



## อาหารหมักเหลวที่เหมาะสมสำหรับสุกรขุน (น้ำหนักตัว 80 – 100 กิโลกรัม)

วันดี ทาตระกุล<sup>1\*</sup>, อัจฉราวุธ สนั่นนาม<sup>2</sup>, รังสรรค์ เจริญสุข<sup>1</sup> และทินกร ทาตระกุล<sup>2</sup>

### Suitable fermented liquid feed for finishing pigs (80–100 kgBW)

Wandee Tartrakoon<sup>1\*</sup>, Adsadawut Sanannam<sup>2</sup>, Rangsun Charoensook<sup>1</sup> and Tinnagon Tartrakoon<sup>2</sup>

<sup>1</sup>คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

<sup>2</sup>คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture Natural Resource and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

<sup>2</sup>Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna Phitsanulok, Thailand

\* Corresponding author. E-mail address: wandeeeta@nu.ac.th

#### บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักอาหารเหลว (Liquid feed; LF) ตามธรรมชาติในอาหารสุกรขุน ประกอบด้วยวัตถุดิบหลักคือ ข้าวโพด กากถั่วเหลือง หมักอาหารต่อน้ำ 1:2, 1:2.5 และ 1:3 เป็นเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ในถังปิด โดยอาหารหมักเหลว (Fermented LF; FLF) ที่เหมาะสมจะนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 คือการศึกษาประชากรแบคทีเรียกรดแลคติกโดยใช้เทคนิค PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) และทดสอบอาหารในสุกรขุนน้ำหนักเริ่มต้นที่ 80 กก. จำนวน 30 ตัวในการทดลองที่ 3 และ 4 สุกรกินอาหารชั้นในรูปแห้ง (Dry Feed; DF) ผสม FLF ในระดับ 20, 30 และ 40% ตามลำดับ ให้อาหารแบบจำกัด 2.5 กก./ตัว/วัน การทดลองที่ 4 สุกรกินอาหาร 3 ชนิดได้แก่ DF, DF ผสม 50% FLF และ LF ผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนอาหารชั้นต่อน้ำที่เหมาะสม คือ 1:2.5 หมัก 48 หรือ 72 ชั่วโมง มีคุณภาพที่ดีที่สุด คือค่า pH ต่ำกว่า 4.5 ปริมาณ Lactic acid bacteria มากกว่า  $11-12 \log \text{CFUg}^{-1}$  และมีจำนวน *Enterobacteriaceae* ต่ำสุดคือ  $4 \log \text{CFUg}^{-1}$  จากผลการทดลองที่ 3 พบว่า FLF สามารถใช้ผสมใน DF ได้ถึงระดับ 40% และสุกรที่กิน DF ผสม 50% FLF สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าสุกรที่กินอาหาร DF ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างกับสุกรที่กิน LF ส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีกว่า และต้นทุนค่าอาหารถูกกว่า แต่ก็ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับสุกรที่กิน LF ดังนั้นสรุปได้ว่า การหมักอาหารชั้นต่อน้ำในอัตราส่วน 1:2.5 โดยน้ำหนักเป็นเวลา 48 หรือ 72 ชั่วโมง สามารถใช้เลี้ยงสุกรระยะขุนได้ถึง 40% โดยการให้อาหารแบบจำกัด และพบเชื้อแบคทีเรียในอาหารหมักเหลว จีโนส *Leuconostoc* ทั้งหมด 4 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc palmae* และ *Leuconostoc lactis* และยังพบว่า *Leuconostoc lactis* เป็นเชื้อที่เด่นที่สุด

**คำสำคัญ:** อาหารหมักเหลว อาหารเหลว สุกรขุน

#### Abstract

Four experiments were carried out to investigate the natural suitable fermentation of liquid feed (LF) on growth performance of finishing pigs. The 1<sup>st</sup> experiment, corn-soybean meal feed was mixed with water at 1:2, 1:2.5 and 1:3 (w/w) and incubated for 0, 24, 48 and 72 h in closed tanks. The suitable of fermented LF (FLF) was used for the 2<sup>nd</sup> experiment using PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) technique to study lactic acid bacteria population in FLF and feeding trial experiments using 30 pigs with initial 80 kgBW in the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> experiments. The 3<sup>rd</sup> experiment, a dry meal feed (DF) was mixed with 20, 30 and 40 % of FLF before restricted feeding at 2.5 kg pig<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>. The 4<sup>th</sup> experiment, three dietary treatments were DF; 50% of FLF mixed with DF; and a LF. It was found the mixing of feed to water 1:2.5 (w/w) for 48 to 72 h of incubation, the best characteristics of FLF showed the lower than 4.5 of pH, Lactic acid bacteria counts higher than  $11-12 \log \text{CFUg}^{-1}$  and lowest *Enterobacteriaceae* counts at  $4 \log \text{CFUg}^{-1}$ . The pigs fed with 50% of FLF mixed with DF had better growth rate than pigs fed with DF ( $P < 0.05$ ), but not significantly ( $P > 0.05$ ) different from pigs fed with LF. There were also no difference ( $P > 0.05$ ) in feed consumption rate; hence it yielded better feed efficiency and lower feed cost. The FLF could be mixed with DF up to 40 percent. The FLF contained 4 species of *Leuconostoc* bacteria:



*Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc palmae*, and *Leuconostoc lactis*, which was found to be the most prominent species.

**Keywords:** fermented liquid feed, liquid feed, finishing pigs

## บทนำ

การหมักอาหารชั้นในรูปของเหลว เพื่อให้เกิดการหมักโดยธรรมชาติ จะมีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria; LAB) ทำหน้าที่เป็นโพรไบโอติก นอกจากนี้ยังมีการเกิดกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก ช่วยปรับสภาวะกรดในระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้การย่อยได้ของโภชนะ เช่น โปรตีน ดีขึ้น การผสมอาหารกับน้ำ จะเกิดกระบวนการหมักขึ้นอย่างรวดเร็ว (Canibe & Jensen, 2003; Pederson & Lindberg, 2003) การศึกษาการหมักในห้องปฏิบัติการ พบว่าการย่อยได้ของสารอินทรีย์ในอาหาร และโปรตีนดีขึ้นรวมทั้งดีกว่าอาหารที่ผ่านการทำให้สุกด้วยความร้อน (Hong & Lindberg, 2007) ดังนั้นการใช้อาหารหมักเหลวที่เหมาะสม สามารถส่งเสริมสุขภาพทางเดินอาหารของสุกร จากจุลินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะ LAB ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ความเป็นกรดที่เกิดจากกรดแลคติกที่จุลินทรีย์สังเคราะห์จากการเปลี่ยนอาหารคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจัดได้ว่าเป็นกรดอินทรีย์ เป็นตัวช่วยกระตุ้นความอยากอาหาร ทำให้ความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้น ช่วยให้การย่อยสารอาหารต่างๆ ได้ดีขึ้น สุขภาพดี ลดการใช้ยาในฟาร์มได้ และไม่ต้องกังวลกับการตกค้างของยาในเนื้อสุกร ที่จะส่งผลไม่ดีต่อผู้บริโภคได้ เพราะอาหารหมักเหลวไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารได้ ซึ่งเป็นการช่วยให้ผู้เลี้ยงสุกรรายเล็ก รายย่อย สามารถลดต้นทุนการผลิตได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์การศึกษานี้ คือ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตอาหารสุกรหมักเหลวในห้องปฏิบัติการ และประยุกต์อาหารหมักเหลวไปทดลองเลี้ยงสุกรระยะขุนเพื่อประเมินประสิทธิภาพการผลิตของสุกร (น้ำหนัก 80-100 กิโลกรัม)

## วิธีการศึกษา

**การทดลองที่ 1** ศึกษาสภาวะการหมักอาหารสุกรระยะขุนที่ไม่ได้มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ใดลงไป เป็นเชื้อจากสภาพธรรมชาติที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการโดยใช้วัตถุดิบข้าวโพด กากถั่วเหลืองเป็นหลัก มีโปรตีน 12 % และพลังงานรวม 3,200 kcal kg<sup>-1</sup> ผสมอาหารต่อน้ำในอัตราส่วน 1:2, 1:2.5 และ 1:3 โดยน้ำหนัก หมักในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิห้องชนิดละ 12 ถึง 16 ชั่วโมง ตัวอย่างอาหาร ซึ่งผ่านการหมักที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ตามแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) เลือกสภาวะการหมักที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากปริมาณ *Enterobacteriaceae* ที่ต่ำสุด ซึ่งควรต่ำกว่า 4 log CFUg<sup>-1</sup> ปริมาณ LAB ที่ดีที่สุดคือมากกว่า 9 log CFUg<sup>-1</sup> ค่า pH ควรน้อยกว่า 4.5 และปริมาณกรดแลคติกต้องมากกว่า 150 mmol L<sup>-1</sup> (Van Winsen et al., 2001) เพื่อนำอาหารหมักเหลว (Fermented Liquid Feed; FLF) ที่ได้ ไปทดสอบเลี้ยงสุกรในการทดลองที่ 3 และ 4 ต่อไป ศึกษาทดลองตั้งแต่กรกฎาคม - สิงหาคม 2555 ณ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร วิเคราะห์สถิติโดยใช้ SPSS (Ver. 15 for windows, SPSS Inc. Chicago. IL, USA).

**การทดลองที่ 2** การศึกษาประชากรแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารหมักเหลว โดยนำตัวอย่าง FLF ที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ซึ่งมีคุณสมบัติตามเกณฑ์ที่ระบุไว้ คือ (1) ปริมาณ Lactic acid bacteria มากกว่า 9 log CFUg<sup>-1</sup>, (2) ปริมาณ *Enterobacteriaceae* ต่ำกว่า 4 log CFUg<sup>-1</sup> (3) มี pH น้อยกว่า 4.5 และ (4) มีปริมาณกรดแลคติกมากกว่า 150 mmol L<sup>-1</sup> โดยเลือกมาเพียง 1 ชนิด เริ่มต้นจากนำตัวอย่าง FLF ที่คัดเลือกแล้วมาสกัดดีเอ็นเอ แล้วนำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มจำนวน



และตรวจสอบชนิดของ Lactic acid bacteria ด้วยเทคนิค PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ตามวิธีการของ Muyzer, Waal, and Uitterlinden (1993) โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่ง 16S rDNA ของ Lactic acid bacteria ซึ่งจะได้ผลผลิตดีเอ็นเอ (PCR products) ที่มีขนาดประมาณ 1400 bp จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้มาเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ในการทำ PCR อีกครั้งโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีการเชื่อมต่อกับ GC-clamp ซึ่งจะให้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาดสั้นลงเหลือประมาณ 200 bp หรือขึ้นอยู่กับไพรเมอร์ที่เราเลือกใช้ ผลผลิต PCR ที่ได้นี้จะใช้เป็นตัวอย่างในการจำแนกชนิดของ Lactic acid bacteria ด้วยเทคนิค DGGE โดยใช้ DGGE unit (V20-HCDC; Scie-Plas limited, UK) ซึ่ง DGGE gel เตรียมด้วย polyacrylamide gel ความเข้มข้น 8 % และใช้ denaturing gradient (Urea และ Formamid) ในช่วง 30-60 % แยกโดยใช้ความต่างศักย์ 70 โวลต์ เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ใน 0.5 X TAE buffer อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา นำแผ่น polyacrylamide gel ที่ได้มาย้อมด้วยสี SYBR Gold เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปถ่ายรูปโดยเครื่อง Gel documentation (Gel Doc™ XR system) และทำการตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจนำมาทำ PCR อีกครั้ง เพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing) นำลำดับดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลพันธุกรรมออนไลน์ (GenBank) เพื่อระบุชนิดเชื้อจุลินทรีย์

**การทดลองที่ 3** การทดสอบเพื่อหาปริมาณ FLF ที่เหมาะสมในสุกรระยะขุน แบ่งกลุ่มทดลองเป็น 3 กลุ่มคือสุกรที่ได้รับอาหารชั้นแบบแห้ง (Dry Feed; DF) ผสม FLF ในระดับ 20, 30 และ 40 % ตามลำดับ โดยให้อาหารแบบจำกัด 2.5 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน (as fed basis) ทดสอบในสุกรลูกผสม ดุรอด x (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) ที่น้ำหนักเริ่มต้น 80 กิโลกรัม จำนวน 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว มีเพศผู้ตัวและเพศเมียจำนวนเท่าๆ กันทุกกลุ่ม ตามแผนการทดลอง CRD เลี้ยงในคอกขังเดี่ยวจนน้ำหนัก 100 กิโลกรัม สุกรจะได้รับอาหารตามแผนการให้อาหารข้างต้น โดยมีน้ำให้กินตลอดเวลา บันทึกน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นและน้ำหนัก

สุดท้ายของการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่สุกรกินแต่ละวัน เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการผลิตต่างๆ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ด้วยโปรแกรม SPSS (Ver. 15 for windows, SPSS Inc. Chicago. IL, USA).

**การทดลองที่ 4** การทดสอบ FLF ได้จากการทดลองที่ 1 ในสุกรระยะขุน โดยเลือก FLF ซึ่งมีคุณภาพที่ดีที่สุดทางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพต่อสุกร นำมาทดสอบเลี้ยงในสุกรระยะขุนลูกผสม ดุรอด x (แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) น้ำหนักเริ่มต้น 80 กิโลกรัม จำนวน 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว มีเพศผู้ตัวและเพศเมียจำนวนเท่าๆ กันทุกกลุ่ม ตามแผนการทดลอง CRD คือกลุ่มควบคุม สุกรได้รับอาหารชั้น DF กลุ่มที่ 2 สุกรได้รับ FLF 50 % ผสมกับ DF 50 % และกลุ่มที่ 3 สุกรได้รับอาหารชั้นที่ผสมน้ำหรือ LF โดยใช้อัตราส่วนของอาหารต่อน้ำ ในอัตราส่วนเดียวกับ FLF โดยผสมน้ำแล้วใช้เลี้ยงสุกรทันที ให้สุกรกินอาหารแบบเต็มที่มีน้ำให้กินตลอดเวลา บันทึกน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นและน้ำหนักสุดท้ายของการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่สุกรกินแต่ละวัน เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการผลิตต่างๆ วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ด้วยโปรแกรม SPSS (Ver. 15 for windows, SPSS Inc. Chicago. IL, USA).

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

**ผลการทดลองที่ 1** ดังแสดงใน Fig. 1 และ 2 พบว่าอัตราส่วนอาหารต่อน้ำที่เหมาะสม คือ 1:2.5 ระยะเวลาการหมักที่ 48 หรือ 72 ชั่วโมง นอกจากมีค่า pH ที่ยอมรับได้แล้ว ปริมาณ Enterobacteriaceae อยู่ในระดับที่ปลอดภัย คุณค่าทางโภชนาการไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก เนื่องจากเมื่ออาหารสัตว์ถูกแช่ในน้ำในช่วงระยะเวลาหนึ่ง แบคทีเรียแลคติกและยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในวัตถุดิบอาหารสัตว์ก็จะขยายเพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมได้ผลผลิตหลักคือกรดแลคติก กรดอะซิติก เอทานอล ทำให้ส่วนผสมมี pH ลดต่ำลง ซึ่งการลดต่ำลงของ pH เนื่องมาจากการเพิ่มของกรดแลคติก เป็นสิ่งที่ต้องการสำหรับอาหารหมัก เพื่อ



เป็นการป้องกันจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย หรือเชื้อโรคที่มากับอาหาร (Nout, Rombouts, & Havelaar, 1989; Russel & Diez-Gonzales, 1998; Van Winsen et al., 2001) ถ้าอุณหภูมิในถังหมักประมาณ 20 °C แช่อาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมง และนำอาหารที่แช่น้ำไว้ 50 % ผสมกับอาหารชั้นเพื่อให้มี pH ต่ำกว่า 4.50 ซึ่งพบว่ามี coliform bacteria อยู่ในระดับต่ำ มี Lactic acid bacteria และยีสต์อยู่ในปริมาณมาก และมี

กรดแลคติกอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งถือว่าเป็นอาหารหมักคุณภาพดี (Jensen & Mikkelsen, 1998; Canibe & Jensen, 2003) แต่จากการทดลองนี้ อุณหภูมิของน้ำในถังหมักอยู่ที่ประมาณ 28-30 °C ซึ่งจะใช้เวลาหมักเพื่อให้ได้ลักษณะ FLF ที่เหมาะสมดังกล่าวเพียง 48 ชั่วโมงเท่านั้น จึงสามารถนำไปใช้ทดสอบเลี้ยงสุกรในการทดลองที่ 3 และ 4 ต่อไป

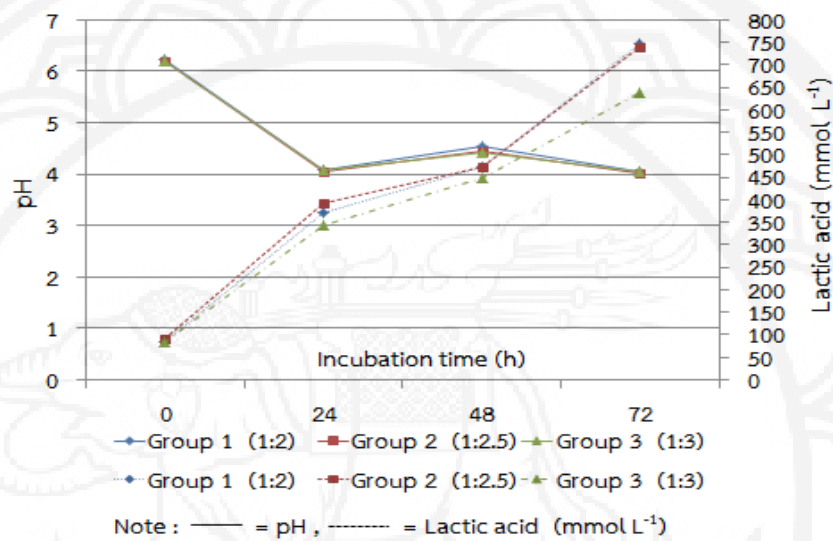


Figure 1 pH and lactic acid (mmol L<sup>-1</sup>) of FLF

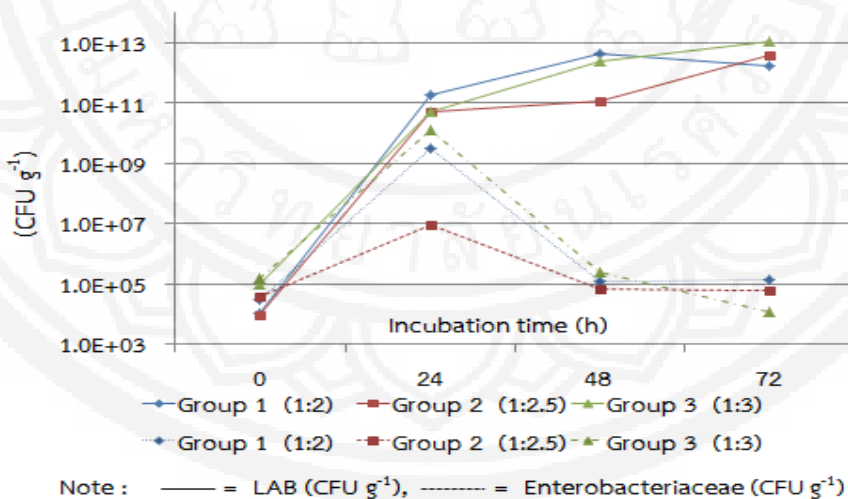


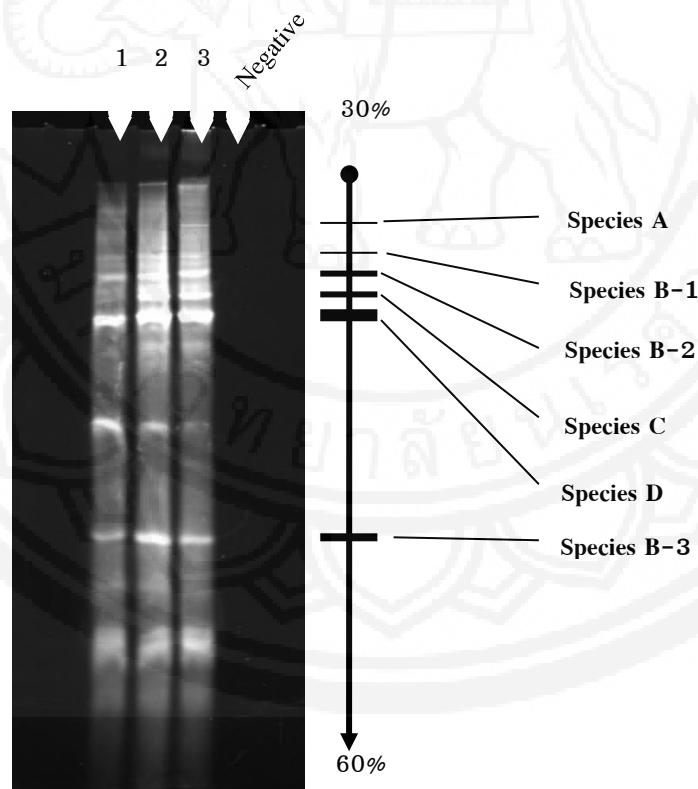
Figure 2 Lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae of FLF

ผลการทดลองที่ 2 เลือกตัวอย่าง FLF คือ อาหารชั้นหมักอัตราส่วน 1:2.5 หมักที่ 48 - 72 ชั่วโมง ไปทำการศึกษาพบว่า มีเชื้อแบคทีเรียจีส Leuconostoc ทั้งหมด 4 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc mesenteroides*,

*Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc palmae* และ *Leuconostoc lactis* ดัง Fig. 3 และ Table 1 ซึ่งจากผลการทดลองนี้ประชากรจุลินทรีย์ไม่ได้หลากหลายมาก ในระดับจีส และเชื้อที่เด่นที่สุด คือ *Leuconostoc lactis*

ซึ่งมีมากใน FLF *Leuconostoc* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) เป็นสกุล (genus) ของแบคทีเรียในวงศ์ (family) Streptococcaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับ Streptococcus และ Pediococcus รูปร่างเป็นทรงกลม (coccus) หรือรูปไข่โดยจะต่อกันเป็นสายหรือเป็นคู่ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม lactic acid bacteria ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) แล็กโทส (lactose) ทำให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid fermentation) แบบ homofermentation คือเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ (non spore forming bacteria) มักจะไม่เคลื่อนที่ ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตได้เดกซ์แทรน (dextran) ซึ่งทำให้เกิดเมือก (slime) ทั้งนี้จะเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีน้ำตาลสูง (osmophilic bacteria) สามารถพบแบคทีเรีย *Leuconostoc* ในน้ำลาย ลำไส้ และอุจจาระของมนุษย์ และสัตว์ ผัก ผลไม้ และอาหารสัตว์ ซึ่งสามารถนำมาใช้

ในการหมักอาหารซึ่งเป็นการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติก รวมทั้งเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการดองผัก เช่น ชาวเคราต์ ผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์นม และเนื้อสัตว์ ทั้งนี้ *Leuconostoc mesenteroides* จะก่อให้เกิดเมือกในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2558) นอกจากนี้ *Leuconostoc* ยังเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิด D (-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง การเจริญต้องการสารอาหารสูง ปัจจุบันประกอบด้วย 8 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc argentinum* และ *Leuconostoc Fallax* (Stiles & Holzapfel, 1997)



**Figure 3** DGGE analysis of bacteria were performed with 30 – 60% from FLF, at 1, 2 and 3 is example FLF (feed and water mixed in the ratio of 1:2.5 (w/w) for 48–72 hours of incubation)  
A: *Leuconostoc mesenteroides*, B-1: *Leuconostoc citreum*, B-2: *Leuconostoc citreum*,  
C: *Leuconostoc palmae*, D: *Leuconostoc lactis* and B-3: *Leuconostoc citreum* in Table 1



จากการทดลองนี้สามารถยืนยันได้ว่าใน FLF มีเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติก จึงสามารถนำ FLF นี้ไปเลี้ยงสุกรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้ดีขึ้นได้ เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกจะช่วยทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์สมดุล และยังช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ เช่น เชื้อ *E.coli* และ *Salmonella spp.* สอดคล้องกับรายงานของ เสมอใจ บุรินอก, โกรสิทธิ์ วสุเพ็ญ, เกศรา อำพาภรณ์ และเบญญา แสนมหาชัย (2557) พบว่าการเสริมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารไก่เนื้อ จะช่วยลดจำนวนเชื้อ *E.coli* ในมูลไก่ลงในช่วงแรกของการเจริญเติบโต และมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในลำไส้เล็ก สูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญ จะเห็นได้ว่าการเสริมแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารสัตว์ เพื่อเป็นสารโพรไบโอติกสามารถทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์ได้

**ผลการทดลองที่ 3** ผลการทดลองในสุกรระยะขุน (นน.ตัว 80-100 กก.) ใน Table 2 พบว่าการใช้อาหารหมักเหลวที่เพิ่มขึ้นจาก 20% เป็น 40% ส่งผลต่อจำนวนวันที่ใช้เลี้ยงนานขึ้น ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสุกร ( $P \geq 0.05$ ) โดยเมื่อใช้อาหารหมักที่ 40% ทำให้การกินได้ลดลง ( $P < 0.05$ ) สอดคล้องกับการรายงานของ Canibe & Jensen (2003) ซึ่งพบว่าอาหารหมักเหลวทำให้ความนำกินของอาหารลดลงอันเนื่องมาจากความเปรี้ยวหรือความเป็นกรด ทำให้การกินได้ของสุกรลดลง แต่อัตราแลกน้ำหนัก และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกัน ( $P \geq 0.05$ ) และการใช้อาหารหมัก 40% ให้ผลด้านต้นทุนค่าอาหารไม่แตกต่างจากสุกรที่ได้รับอาหารหมัก 20% ( $P \geq 0.05$ ) แสดงว่าสุกรขุนหรือระยะน้ำหนักร้อยตัว 80-100 กิโลกรัม สามารถผสมอาหารหมักเหลวร่วมกับอาหารชั้นได้ถึง 40%

**Table 1** Percent similarity of 16S rRNA sequences of DGGE band from fermented liquid feed (FLF)

| Species | Genus and species                | % Similarity | Gen bank accession no. |
|---------|----------------------------------|--------------|------------------------|
| A       | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | 90           | NR118557.1             |
| B-1     | <i>Leuconostoc citreum</i>       | 90           | NR074694.1             |
| B-2     | <i>Leuconostoc citreum</i>       | 94           | NR074694.1             |
| C       | <i>Leuconostoc palmae</i>        | 91           | NR042695.1             |
| D       | <i>Leuconostoc lactis</i>        | 98           | NR113255.1             |
| B-3     | <i>Leuconostoc citreum</i>       | 95           | NR074694.1             |

**Table 2** Production efficiency of finishing pigs fed with fermented liquid feed (FLF) mixture at different inclusion levels

| Items                                     | FLF inclusion (%)  |                    |                    | SEM  | P-value |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------|
|   | 20                 | 30                 | 40                 |      |         |
| Number of pigs                            | 10                 | 10                 | 10                 | -    | -       |
| Initial weight (Kg.)                      | 80.20              | 80.10              | 80.20              | 0.46 | 0.66    |
| Final weight (Kg.)                        | 100.80             | 100.70             | 100.50             | 0.21 | 0.89    |
| Weight gain (Kg.)                         | 20.60              | 20.60              | 20.30              | 0.50 | 0.05    |
| Experimental period (d)                   | 35.15 <sup>c</sup> | 38.40 <sup>b</sup> | 40.50 <sup>a</sup> | 0.87 | 0.001   |
| Average daily gain (Kg. d <sup>-1</sup> ) | 0.59               | 0.54               | 0.50               | 0.19 | 0.26    |



Table 2 (Cont.)

| Items   | FLF inclusion (%)  |                    |                    | SEM  | P-value |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------|
|   | 20                 | 30                 | 40                 |      |         |
| Total feed intake (Kg. pig <sup>-1</sup> )*                         | 86.82 <sup>b</sup> | 88.75 <sup>a</sup> | 85.30 <sup>b</sup> | 1.04 | 0.02    |
| Average daily feed intake (Kg. Pig <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )* | 2.47 <sup>a</sup>  | 2.31 <sup>a</sup>  | 2.11 <sup>b</sup>  | 0.29 | 0.01    |
| Feed conversion ratio (feed : gain)                                 | 4.21               | 4.31               | 4.20               | 0.35 | 0.87    |
| Feed efficiency (gain : feed)                                       | 0.24               | 0.23               | 0.24               | 1.36 | 0.42    |
| Feed cost (Baht kg. <sup>-1</sup> of weight gain)**                 | 50.52 <sup>b</sup> | 51.72 <sup>a</sup> | 50.40 <sup>b</sup> | 0.43 | 0.03    |

<sup>a,b,c</sup> different letters in the same line indicates statistical significant difference ( $P < 0.05$ )

\* Air dry basis; \*\* Feed cost 12.00 baht per kilogram of diet.

**ผลการทดลองที่ 4** พบว่าประสิทธิภาพการผลิตของสุกรระยะขุน ที่กินอาหารทั้ง 3 กลุ่มทดลอง มีจำนวนวันทดลองเพื่อให้สุกรน้ำหนักเพิ่มจาก 80 ถึง 100 กิโลกรัมของสุกรที่ได้รับอาหารหมัก 50% ใช้เวลาในการเลี้ยงน้อยกว่าและอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารชั้น ( $P < 0.05$ ) โดยสุกรกลุ่มที่กินอาหารหมัก และอาหารเหลวปริมาณอาหารที่กินรวมน้อยกว่า ( $P < 0.05$ ) กลุ่มที่กินอาหารชั้น จึงทำให้อัตราแลกน้ำหนักน้อยกว่า ( $P < 0.05$ ) สุกรกลุ่มที่กินอาหารชั้น ส่งผลให้มีต้นทุนค่าอาหารที่ถูกกว่า ( $P < 0.05$ ) สุกรกลุ่มที่กินอาหารชั้น เช่นเดียวกับรายงานของ Nguyen, Manh, and Ogle (2005) แนะนำให้หมักอาหารประเภทแป้งก่อนนำไปผสมในอาหารสุกร ซึ่งอาหารหมักเหลวจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของสุกรได้ ในสภาวะ

ของสิ่งแวดล้อมที่อุณหภูมิสูง เช่น ในเขตร้อน การผสมอาหารให้อยู่ในสภาพอาหารเหลวเพียงอย่างเดียว อาจมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน Salmonella (Van der Wolf et al., 1999) ดังนั้นจึงแนะนำให้หมักอาหารในกลุ่มแป้งก่อนให้สุกรกินในรูปอาหารหมักเหลว (Canibe & Jensen, 2003) นอกจากนี้ Canibe, Hojberg, Badsberg, and Jensen (2007) พบว่าสุกรที่กินอาหารธัญพืชหมักผสมในอาหารชั้นลูกสุกรมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าอาหารหมักเหลว ซึ่งการหมักเฉพาะอาหารธัญพืชก่อนผสมอาหารโปรตีนให้สุกรกิน เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงรูปของกรดอะมิโนอิสระโดยจุลินทรีย์ในอาหารโปรตีน แต่การใช้อาหารหมักเหลวที่มีผลต่อความน่ากินของอาหาร ซึ่งต้องหาแนวทางในการปรับปรุงทางด้านนี้ต่อไป

Table 3 Productive performances of finishing pigs (80–100 Kg.BW)

| Items                   | Diet               |                    |                    | SEM  | P-value |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------|
|                         | DF                 | 50%FLF             | LF                 |      |         |
| Number of pigs          | 10                 | 10                 | 10                 | -    | -       |
| Initial weight (Kg.)    | 80.00              | 80.18              | 80.30              | 0.78 | 0.87    |
| Final weight (Kg.)      | 100.44             | 100.73             | 100.30             | 0.81 | 0.70    |
| Weight gain (Kg.)       | 20.44              | 20.55              | 20.00              | 0.15 | 0.44    |
| Experimental period (d) | 30.11 <sup>a</sup> | 26.20 <sup>b</sup> | 25.40 <sup>b</sup> | 0.88 | 0.03    |



Table 3 (Cont.)

| Items   | Diet               |                    |                    | SEM  | P-value |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------|
|   | DF                 | 50%FLF             | LF                 |      |         |
| Average daily gain (Kg. d <sup>-1</sup> )                           | 0.68 <sup>b</sup>  | 0.78 <sup>a</sup>  | 0.79 <sup>a</sup>  | 0.24 | 0.02    |
| Total feed intake (Kg. pig <sup>-1</sup> )*                         | 84.91 <sup>a</sup> | 75.57 <sup>b</sup> | 74.30 <sup>b</sup> | 0.90 | 0.01    |
| Average daily feed intake (Kg. Pig <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )* | 2.82               | 2.88               | 2.93               | 0.52 | 0.38    |
| Feed conversion ratio (feed : gain)                                 | 4.15 <sup>a</sup>  | 3.68 <sup>b</sup>  | 3.72 <sup>b</sup>  | 0.71 | 0.05    |
| Feed efficiency (gain : feed)                                       | 0.24 <sup>b</sup>  | 0.27 <sup>a</sup>  | 0.27 <sup>a</sup>  | 0.36 | 0.03    |
| Feed cost (Baht kg. <sup>-1</sup> of weight gain)**                 | 49.84 <sup>a</sup> | 44.13 <sup>b</sup> | 44.58 <sup>b</sup> | 0.83 | 0.01    |

<sup>a,b</sup> different letters in the same line indicates statistical significant difference ( $P < 0.05$ )

\* Air dry basis; \*\* Feed cost 12.00 baht per kilogram of diet.

DF: Dry feed, FLF: Fermented liquid feed, LF: Liquid feed

### สรุป

สภาวะการหมักเหลวที่เหมาะสมของอาหารสุกรระยะขุนคืออัตราส่วนอาหารต่อน้ำ 1:2.5 (w/w) ระยะเวลาการหมักที่ 48 หรือ 72 ชั่วโมง สามารถใช้อาหารหมักเหลวผสมในอาหารชั้นในสุกรระยะขุนได้ถึง 40% เมื่อให้อาหารแบบจำกัด และสามารถใช้ได้ถึง 50 % เมื่อให้อาหารแบบเต็มที่มี โดยอาหารหมักเหลว มีเชื้อแบคทีเรียจีโนส *Leuconostoc* ทั้งหมด 4 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc palmae* และ *Leuconostoc lactis* และยังพบว่า *Leuconostoc lactis* เป็นเชื้อที่เด่นที่สุด

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2558). *Leuconostoc*/ลิวโคโนสตอก. สืบค้นจาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1985/leuconostoc> [1]
- เสมอใจ บุรีนอก, ไกรสิทธิ์ วสุเพ็ญ, เกศรา อำพากรณ์ และเบญญา แสนมหายักษ์. (2557). ผลของการใช้แบคทีเรียแลคติกในน้ำพีชหมักเป็นสารโปรไบโอติกต่อจุลินทรีย์ในไก่เนื้อ. *แก่นเกษตร*, 42(พิเศษ 1), 267-272. [2]
- Canibe, J., & Jensen, B. B. (2003). Fermented and nonfermented liquid feed to growing pigs: Effects on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance. *Journal of Animal Science*, 81, 2019-2031.
- Canibe, N., Hojberg, O., Badsberg, J. H., & Jensen, B. B. (2007). Effect of feeding fermented liquid feed and fermented grain on gastrointestinal ecology and growth performance in piglets. *Journal of Animal Science*, 85, 2959-2771.





- Hong, T. T. T., & Lindberg, J. E. (2007). Effect of cooking and fermentation of a pig diet on gut environment and digestibility in growing pig. *Livestock Science*, *109*, 135-137.
- Jensen, B. B., & Mikkelsen, L. L. (1998). Feeding liquid to pigs. In Gansworthy P. C., & Wiseman, J. (Eds). *Recent Developments in Pig Nutrition-3* (pp. 107-126). UK: Nottingham University Press.
- Muyzer, G., De Waal, E. C., & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, *59*, 695-700.
- Nguyen, N. X. D., Manh, L. H., & Ogle, B. (2005). Effects of fermented liquid feed on the performance, digestibility, nitrogen retention and plasma urea nitrogen (PUN) of growing-finishing pigs. *Livestock Research for Rural Development*, *17*(9), 1-8.
- Nout, M. J. R., Rombouts, F. M., & Havelaar, A. (1989). Effect of accelerated natural lactic fermentation of infant food ingredients on some pathogenic microorganisms. *International Food Microbiology*, *8*, 351-361
- Pederson, C., & Lindberg J. E. (2003). Effect of fermentation in a liquid diet on nitrogen metabolism in growing pigs. Progress in research on energy and protein metabolism. *International Symposium, Rostock-Warnemünde, Germany, 13-18 September, 2003*, 641-644.
- Russel, J. B., & Diez-Gonzales, F. (1998). The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Advances in Microbial Physiology*, *39*, 205-234.
- Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Food Microbiology*, *36*, 1-29.
- Van der Wolf, P., Bongers, J. H., Elbers, A. R. W., Franssen, F. M. M. C., Hunneman, W. A., van Exsel, M. J. M., & Tielen, M. J. M. (1999). Salmonella infections in finishing pigs in the Netherlands: Bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. *Veterinary Microbiology*, *67*, 263-275.
- Van Winsen, R. L., Urlings, B. A. P. Lipman, L. J. A. Snijders, J. M. A. Keuzenkamp, D. Verheijden, J. H. M., & van Knapen, F. (2001). Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(7), 3071-3076.

#### Translated Thai Reference

- Bureenok, S., Vasupen, K., Ampaporn, K., & Seanmhayak, B. (2014). Effect of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria probiotics on microflora in broiler chickens. *KHON KAEN AGR. J.*, *42*(SUPPL 1), 267-272. [In Thai] [2]
- Pornchaloempong, P. (2015). Leuconostoc. Retrieved from <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1985/leuconostoc> [In Thai] [1]