Liang, X. Li, X. Yang, F. Long, and X. Yang. 2019. Effects of encapsulated essential oils and organic acids on laying performance, egg quality, intestinal morphology, barrier function, and microflora count of hens during the early laying period. *Poult. Sci.* 0: 1-10.
- Wang, Z., S. Cerrate, C. Coto, F. Yan, and P. W. Waldroup. 2007a. Utilization of distillers dried grains with solubles (DDGS) in broiler diets using a standardized nutrient matrix. *Int. J. Poult. Sci.* 6: 470-477.
- Wang, Z., S. Cerrate, C. Coto, F. Yan, and P. W. Waldroup. 2007b. Use of constant or increasing levels of distillers dried grains with solubles (DDGS) in broiler diet. *Int. J. Poult. Sci.* 6: 501-507.
- Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39: 971-974.
- Yan, F., J. J. Dibner, C. D. Knight, and M. Vazquez-Anon. 2017. Effect of carbohydrase and protease on growth performance and gut health of young broilers fed diets containing rye, wheat, and feather meal. *Poult. Sci.* 96: 817-828.
- Yang, X., Y. Liu, F. Yan, C. Yang, and X. Yang. 2019. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. *Poult. Sci.* 98: 2858-2865.
- Yang, X., H. Xin, C. Yang, and X. Yang. 2018. Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. *Anim. Nutr.* 4: 388-393.
- Youssef, I. M., C. Westfahl, A. Sunder, F. Liebert, and J. Kamphues. 2008. Evaluation of 694 dried distillers' grains with solubles (DDGS) as a protein source for broilers. *Arch. 695 Anim. Nutr.* 62: 404-414.

