การเสริมก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) เหลือทิ้งในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้แบบปรากฏของโภชนะ จุลินทรีย์ในซีกัม จุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก สมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่แดง

Effects of Spent Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Substrates (SOMS) Supplementation in Laying Hens Diets on Apparent Nutrient Digestibility, Cecal Microbiota, Small Intestinal Histomorphology, Productive Performance, Egg Quality and Fatty Acid Composition of Yolk

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี[1*], วรางคณา กิจพิพิธ[1], ชนะชัย วงษ์เพ็ชร[1]
ชยาทิตย์ กฤตโยภาส[1], พิทยุตม์ ลือวณิชกิจ[1], อณัญญา ปานทอง[2]
Manatsanun Nopparatmaitree[1*], Warangkana Kitpipit[1], Chanachai Wongphetch[1],
Chayatid Kridtayopas[1], Pittayut Luewanidchakid[1], Anunya Panthong[2]
Received : 22 May 2018 ; Accepted : 8 August 2018

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเสริมก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีเหลือทิ้ง (spent oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) substrates: SOMS) ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิต การย่อยได้ปรากฏของโภชนะ จุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก และคุณภาพผลผลิต โดยใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Hisex Brown® จำนวน 480 ตัว อายุ 30 สัปดาห์ ทำการเลี้ยงในโรงเรือนเปิดภายใต้สภาพแวดล้อมตามธรรมชาติและวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 6 ทรีทเมนต์ 4 ซ้ำ คือ อาหารไก่ไข่ที่มีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐานและเสริมที่ระดับ 0 (ควบคุม), 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม ไก่ไข่ทั้งหมดได้รับอาหารที่มีค่าโภชนะโปรตีนหยาบเท่ากับ 18 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 2,850 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมตามคำแนะนำของ NRC (1994) การทดลองนี้ใช้เวลาทดลองทั้งหมด 3 ช่วง ช่วงละ 28 วัน โดยจำกัดปริมาณการให้อาหารประมาณ 110 กรัมต่อตัวต่อวันและให้น้ำสะอาดแบบเต็มที่ ผลการทดลอง พบว่า การเสริม SOMS ที่ระดับ 0-30 กรัมต่อกิโลกรัมไม่ส่งผลต่อการย่อยได้ปรากฏของวัตถุแห้งและพลังงานรวม (P<0.05) อีกทั้งการเสริม SOMS ในอาหารสามารถเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid และ *Enterococcus* sp. (P<0.05) และ ลดจำนวนของจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. และ *Escherichia coli* ในไส้ตัน (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การเสริม SOMS ในอาหารช่วยเพิ่มความสูงของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม และเพิ่มความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูนของของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัม รวมถึงเพิ่มพื้นที่ผิวของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมและไอเลียม (P<0.05) หากแต่การเสริม SOMS ที่ระดับ 0-10 กรัมต่อกิโลกรัมไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่เฉลี่ย ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และต้นทุนการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม (P>0.05) นอกจากนี้ยัง พบว่า การเสริม SOMS ทุกระดับในอาหารไก่ไข่ยังสามารถผลิตไข่ไก่ที่มีคอเลสเตอรอลต่ำ (P<0.05) ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค จากการทดลองนี้สรุปได้ว่าสามารถใช้ SOMS ในอาหารไก่ไข่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม เพื่อเพิ่มความสูงวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมอีกทั้งยังเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ และการลดคอเลสเตอรอลในไข่แดง

คำสำคัญ: ก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้ง เห็ดนางรม พรีไบโอติกส์ อาหาร และไก่ไข่

---

[1] *คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี ต. สามพระยา อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี*
[2] *คณะสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรี ต. สามพระยา อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี*
[1] *Faculty of Animal Science and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi IT Campus, Sam Phraya, Cha-Am, Phetchaburi, 76120. Thailand.*
[2] *Faculty of Animal Science, Petchaburi Collage of Agricultural and Technology, Sam Phraya, Cha-Am, Phetchaburi.*
** E-mail: Nopparatmaitree_m@silpakorn.edu*

Abstract

This study was conducted to examine supplementation of (spent oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) substrates: SOMS) in laying hen diets on productive performance, apparent digestibility, intestinal histomorphology, microbiota, and yield quality. Four hundred and eighty laying hens (Hisex Brown®), 30 weeks of age, were raised under ambient temperature and assigned in a completely randomized design (CRD) with six dietary treatments and four replications per treatment. Dietary treatments were, corn-soy basal diet supplemented with 0 (control), 10, 20, 30, 40 และ 50 g/kg of SOMS respectively. All birds were fed with laying hen diets containing 18% of crude protein and 2,850 kcal/kg (ME) to meet nutrient requirements of poultry according to NRC (1994). Diets were restricted (110 g/h/d) throughout the study in 3 periods (28 day per period) and drinking water was offered *ad libitum* to the birds. The results showed that SOMS supplementation at 0-30 g/kg not significantly affect the apparent digestibility of dry matter, and gross energy (P<0.05). Supplementation of SOMS increased Lactic acid *and Enterococcus* sp. (P<0.05) and decreased *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* in cecum different to control group (P<0.05). In addition, SOMS supplementation increased villous height in duodenum, cryptal depth in duodenum and jejunum, and villous surface area in jejunum and ileum (P<0.05). However, SOMS supplementation at 0-10 g/kg not significantly affect the average egg weight, FCR, and feed cost per 1 kg of egg (P<0.05). Furthermore, All level of SOMS Supplementation in layer hen diets may be a feasible means of producing eggs with lower cholesterol contents (P<0.05) for health conscious consumers. In conclusion, the result of the present study showed that supplemented 10 g/kg of SOMS can be used and has the potential as feedstuff enhancing intestinal histomorphology, microbiology of laying hens and decrease cholesterol level in yolk.

Keywords: Spent mushroom substrates, Oyster mushroom, Prebiotic, Laying hens, and Diets

บทนำ

เห็ดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณค่าทางยาและเชื้อราบางชนิดถูกนำใช้ในทางการแพทย์ในแถบเอเชียและเมดิเตอร์เรเนียน[1] ซึ่งเห็ดมีกิจกรรมหลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพ[2] เนื่องจากเห็ดและสารสกัดจากเห็ดมีสารออกฤทธิ์สำคัญที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระต้านเชื้อแบคทีเรียภูมิคุ้มกันและลดความเครียดในสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม[3,4] ทั้งนี้มีรายงานถึงการใช้เห็ดและสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆทดแทนในการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ[5] การกระตุ้นปริมาณการกินได้ และส่งเสริมให้สัตว์มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น โดยเห็ดหลายชนิดถูกนำมาใช้ในอาหารสัตว์ เช่น เห็ดเข็มทอง เห็ดแชมปิญองและเห็ดถั่วเฉา เป็นต้น[6] เนื่องจากโครงสร้างเห็ดประกอบด้วยเยื่อใยอาหารที่ละลายได้ในน้ำ (soluble dietary fiber) คือ non starch glycan ประมาณ 442-901 กรัมต่อกิโลกรัม และกลูแคนในรูปแบบอื่น เช่น ไคติน และกาแลคโตแมนแนน เป็นต้น[7] ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวจัดเป็นพรีไบโอติกส์ที่มีคุณสมบัติ คือ เอนไซม์ในลำไส้เล็กไม่สามารถย่อยได้[8] ส่งผลให้สัตว์ไม่สามารถย่อยได้บริเวณลำไส้เล็กตอนบน[9] หากแต่สามารถใช้ประโยชน์ได้โดยแบคทีเรีย บางชนิด เช่น *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* เป็นต้น ในการเลือกกระตุ้นการเจริญเติบโต[10] และการทำงานของแบคทีเรียบางชนิดในท่อทางเดินอาหาร ที่เรียกว่า bifidogenic factor กล่าวคือ ไบฟิโดแบคทีเรียและแบคทีเรีย กรดแลคติกชนิดอื่นสามารถ competitive exclusion กับจุลินทรีย์ก่อโรคและการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (antimicrobial)[1,5,11] และไวรัส (antiviral) อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และลดความเครียด[2] ช่วยลดปริมาณคอเลสตอรอล[12] ทั้งนี้จังหวัดเพชรบุรีมีการเพาะเห็ดเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น เห็ดนางรม เห็ดหูหนู และเห็ดฟาง เป็นต้น โดยภายหลังการเพาะเห็ด พบว่า มีเศษก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้งจำนวนมาก ซึ่งเศษก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้งประกอบด้วยลิกโนเซลลูโลสิก (linocellulosic material) ที่มีคุณสมบัติเป็นเยื่อใยที่ไม่ละลายในน้ำ (insoluble dietary fiber)[13] ที่สามารถช่วยในการพัฒนาท่อทางเดินอาหาร การนำใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการย่อยได้ของสัตว์ปีก การพัฒนากระเพาะบด การผลิตเอมไซม์ และ การพัฒนาสมรรถภาพการผลิต นอกจากนี้เศษก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้งยังมีส่วนประกอบของเชื้อจุลินทรีย์ และ extra cellular enzymes[14] นอกจากนี้จากยังพบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และไซแลนเนส รวมถึงยังพบไฮฟาและเศษเห็ดบางส่วน[15] จากคุณสมบัติโดดเด่นของก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้ง คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำ SOMS มาประยุกต์ใช้ในอาหารไก่ไข่เพื่อพัฒนาการเลี้ยงไก่ไข่ให้มีประสิทธิภาพ

และต้นทุนต่ำ รวมถึงแก้ปัญหาเศษเหลือทิ้งของพื้นที่ และเป็นแนวทางพัฒนาศักยภาพการใช้ฐานทรัพยากรของพื้นที่เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจ การทดลองครั้งนี้เป็นงานลำดับต้นๆ ของประเทศมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้แบบปรากฏของโภชนะ จุลินทรีย์ในซีกัม จุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ และองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่แดง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การออกแบบการทดลอง อาหาร และสัตว์ทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้ SOMS ของศูนย์การเรียนรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเห็ด บ้านสามเรือน อำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรี ที่ประกอบด้วย วัตถุแห้ง 96.32% อินทรียวัตถุ 73.24% โปรตีนหยาบ 1.56% ไขมันรวม 1.62% เยื่อใยหยาบ 22.11% และ พลังงานรวม 2,549.12 kcal/kg ทั้งนี้ การทดลองครั้งนี้ใช้ไก่ไข่ Hisex Brown® อายุประมาณ 30 สัปดาห์ จำนวน 480 ตัว ที่เลี้ยงบนกรงตับ (battery cage) ภายใต้การจัดการและแสงธรรมชาติในโรงเรือนแบบเปิดสุ่มเข้าสู่แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) มีทั้งหมด 6 ทรีทเมนต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ รวม 24 หน่วยทดลอง (n=20) ดังนี้ ทรีทเมนต์ที่ 1 คือ อาหารควบคุม ทรีทเมนต์ที่ 2, 3, 4, 5, และ 6 คือ อาหารเสริม SOMS ระดับ 10, 20, 30, 40, และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม การทดลองนี้ใช้อาหารไก่ไข่ระยะให้ไข่ที่มีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐานมีโปรตีนหยาบ 18 % และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 2,850 kcal/kg ตามคำแนะนำของ NRC (1994)[16]

Table 1 Nutritive value of experimental diets (from chemical analysis)

Nutritive value	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)					
	0	10	20	30	40	50
Dry matter (%)	92.13	92.53	92.24	92.19	92.27	92.15
Crude protein (%)	18.25	18.14	18.06	18.12	18.13	18.21
Ether extract (%)	2.07	2.15	2.13	2.24	2.14	2.05
Crude fiber (%)	4.79	6.94	7.17	7.74	8.78	7.79
Ash (%)	14.21	13.76	14.12	14.12	14.32	14.30
Calcium (%)	4.52	4.39	4.31	4.34	4.46	4.49
Total phosphorus (mg/ml)	0.84	0.79	0.84	0.93	1.04	0.84
Gross energy (kcal/kg)	3,672.98	3,640.09	3,835.93	3,847.46	3,825.45	3,661.92

2. การวัดสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

ทำการเลี้ยงไก่ไข่เพื่อวัดสมรรถภาพการผลิตโดยใช้เวลาทั้งหมด 84 วัน แบ่งเป็น 3 ช่วงๆ ละ 28 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่กิน จำนวนผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ในแต่ละวัน แล้วคำนวณหาอัตราการไข่ (hen-day production) น้ำหนักไข่เฉลี่ย (average egg weight) มวลไข่ (egg mass) {(egg mass = average egg weight x hen-day production) /100}) ตามวิธีของ Zhao *et al*. (2003)[17]; Ragab *et al*. (2012)[18] รวมทั้งคำนวณหาปริมาณการกินได้ (feed intake) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กิโลกรัม (feed conversion ratio per 1 kg of egg) (FCR = feed intake/egg mass) ตามวิธีของ Nopparatmaitree *et al.* (2014)[19]

3. การวัดคุณภาพของไข่ไก่ ปริมาณคอเลสเตอรอล และองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่ไก่

ในช่วง 5 วันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างไข่ไก่ในจำนวน 5 ฟองต่อวันในแต่ละหน่วยทดลอง เพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ คือ น้ำหนักไข่ (egg weight), ความสูงไข่ขาว (albumin height), คะแนนสีเปลือกไข่ (shell color) คะแนนสีของไข่แดง (yolk color) ด้วยพัดสีที่มีค่าคะแนน 10-15 (Hoffman-la Roche Ltd, Basal, Switzerland) รวมทั้งทำการวัดค่าความสว่าง (lightness: L*), ค่าความเป็นสีแดง (redness: a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness: b*) ของไข่ไก่ อีกทั้งทำการวัดความหนาของเปลือกไข่ (egg shell thickness) ด้วยการหาค่าเฉลี่ย 3 ด้านของเปลือกไข่ (ด้านข้าง ด้านป้าน และด้านแหลม) ด้วย micrometer (Mitumotoya, No. 044N, 0.01-5 mm) และคำนวณหาค่าHaugh unit: HU จากสูตร H.U. = 100 log (albumen height in millimeter + 7.57 x 1.7 weight of egg

in gram$^{0.37}$) ตามวิธี Laudadio and Tufarelli (2011)[20]; Uuganbayar *et al*. (2005)[21] ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างไข่แดงมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ จากนั้นทำการวัดองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่ไก่ โดยวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน (individual fatty acid content) ตามวิธีของ Lepage and Roy (1986)[32] รวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอลรวม ตามวิธีของ AOAC (2000)[23]

4. การวัดค่าการย่อยได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่

วัดค่าการย่อยได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่ภายในตัวสัตว์ (*in vivo* digestibility) ในช่วง 15 วันสุดท้ายของการทดลอง ด้วยวิธีการทดสอบการย่อยได้ปรากฏ (apparent nutrient digestibility) โดยใช้สารบ่งชี้ (indicator marker) คือ โครมิกซ์ออกไซด์ (Cr_2O_3) ตามวิธีของ Fenton and Fenton (1979)[24] ทั้งนี้การทดสอบการย่อยได้นั้นแบ่งเป็น 2 ช่วง ดังนี้ ช่วงที่ 1 คือ 10 วันแรกเป็นช่วงปรับสัตว์ (preliminary period) ไก่ไข่ได้รับอาหารผสม Cr_2O_3 ที่ระดับ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และช่วงที่ 2 คือ 5 วันสุดท้ายเป็นช่วงเก็บตัวอย่างทดลอง (collection period) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารใส่ถุงกันความชื้นและเก็บมูลของไก่ไข่ในแต่ละหน่วยทดลองลงในถุงที่มี H_2SO_4 ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการเตรียมตัวอย่างด้วยการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียสเมื่อตัวอย่างแห้งทำการบดละเอียด จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะในอาหารไก่ไข่ทดลองและมูล คือค่าวัตถุแห้ง โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใยหยาบ และพลังงานรวม ตามวิธีของ AOAC (2000)[23] รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณ Cr_2O_3 ในอาหารและมูลไก่ไข่ทดลองตามวิธีของ AOAC (2000)[23] แล้วคำนวณหาค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งรวม (apparent dry matter digestibility) หาจาก **[**{(% Cr_2O_3 ในมูล - % Cr_2O_3 ในอาหาร) x 100**}**/{% Cr_2O_3 ในมูล}] และค่าการย่อยได้ของโภชนะรวม (apparent nutrient digestibility) หาจาก 100-[100x {(% Cr_2O_3 ในอาหาร/% Cr_2O_3 ในมูล) x (% โภชนะในมูล/% โภชนะในอาหาร)}] ตามวิธีของ Sharifi *et al.* (2012)[25] และทำการคำนวณหา ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ปรากฏ (apparent metabolizable energy: AME) หาจาก AME = GE ในอาหาร-(GE ในมูล x (% Cr_2O_3 ในอาหาร/ % Cr_2O_3 ในมูล) ตามวิธีของ Jansen *et al*. (2016)[26]

5. จุลินทรีย์ในไส้ตัน

การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ในไส้ตัน (Cecum) ของไก่ไข่ เมื่อสิ้นสุดการทดลองให้อดอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมง แล้วสุ่มไก่ไข่ 4 ตัวต่อหน่วยทดลอง เพื่อฆ่าชำแหละแล้วเก็บตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน นับจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้วิธี conventional microbiology techniques โดยใช้ Selective agar media ตามวิธีของ Giannenas *et al.* (2010)[1] Lactic acid bacteria (*Lactobacillus* sp.*+ Bifidobacterium* sp.*)* ใช้ MRS agar + 0.02 เปอร์เซ็นต์ NaH_3 + 0.05 เปอร์เซ็นต์ L-Cystine hydrochloride monohydrate, *Enterococci* ใช้ m *Enterococci* agar, *E. coli* ใช้ EMB agar*, และ Salmonella* ใช้ XLD agar จำนวนของจุลินทรีย์ที่ได้จากการนับทางห้องปฏิบัติการ ต้องทำการแปลงข้อมูล (transformed) ด้วย log argralithm ฐาน 10 ก่อนที่นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ ตามวิธีการของ Abdalqader *et al*., (2013)[27]

6. จุลกายวิภาคลำไส้เล็กของไก่ไข่

การวัดจุลกายวิภาคลำไส้เล็กของของไก่ไข่เมื่อสิ้นสุดการทดลองให้อดอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมง สุ่มไก่ไข่ 4 ตัวต่อหน่วยทดลอง เพื่อฆ่าชำแหละและเก็บตัวอย่างลำไส้เล็ก 3 ส่วน คือ ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) และลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ตามวิธีของ Danshmand *et al.* (2011)[28] โดยตัดลำไส้แต่ละส่วนแล้วแช่ใน 4 เปอร์เซ็นต์ buffered formalin เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามวิธีของ Awad *et al.* (2006)[29] และเก็บรักษาตัวอย่างใน 50 เปอร์เซ็นต์ ethyl alcohol ตามวิธีของ Sharifi *et al.* (2012)[25] จากนั้นเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยทำการ serial dehydration ตัดชิ้นเนื้อหนา 5 ไมโครเมตร (จำนวน 6 ชิ้นต่อแต่ละส่วนลำไส้) ด้วย microtome และวางชิ้นเนื้อบนแผ่นสไลด์ แล้วย้อมสีด้วย hematoxylin และ eosin ตามวิธีของ Awad *et al.* (2009)[30] การวัดความสูงของวิลไล (villi) ความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูน (crypt of lieberkuhn) โดยวิเคราะห์ทั้งหมด 10 วิลไลต่อสไลด์ด้วยการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Olympus BX 50, 20 x optical magnification) ร่วมกับการวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม Image-pro plus version 3.1, Media cybernetics ตามวิธีของ Tsirtsikos *et al.* (2012)[31] ทั้งนี้ทำการวัดความสูงของวิลลัส (villous height) วัดความกว้างของวิลลัส (villous width) ความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูน (cryptal depth) แล้วคำนวณพื้นที่ผิวของวิลลัส (villus surface area) ตามวิธีของ Sakamoto *et al.* (2000)[32] โดยพื้นที่ผิวของวิลลัส = ¶ x ความกว้างของวิลลัส x ความสูงของวิลลัส

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) ด้วย general linear model (GLM) โดยใช้แบบหุ่นตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ คือ $\mathbf{Y}_{ij} = m + t_i + e_{ij}$ เมื่อ $\mathbf{Y}_{ij}$ แทน ค่าสังเกตจาก ทรีทเมนต์ที่ i = 1 ถึง 6 ที่ j เมื่อ j = 1, 2, 3, 4 โดย m คือ ค่าเฉลี่ยร่วม (common

mean) ส่วน t_i คือ อิทธิพลของทรีทเมนต์ (treatment effect) ที่ i เมื่อ i =การเสริม SOMS ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม และ e_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มข้อมูลด้วย Tukey' s studentized range test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1992)[33] และวิเคราะห์แนวโน้มของข้อมูล (trend analysis) ด้วย orthogonal polynomial โดยใช้โปรแกรม R ตามวิธี ของ R Core Team (2016)[34] กำหนดค่านัยสำคัญที่ใช้ในการทดสอบที่ $P<0.05$

ผลการทดลอง

1. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อนิเวศวิทยาจุลินทรีย์ในไส้ตันของไก่ไข่

การศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัมต่อนิเวศวิทยาจุลินทรีย์ในไส้ตัน พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ที่ระดับ 10 ถึง 50 กรัมต่อกิโลกรัม มีจำนวน Lactic acid bacteria สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.01$) ส่วนจำนวน *Enterococcus* sp. จะมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นแปรผันตรงกับระดับเสริม SOMS ในระดับที่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ส่วนไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ในระดับที่เพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 50 กรัมต่อกิโลกรัม พบว่า มีแนวโน้มการลดลงของจำนวน *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. อย่างเป็นเส้นตรง ($P<0.05$) และ ($P<0.01$) ดังแสดงใน Table 2

2. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะปรากฏของไก่ไข่

ผลการศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50กรัมต่อกิโลกรัม โดยวิธีการวิเคราะห์โดยประมาณ (Proximate analysis) และวิเคราะห์อื่น พบว่า อาหารไก่เนื้อที่เสริม SOMS ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม มีคุณค่าทางโภชนะดังตารางที่ 1 ทั้งนี้ ผลการศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัมต่อการย่อยได้ของโภชนะของไก่ไข่ พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ที่ระดับ 0 10, 20, และ 30 กรัมต่อกิโลกรัมมีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งใกล้เคียงกัน ($P<0.05$) ทั้งยัง พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ที่ระดับ 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อกิโลกรัม มีการย่อยได้ของพลังงานรวมสูงใกล้เคียงกัน ($P<0.05$) ทั้งนี้ เมื่อสังเกตค่าการย่อยได้ของเยื่อใยหยาบ ไขมันรวม และโปรตีนหยาบ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทุกกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มระดับการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่แปรผกผันต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้งและพลังงานรวมเป็นแบบเส้นตรง ($P<0.01$) แสดงใน Table 3

3. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กของไก่ไข่

การศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม ต่อจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กในไก่ไข่ พบว่าไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS สามารถเพิ่มความสูงของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูนของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัม ($P<0.05$) ทั้งยังสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวของลำไส้เล็กส่วนเจจูนัมและไอเลียม ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 4

4. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

การศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัมต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ พบว่า การเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ในระดับที่เพิ่มขึ้นแปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ต่อวันแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสอง ($P<0.05$) ทั้งนี้ ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ที่ระดับ 0 10, 20, และ 30 กรัมต่อกิโลกรัมมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) อีกทั้งยัง พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS ที่ระดับ 0 และ10 กรัมต่อกิโลกรัมมีมวลไข่ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และต้นทุนการผลิตไข่ต่อกิโลกรัมใกล้เคียงกันกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 5

5. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อคุณภาพไข่ของไก่ไข่

การศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกิโลกรัม ต่อคุณภาพของไข่ไก่ พบว่า การเสริม SOMS ในอาหารของไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อคุณภาพของไข่ไก่ คือ น้ำหนักไข่ ความหนาของเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว ค่าคะแนนสีของไข่แดง และ Haugh Unit ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 6

6. ผลการเสริม SOMS ในอาหารต่อองค์ประกอบไขมันในไข่แดงของไก่ไข่

ผลการศึกษาการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50กรัมต่อกิโลกรัม ต่อคอเลสเตอรอลและองค์ประกอบไขมันในไข่แดง พบว่า การเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ในระดับที่เพิ่มขึ้นแปรผกผันกับปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงแบบเป็นเส้นตรง ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 7 ทั้งนี้ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริม SOMS ในอาหารในระดับที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกัน ในระหว่างกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 7

Table 2 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on cecal microbiota

Cecal microbiota	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
Lactic acid bacteria	10.79^{E}	11.96^{B}	11.31^{D}	11.61^{C}	11.90^{B}	12.46^{A}	0.04	L
Enterococcus sp.	3.84^{B}	6.20^{AB}	7.01^{A}	7.65^{A}	7.82^{A}	8.07^{A}	0.26	L
Escherichia coli	10.06^{A}	9.59^{A}	9.02^{A}	6.12^{A}	6.66^{A}	2.87^{A}	0.46	L
Salmonella sp.	1.63^{A}	1.96^{AB}	0.00^{B}	0.00^{B}	0.00^{B}	0.00^{B}	0.25	L

SEM= Standard error of mean, NS= Not significantly (P>0.05), ^{A,B} Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.01), and L = Linear

Table 3 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on apparent nutrient digestibility

Apparent nutrient digestibility[1] (%)	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
DM (%)	83.60^{A}	81.93^{A}	80.47^{ABC}	81.33^{AB}	78.33^{BC}	77.48^{C}	0.39	L
CF (%)	60.82	58.00	59.67	59.33	57.00	57.33	0.50	NS
EE(%)	82.87	82.67	81.00	80.67	79.33	79.67	0.45	NS
GE (%)	80.61^{A}	79.13^{AB}	80.33^{A}	78.47^{AB}	78.80^{AB}	77.33^{B}	0.26	L
CP(%)	78.82	78.20	77.67	76.50	76.50	76.50	0.32	NS
AME (kcal/kg)	2766.45^{A}	2550.72^{B}	2566.06^{B}	2519.70^{B}	2517.53^{B}	2490.73^{B}	8.14	Q

[1] DM= Dry matter, CP= Crude protein, EE=Ether extract, CF =Crude fiber, GE=Gross energy and AME = Apparent matabolizable energy SEM= Standard error of mean, NS= Not significantly (P>0.05), ^{A,B} Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.01), L = Linear, and Q2 = Quadratic

Table 4 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on small intestine histomorphology

Small intestine histomorphology[1]	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
Duodenum								
-VH (mm)	1.03^{B}	1.32^{A}	1.34^{A}	1.32^{A}	1.31^{A}	1.46^{A}	0.03	C
-VW (mm)	0.13	0.21	0.18	0.13	0.13	0.12	0.08	NS
-VSA (mm^2)	0.45	0.94	0.82	0.58	0.58	0.60	0.11	NS
-CD (mm)	0.14^{C}	0.24^{A}	0.17^{BC}	0.24^{A}	0.20^{AB}	0.22^{AB}	0.07	L
-VH:CD	7.39	5.61	7.83	5.74	6.50	6.81	0.28	NS
Jejunum								
-VH (mm)	1.08	1.28	1.13	1.18	1.26	1.39	0.03	NS
-VW (mm)	0.10^{D}	0.13^{BC}	0.15^{B}	0.11^{CD}	0.13^{BCD}	0.18^{A}	0.04	C
-VSA (mm^2)	0.38^{B}	0.59^{B}	0.57^{B}	0.46^{B}	0.54^{B}	0.88^{A}	0.03	C
-CD (mm)	0.12^{D}	0.19^{AB}	0.13^{CD}	0.21^{AB}	0.18^{BC}	0.25^{A}	0.07	L
-VH:CD	8.81^{A}	6.78^{B}	8.48^{A}	5.70^{B}	6.85^{B}	5.75^{B}	0.18	L
Ileam								
-VH (mm)	0.79^{B}	0.78^{B}	0.85^{AB}	1.02^{A}	0.78^{B}	0.94^{AB}	0.03	L
-VW (mm)	0.12	0.12	0.14	0.11	0.12	0.15	0.05	NS
-VSA (mm^2)	0.32^{B}	0.33^{B}	0.40^{AB}	0.40^{A}	0.33^{B}	0.49^{AB}	0.02	L
-CD (mm)	0.11	0.12	0.12	0.17	0.17	0.16	0.08	NS
-VH:CD	7.3	4.85	7.05	6.15	4.71	6.59	0.41	NS

[1] VH= Villous height, VH= Villous wide, VSA= Villous surface area, CD= Cryptal depth, VH:CD= Villous height : cryptal depth SEM= Standard error of mean, NS= Not significantly (P>0.05), ^{A,B} Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.01), L = Linear, and C=Cubic,

วิจารณ์ผล

การเสริม SOMS ในอาหารไก่เนื้อชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ สอดคล้องกับ Giannenas *et al.* (2011)[35] พบว่า การเสริมเห็ดแชมปิญองหรือเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) ช่วยเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* แปรผันตรงตามระดับการเสริมเห็ดแชมปิญองที่เพิ่มขึ้นในอาหารไก่งวง และ สามารถเพิ่มจำนวนของ *Lactobacilli* แปรผันตรงตามระดับการเสริมเห็ดแชมปิญองในอาหารไก่เนื้อ[1] นอกจากนี้ยังช่วยลดจุลินทรีย์ที่ให้โทษได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. เป็นต้น สอดคล้องกับ Fukata *et al.* (1999)[36] และ Fu *et al*., (2003)[37] ทั้งนี้เมื่อไก่ไข่ได้รับอาหารเสริม SOMS ไก่ไข่จะกินส่วนของโครงสร้างผนังเซลล์ของเห็ดที่มี Soluble fiber คือ non starch glycan ประมาณ 442-901 กรัมต่อกิโลกรัม และกลูแคนในรูปแบบอื่น เช่น ไคติน และกาแลคโตแมนแนน เป็นต้น รวมทั้ง Okechukwu *et al.* (2011) [38] ได้ทำการศึกษาคุณภาพของจุลินทรีย์และสารอาหารในเห็ดสองชนิด คือ เห็ดนางรม และเห็ดหูหนูป่า พบว่า คาร์โบไฮเดรตเส้นใยหยาบและโปรตีนมีอยู่ในระดับสูง ซึ่งโครงสร้างพรีไบโอติกส์เหล่านี้ไม่สามารถย่อยได้ด้วยน้ำย่อยในท่อทางเดินอาหารส่วนบน หากแต่จะสามารถใช้ประโยชน์ได้ โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้แก่ Lactic acid bacteria (*Bifidobacterium* sp. และ *Lactobacillus* sp.) และ *Enterococcus* sp เมื่อได้รับสารพรีไบโอติกส์ส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้ในการทำหน้าที่ย่อยเยื่อใยภายในท่อทางเดินอาหารให้ดีขึ้น ซึ่งการจะย่อยเยื่อใยในสัตว์กระเพาะเดี่ยวจำเป็นต้องอาศัยการย่อยโดยวิธีการหมักของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (bifidogenic effect) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) คือ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิค และกรดบิวทีริก ส่งผลให้ลำไส้ส่วนไส้ตันมีนิเวศวิทยาเป็นสภาวะกรด ซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรียที่ให้โทษ

นอกจากนี้การเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ชี้ให้เห็นว่ามีการย่อยได้ของโภชนะต่ำลงและมีการย่อยได้ของเยื่อใยในทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าส่วนประกอบของ SOMS คือ soluble fiber, non starch glycan[7] รวมถึงเยื่อใยอื่นๆ เช่น cellulose, hemicellulose และlignin ไม่สามารถย่อยได้ในท่อทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว ซึ่งเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ส่วนนี้ส่งผลโดยตรงต่อค่าการย่อยได้ของโภชนะอื่นที่ลดลง หากแต่เมื่อเส้นใยอาหารส่งผ่านไปยังทางเดินอาหารส่วนท้ายจะสามารถเกิดการหมักย่อยด้วยจุลินทรีย์ในซีกัม (caecum) โดยหลังการหมักย่อยจะได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดไขมันสายสั้น ซึ่งจะส่งผลให้ค่า pH ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการย่อยได้ของเยื่อใยมีค่าใกล้เคียงกันแม้จะได้รับอาหารที่มีปริมาณเยื่อใยสูงกว่านั้น แสดงว่ามีการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในท่อทางเดินอาหารส่วนท้ายและสร้างเป็นผลิตภัณฑ์กรดไขมันสายสั้น ส่งผลทำให้มีการย่อยได้ของเยื่อใยที่เพิ่มขึ้นในสัตว์กระเพาะเดี่ยว[39,40] นอกจากนี้กรดไขมันสายสั้นเหล่านี้ยังมีประโยชน์สำหรับไก่ไข่ กล่าวคือ กรดบิวทีริกจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลชีพในท่อทางเดินอาหาร ส่วนกรดอะซิติกจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการสร้างไขมันและคอเลสเตอรอลและกรดโพรพิโอนิคจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการกลูโคนีโอจินิซิส (gluconeogenesis) และลดการสังเคราะห์กรดไขมันและไขมัน (fatty acid and lipid synthesis)

อีกทั้งเศษก้อนเชื้อเห็ดเหลือทิ้งยังมีส่วนประกอบของเชื้อจุลินทรีย์ และ extra cellular enzymes[14] และ พบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และ ไซแลนเนส[15] ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนน่าจะส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของเยื่อใยหยาบของไก่ไข่โดยการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของความสูงวิลลัสส่วนดูโอดีนัม เนื่องจากเซลล์บุผิวของลำไส้เล็กใช้กรดไขมันสายสั้นเป็นแหล่งพลังงานเพื่อกระตุ้นการพัฒนาและเพิ่มความสมบูรณ์ของเยื่อบุลำไส้โดยกรดไขมันสายสั้นได้จากกระบวนการหมักย่อยด้วยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ยังช่วยลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่ให้โทษ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ให้โทษนั้นส่งผลเสียโดยตรงกับวิลลัส เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ให้โทษบางชนิดจะปล่อยสารพิษออกมาทำลายเซลล์วิลลัส เช่น สารพิษ Botulinum จาก *Clostridium botulinum* สอดคล้องกับรายงานของ Giannenas *et al*., 2010[1] ได้ทำการเสริมเห็ดกระดุมไม่มีผลต่อค่าจุลกายวิภาคของลำไส้เล็กของไก่เนื้อแต่สามารถเพิ่มความสูงของวิลลัสของไก่งวงแปรผันตรงต่อระดับการเสริมเห็ดแชมปิญอง หากแต่ไม่มีผลต่อความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูน และสัดส่วนของวิลลัสต่อคริปท์ของลำไส้เล็กทั้งสามส่วนของไก่งวง

Table 5 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on productive performance

Productive performance	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
Period 1								
-HD production(%)	94.15^{A}	92.66^{AB}	91.34^{BC}	90.74^{C}	90.32^{C}	90.00^{C}	0.22	L
-Egg weight (g)	61.45^{A}	60.03^{AB}	60.35^{AB}	59.89^{AB}	59.03^{BC}	57.69^{C}	0.26	L
-Egg mass (g/d)	57.86^{A}	55.63^{AB}	55.12^{B}	54.35±^{B}	53.31^{BC}	51.92^{C}	0.30	L
-FCR	1.90^{C}	1.98^{BC}	2.00^{B}	2.02^{B}	2.06^{AB}	2.12^{A}	0.01	L
-FCE (THB per kg)	30.90^{C}	32.17^{BC}	32.43^{B}	32.89^{B}	33.53^{AB}	34.44^{A}	0.18	L
Period 2								
-HD production(%)	90.00 ^{A}	89.35^{AB}	88.22^{ABC}	87.26^{BC}	85.11^{D}	86.55^{CD}	0.27	L
-Egg weight (g)	59.72	59.00	59.55	57.72	57.66	57.55	0.35	NS
-Egg mass (g/d)	53.80^{A}	52.72^{AB}	52.53^{AB}	50.36^{BC}	49.08^{C}	49.80^{C}	0.33	L
-FCR	2.05^{C}	2.09^{BC}	2.09^{BC}	2.18^{AB}	2.24^{A}	2.21^{A}	0.01	L
-FCE (THB per kg)	33.24^{C}	33.93^{BC}	34.04^{BC}	35.50^{AB}	36.47^{A}	35.91^{A}	0.23	L
Period 3								
-HD production(%)	85.05^{A}	83.03^{B}	81.80^{BC}	81.13^{C}	80.39^{C}	80.14^{C}	0.21	Q2
-Egg weight (g)	60.14	59.30	58.12	59.27	57.63	56.79	0.32	NS
-Egg mass (g/d)	51.15^{A}	49.25^{AB}	47.56^{BC}	48.09^{BC}	46.34^{C}	45.51^{C}	0.33	L
-FCR	2.15^{C}	2.23^{BC}	2.32^{AB}	2.29^{AB}	2.38^{A}	2.42^{A}	0.02	L
-FCE (THB per kg)	34.95^{C}	36.30^{BC}	37.64^{ABC}	37.18^{ABC}	38.62^{AB}	39.31^{A}	0.27	L
Overall								
-HD production(%)	89.76^{A}	88.35^{B}	87.12^{C}	86.34^{CD}	85.27^{D}	85.56^{D}	0.14	Q2
-Egg weight (g)	60.44^{A}	59.44^{AB}	59.34^{AB}	58.96^{ABC}	58.11^{BC}	57.34^{C}	0.24	L
-Egg mass (g/d)	54.25^{A}	52.52^{AB}	51.70^{B}	50.93^{BC}	49.55^{CD}	49.06^{D}	0.23	L
-FCR	2.03^{D}	2.10^{CD}	2.13^{C}	2.16^{BC}	2.22^{AB}	2.24^{A}	0.09	L
-FCE (THB per kg)	33.03^{D}	34.13^{CD}	34.70^{C}	35.19^{BC}	36.21^{AB}	36.55^{A}	0.16	L

[1] HD production= hen day production (%), Egg weigh = Average egg weight (g) FCR= feed conversion ratio (g of feed/g of egg mass) FCE= feed cost per 1 kg of egg (Bath per 1 kg of egg)

SEM= Standard error of mean, NS= Not significantly (P>0.05), ^{A,B} Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.01), L = Linear, and Q2 = Quadratic

Table 6 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on egg physical quality

Egg physical quality	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
Egg color (%)	43.76	39.42	38.58	41.58	41.01	41.31	0.23	NS
Whole egg weight (g)	62.20	61.40	61.00	62.08	61.99	59.97	0.48	NS
Shell weight (g)	8.35	8.07	8.60	8.12	8.64	7.70	0.07	NS
Yolk weight (g)	15.78	15.44	15.42	15.43	15.26	15.30	0.10	NS
Albumen weight (g)	38.07	37.88	36.99	38.53	38.09	36.99	0.36	NS
Albumen height (mm)	9.00±	8.85	9.41	10.06	10.11	9.34	0.16	NS
Haugh unit	94.19	91.73	94.74	96.65	94.13	94.33	0.74	NS
Yolk color score	14.30	14.30	14.44	14.67	14.63	14.56	0.05	NS
-Lightness	47.00	46.85	46.80	47.40	48.60	47.76	0.24	NS
-Redness	25.14	25.27	24.67	25.56	25.26	24.48	0.17	NS
-Yellowness	45.04	45.84	43.45	45.34	43.48	42.60	0.40	NS
Shell thickness (mm)	0.32	0.33	0.33	0.34	0.34	0.33	0.03	NS

SEM= Standard error of mean, and NS= Not significantly (P>0.05)

แม้ว่า SOMS จะเป็นเศษเหลือทิ้งที่มีปริมาณเยื่อใยสูงจนส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ต่อวันที่ลดลงแบบเป็นเส้นโค้งกำลังสองตามระดับการเสริม SOMS ที่เพิ่มขึ้น แต่การเสริม SOMS มีศักยภาพต่อน้ำหนักไข่ประสิทธิภาพการใช้อาหารและต้นทุนการผลิตไข่ 1 กิโลกรัมเทียบเท่าอาหารสูตรควบคุม ด้วยเหตุผลจากเกิดจากการหมักของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีส่วนร่วมในการปรับเปลี่ยนนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ โดยการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Bifidobacterium* พร้อมทั้งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella, Escherichia coli* และ *Clostridium perfringens* [41,24] พบว่า *B. subtilis,* อินนูลิน และ synbiotic สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและการยึดเกาะภายในเยื่อบุเซลล์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Lactobacilus* sp. และ *Bifidobacteria* sp. และลดการเจริญเติบโตของ *Clostridium* และเชื้อโรคในลำไส้ใหญ่ โดยโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ปรับปรุงความสามารถของสัตว์ปีกที่จะเอาต่อต้านโรคและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน[42,43] โปรไบโอติกส์สามารถปรับปรุงขนาดไข่ผลิตไข่และคุณภาพและต้นทุนค่าอาหารในไก่ไข่[44,45] โดยการปรับปรุงเกิดโปรไบโอติกส์สามารถส่งเสริมกระบวนการเผาผลาญอาหารและการใช้ประโยชน์ของสารอาหาร[46] การทดลองนี้สอดคล้องกับจากรายงานการเสริมอินนูลินไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน แต่สามารถพัฒนาประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารและการผลิตไข่ ทั้งยัง พบว่า การเสริมอินนูลิน, *B.* subtilis และซินไบโอติกส์มีผลต่อการพัฒนาคุณภาพของเปลือกไข่[47] ทั้งนี้มีรายงานถึง ไก่ไข่ที่ได้รับวัสดุเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกระดับมีน้ำหนักไข่และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ดีกว่ากลุ่มควบคุม[48] สอดคล้องกับรายงานการเสริม *บาซิลัส ซับติลิส* อินนูลิน และซินไบโอติกส์ในอาหารสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารไข่ เปลือกไข่ที่มีคุณภาพและแคลเซียมการเก็บรักษาเทียบกับกลุ่มควบคุม[24]

Table 7 Effect of SOMS supplementation in laying hen diets on cholesterol and fatty acid profile in yolk

cholesterol and fatty acid profile	Level of SOMS supplementation in diets (g/kg)						SEM	Trend analysis
	0	10	20	30	40	50		
Cholesterol	1,384[a]	1,295[b]	1,289[b]	1,228[c]	1,221[c]	1,210[c]	0.48	L
MUFA[1]	11.47	11.28	12.63	12.17	12.10	11.98	0.09	NS
Miristoleic acid	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	NS
Palmitoleic acid	1.01	0.86	0.95	0.86	1.00	0.93	0.04	NS
Heptadecanoic acid	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	NS
Veccenic acid	0.06	0.60	0.54	0.65	0.67	0.67	0.08	NS
Oleic acid	10.27	9.70	11..02	10.53	10.31	10.26	0.04	NS
Eicosenoic acid	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.04	NS
Nervonic acid 0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.001	NS
PUFA[2]	5.25	4.51	4.64	4.80	4.67	4.45	0.003	NS
Linoleic acid	4.49	3.77	3.89	4.033	3.86	3.71	0.05	NS
Eleostearic acid	0.09	0.06	0.07	0.07	0.07	0.06	0.001	NS
Eicosadienoic acid	0.10	0.03	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03	NS
Eicosatetraenoic acid	0.43	0.47	0.47	0.48	0.50	0.47	0.02	NS
Docosahaxaenoic acid	0.14	0.18	0.18	0.18	0.20	0.18	0.03	NS
SFA[3]	9.06	8.59	9.11	8.22	9.13	9.27	0.03	NS
Myristic acid	0.09	0.09	0.10	0.07	0.09	0.10	0.04	NS
Pentadecanoic acid	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.48	NS
Palmitic acid	7.06	6.55	6.91	5.99	6.93	7.12	0.09	NS
Heptadecanoic acid	0.04	0.04	0.04	0.06	0.05	0.04	0.01	NS
Stearic acid	1.84	1.88	2.04	2.07	2.03	1.98	0.04	NS
Heneicosanoic acid	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.08	NS
Omega 3 fatty acid	0.16	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.04	NS
Omega 6 fatty acid	4.59	3.78	3.86	4.56	3.97	3.96	0.04	NS
Omega 6 fatty acid	10.37	9.80	11.13	10.61	10.40	10.13	0.001	NS

[1]MUFA=Monounsaturated fatty acid, [2]PUFA=Polyunsaturated Fatty Acid, [3]SFA= Saturated Fatty Acid

SEM= Standard error of mean, NS= Not significantly (P>0.05), [a,b] Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.05), and L = Linear

การทดลองนี้แสดงผลของการเสริม SOMS ต่อการลดระดับของคอเลสเตอรอลรวม ในไข่แดง ซึ่งระดับคอลเลสเตอรอลที่ลดลงนั้นมีข้อสัณนิษฐานทางวิทยาศาสตร์ คือ การลดคอเลสเตอรอลอาจเกิดจากกลไลการทำงานของโปรไบโอติกส์ภายในลำไส้[49] คือ การดูดซึมคอเลสเตอรอลโดยแบคทีเรีย การเกาะติดคอเลสเตอรอลไปยังผนังเซลล์ของแบคทีเรีย หรือการกระทำทางสรีรวิทยาของผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักกรดไขมันสายสั้น[50,51] ทั้งยังมีอีกสมมุติฐานที่น่าเชื่อถือเกี่ยวกับการลดคอเลสเตอรอล คือ อาจเกิดจากกิจกรรมของของ Bile salt hydrolase enzyme (BSH enzyme) ซึ่งโปรไบโอติกส์ภายในลำไส้[52] มีเกี่ยวข้องกับกระบวนการในการสังเคราะห์ BSH enzyme และสามารถช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอลและยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้ กล่าวคือ คอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นของกรดน้ำดีที่ถูกสร้างจากตับแล้วปล่อยเข้าสู่ลำไส้ส่วนดูโอดีนัม ในกระบวนการดูดซึมไขมันประมาณการว่า 95% ของเกลือที่หลั่งออกมาในน้ำดีนั้นจะถูกดูดซึมกลับที่ส่วนปลายของลำไส้เล็กส่วนปลาย (terminal ileum) เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ เลือดจากลำไส้เล็กส่วนปลายจะไหลเข้าสู่หลอดเลือดดำพอร์ทัล (hepatic portal vein) และกลับเข้าสู่ตับที่ซึ่งเซลล์ตับดูดซึมเกลือและนำเกลือกลับเข้าท่อน้ำดีเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ หากแต่ในท่อทางเดินอาหารส่วนปลายนั้นเป็นที่อาศัยของโปรไบโอติกส์ที่สามารถผลิต BSH enzyme ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสลาย conjugate bile acid เป็น unconjugate bile acid glycine และ tuarine[53] โดย unconjugate bile acid จะได้รับการดูดซึมกลับคืนมาได้น้อยกว่า conjugate bile acid ที่ได้จากการสังเคราะห์ตับ ส่งผลให้มีการขับถ่ายของกรดน้ำดีที่มีขนาดใหญ่ขึ้นในอุจจาระ นอกจากนี้เกลือน้ำดีอิสระมีประสิทธิภาพน้อยในการละลายและการดูดซึมของไขมันในลำไส้ ดังนั้นสลายองค์ประกอบของเกลือน้ำดีอาจทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง โดยการเพิ่มความต้องการคอเลสเตอรอลในการสังเคราะห์กรดน้ำดีเพื่อลดความสูญเสียในอุจจาระหรือโดยการลดการละลายของคอเลสเตอรอลและการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านลำไส้เล็ก[52] โดยคำอธิบายดังกล่าวสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่เสริมโปรไบโอติกส์ พรีไบโอติกส์ และซินไบโอติกส์ เพื่อช่วยลดช่วยลดคอเลสเตอรอล กล่าวคือ มีรายงานการเสริม MOS ช่วยลดไตรกรีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลชนิด LDL ในซีรั่ม[54] โดยไตรกรีเซอไรด์อาจจะเป็นส่วนหนึ่งที่ถูกขนส่งของไขมันในเลือด (เป็น phospholipids) เข้าสู่รังไข่เพื่อสนับสนุนการพัฒนาของฟอลลิเคิลและพัฒนาผลผลิตไข่ สอดคล้องกับรายงานวิจัยการเสริมโปรไบโอติกส์สามารถลดความเข้มข้นของไตรกรีเซอไรด์และไขมันในช่องท้องในลูกไก่เนื้อ การลดลงของไตรกรีเซอไรด์ในซีรั่มและเพิ่มคอเลสเตอรอลชนิด HDL ในซีรั่ม[55,56] ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่สำคัญทางสรีรวิทยาเพราะระดับสูงของไตรกรีเซอไรด์ในซีรั่มและ คอเลสเตอรอลชนิด LDL มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของการเผาผลาญอาหารเช่นตับไขมันและการสะสมไขมันในช่องท้อง[57] ทั้งยังมีรายงานว่าการให้โปรไบโอติกส์ มีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลลดลงได้มากถึง 22 ถึง 33%[52] สอดคล้องรายงานการเสริม MOS ในอาหารไก่เนื้อส่งผลให้ไก่เนื้อมีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดที่ต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุม[58] นอกจากนี้ระดับคอเลสเตอรอลรวมในซีรั่มลดลง เมื่อไก่เนื้อได้รับอาหารเสริม MOS และเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มควบคุม[58,59] และการเสริมโปรไบโอติกส์ในอาหารสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง[60] สอดคล้องกับรายงานผลการเสริม *Bacillus* [61] และยีสต์ [62] ในอาหารไก่ไข่สามารถช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงนอกจากนี้ยังมีการวิจัยการเสริมใบแป๊ะก๊วยหมักด้วย *Aspergilus niger* และใบแป๊ะก๊วยหมักด้วย *Aspergilus niger* ร่วมกับ *Connida utilis* อาหารในอาหารของไก่ไข่สามารถใช้ในการผลิตไข่ที่มีคอเลสเตอรอลในไข่แดงและไตรกรีเซอไรด์ในซีรัม และ คอเลสเตอรอลชนิด LDL ต่ำ และช่วยเพิ่มคอเลสเตอรอล ชนิด HDL รวมถึงช่วยสะสมปริมาณของกรดไขมันชนิด PUFA ในระดับสูงเหมาะสำหรับผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพ[59] ทั้งนี้ ยังมีรายงานผลการเสริมวัสดุเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารไก่ไข่ สามารถช่วยลดคอเลสเตอรอลรวม คอเลสเตอรอลชนิด LDL และไตรกรีเซอไรด์ในไข่แดง[48]

สรุป

ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริม SOMS มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid และ *Enterococcus* sp. ในไส้ตันของไก่ไข่ รวมทั้งสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. และ *Escherichia coli* ในไส้ตันทั้งนี้การเสริม SOMS ที่ระดับ 10 ถึง 20 กรัมต่อกิโลกรัมมีประสิทธิภาพการย่อยได้ปรากฏของวัตถุแห้งและพลังงานรวมใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ยัง นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาความสูงของวิลลัสของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและความลึกของคริปท์ออฟไลเบอร์คูนของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมเจจูนัม แม้ว่าการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 10 ถึง 20กรัมต่อกิโลกรัมส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลผลิตต่อวันที่ลดลง หากแต่ไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่ ทั้งนี้การเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพการใช้อาหารและต้นทุนการผลิตไข่ 1 กิโลกรัมใกล้เคียงกันกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การทดลองนี้ยังแสดงผลของการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ต่อการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง หากแต่ไม่ส่งผลต่อปริมาณของกรดไขมันชนิดต่างๆในไข่แดง

การทดลองครั้งนี้แนะนำให้เสริม SOMS ที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม แม้ว่าจะพบข้อด้อยของการเสริม SOMS ในอาหารไก่ไข่ต่อเปอร์เซ็นต์ไข่ต่อวันที่ลดลง หากแต่การทดลองนี้ยังพบประโยชน์หลายประเด็นที่น่าสนใจ เช่น การเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์การพัฒนาจุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก และการปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง เป็นต้น อันจะเป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การศึกษาต่อไปเพื่อแสวงหาแนวทางในการใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสมจาก SOMS สำหรับพัฒนาการผลิตไก่ไข่ รวมถึงเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์และการจัดการเพื่อแก้ปัญหาเศษเหลือทิ้งของพื้นที่อย่างเป็นรูปธรรม รวมถึงส่งเสริมศักยภาพและการใช้ฐานทรัพยากรของพื้นที่เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยและสร้างสรรค์จากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557 และศูนย์เรียนรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเห็ด บ้านสามเรือน อำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรีที่อนุเคราะห์ตัวอย่างในการวิจัย รวมถึงขอขอบพระคุณวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรีที่เอื้อเฟื้อสถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Giannenas I,Tontis D, Tsalie E, Chronis EF, Doukas D, Kyriazakis I. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology, microbiota in broiler chicken, Anim Feed Sci and Tech 2010;89:78-84.
2. Geo FC, Savelkoul HFJ, Kwakkel RP, Williams BA. Immunoactive, medicinal properties of mushroom polysaccharides and their potential use in chicken diets, World's Poult Sci J 2003;59:427–440.
3. Dalloul RA, Lillehoj HS. Poultry coccidiosis. Recent advancements in control measures and vaccine development, Expert Rev Vaccines 2006;5:143–163.
4. Dalloul RA, Lillehoj HS, Lee JS, Lee SH, Chung KS. Immunopotentiating effect of a Fomitella fraxinea-derived lectin on chicken immunity and resistance to coccidiosis, Poult Sci 2006;85:446–451.
5. Geo FC, Kwakkel RP, Williams BA, Li WK, Li HS, Luo JY, Li XP, Wei YX, Yan ZT, Verstegen MW. Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on growth performance of broilers, British Poult Sci 2004;45:684–689.
6. Willis WL, Goktepe I, Isikhuemhen OS, Reed M, King K, Murray C. The effect of mushroom and pokeweed extract on Sallmonella, egg production, and weigth loss in molting hens, Poult Sci 2004;87:2451–2457.
7. Synytsya A, Míčková K, Synytsy A, Jablonský I, Spěváček J, V.Erban E, Kováříkov V, Čopíková J. Glucans from cultivate mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: structure and potential prebiotic activity, Carbo Polym 2009;76:548–556.
8. Ghasemi PA, Fatahi-Vanani M, Craker L, Shirmardi H. Chemical composition and bioactivity of essential oils of *Hypericum helianthemoides*, *Hypericum perforatum* and *Hypericum scabrum*, Pharm Biol 2014;52:175–181.
9. Jung SJ, Houde R, Baurhoo B, Zhao X, Lee BH. Effects of galacto-oligosaccharides and a *Bifidobacteria* lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens, Poult Sci 2008; 87:1694-1699.
10. Gibson GR, Roberfroid B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introduction the concept of prebiotics, J. Nutr 1995;125(1):1401-1402.
11. Wang RJ, Li DF, Bourne S. Can 2000 years of herbal medicine history help us solve probelms in the year 2000 in Biotechnology in the FeedIndustry, Proc Alltech's 14th Annu Symp 1998;273–291.
12. Bobek P, Galbavy S. Hypo-cholesterolemic and antiatherogenic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rabbits, Nahrung 1999;43:339–342.
13. Fazaeli H, Masoodi ART. Spent wheat straw compost of *Agaricus bisporus* mushroom as ruminant feed, Asian Aust J Anim Sci 2006; 19(6):845-851.
14. Ball AS, Jackson AM. The recovery of lignocellulose-degrading enzymes from spent mushroom compost, Biores Technol 1995;54 :311-314.

[15] Ko HG, Park SH, Kim SH, Park HG, Park WM. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species, Folia Microb 2005;50(2):103–106.

16. NRC. Nutrient Requirement of Poultry. (9th Ed.). Washington, D.C. 1994;
17. Zhao L, Zhang X, Cao F, Sun D, Wang T, Wang G. Effects of dietary supplementation with fermented Gingo-leaves on performance egg quality lipid metabolism and egg-yolk fatty acid composition in laying hens, Livest Sci 2003;155:77-85.
18. Ragab HI, Abdel AK., Kijora C, Ibrahim S. Effect of difference level of the processed *Lablab purpureus* seed on laying performance, egg quality and serum parameters, Int J Poult Sci 2012;11(2):131-137.
19. Nopparatmaitree M, Panthong A, Paengkoum S, Saenphoom P. Evaluation of asparagus trimmed waste in laying hens diet on nutrient digestibility and productive performance, SU Sci and Tech J 2014;8(1):72-84.
20. Laudadio V, Tufarelli V. Influence of substituting dietary soybean meal for dehulled-micronized lupin (*Lupinus albus* cv. Multitalia) on early phase laying hens production and egg quality, Livest Sci 2011;140:184-188.
21. Upadhaya SD, Lee JS, Jung KJ, Kim IH. Influence of emulsifier blends having different hydrophilic-lipophilic balance value on growth performance, nutrient digestibility, serum lipid profiles, and meat quality of broilers, Poult Sci 2017;97(1):255–261.
22. Lepage G, Roy CC. Direct transesteri-fication of all classes of lipids in a one-step reaction, J Lipid Res 1986; 27:114–120.
23. AOAC. Official methods of analysis. 17th ed. Assoc. off Anlysis chemistry, Gaithhersburg, MD, USA. 2000;
24. Fenton TW, Fenton M. An improved method for chromic oxide determination in feed and feces, Can J Anim Sci 1979; 59 : 631-634.
25. Sharifi SD. Dibamehr A, Lotfollahian H, Baurhoo B. Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens, Poul Sci 2012;91:918-927.
26. Jansen M, Nuyens F, Buyse J, Leleu S, Van Campenhout L. Interaction between fat type and lysolecithin supplementation in broiler feeds, Poult Sci 2016;94:2506–2515.
27. Abdalqader A, Al-Fataftah AR, Das G. Effects of dietary *Bacillus subtilis* and inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology, and microflora composition of laying hens in the late phase of production, Anim Feed Sci and Tech 2013;179:103-111.
28. Daneshmand A, Sadegh GH, Karimi A, Vaziry A. Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with and without prebiotic on growth performance and some blood parameter of male broilers, Anim Feed Sci and Tech 2011;170:91-96.
29. Awad WA, Böhm J, Razzazi-Fazeli E, Ghareeb K, Zentek J. Effects of addition of a probiotic Microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological of intestinal villi of broiler chicken, Poult Sci 2006;85:974-979.
30. Awad WA, Ghareeb K, Abdel-Raheem S, Böhm J. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chicken, Poult Sci 2009;88:49-55.
31. Tsirtsikos P, Fegeros K, Balaskas C, Kominakis A, Mountzouris KC. Dietary probiotic inclusion level modulates intestinal mucin composition and mucosal morphology on broilers, Poult Sci 2012; 91(1)860-1868.
32. Sakamoto K, Hirose H, Onizuka A, Hayashi M, Futamura N, Kawamura Y, Ezaki T. Quantitative study of change in intestinal morphology and mucous jel on total parenteral nutrition in rats, J Surg Res 2000;94:99-106.
33. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedure statistic. 2nd Edn. Singapore: McGrew-Hill Book Co Inc. 1992;
34. R Core Team. R. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Austria. 2016;URLhttp:/www.R-project.org/
35. Giannenas I, Tsalie E, Chronis EF Mavridis S, Tontis D, Kyriazakis I. Consumption of *Agaricus bisporus*

mushroom affects the performance, intestinal microbiota composition and morphology, and antoxidant status of turkey poults, Anim Feed Sci and Tech 2011;165:218-229.

36. Fukata T, Sasai K, Miyamoto T, Baba E. Inhibitory effects of competitive exclusion and fructo-oligosaccharide, singly and in combination, on *Salmonella* colonization of chicks, J Food Protect 1999;62:229-233.
37. Xu ZR, Zou X.T, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. Effects of dietary fructo-oligosaccharideon digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers, J Poul Sci 2003;82:1030-1036.
38. Okechukwu RI, Okereke JN, Onyedineke NE, Obi RK. Microbial and nutritional qualities of mushroom, Asian J Exp Biol Sci 2011;2(4):746-749.
39. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides, Physio Rev 2001; 81(3):1031-1064.
40. Mac Farlane S, Mac Farlane GT. Regulation of short chain fatty acid production, Proc Nutr Soc 2003;62:67-72.
41. Cumming JH, Macfarlane GT, Englyst H.N. Prebiotic digestion and fermentation, Am J Clin Nutr 2001;73(1):415-420.
42. Chen C, Nakthong T, Chen C. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin, Int J Poult Sci 2005;4:103–108.
43. Gaggìa F, Mattarelli P, Biavat B. Probiotics and prebiotic in animal feeding for safe food production, Int J Food Microb 2010;141:15-28.
44. Kurtoglu V, Kurtoglu F, Seker E, Coskun B, Balevi T, Polat ES. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol, Food Addit Contam 2004;21:817–823.
45. Panda AK, Rao SSR, Raju MVLN, Sharma SS. Effect of probiotic, *Lactobacillus sporogenes* feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of white leghorn layer breeders, J Sci Food Agric 2008;88:43–47.
46. Yeo J, Kim K. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks, Poult Sci 1997;76:381–385.
47. Chen C, Nakthong T, Chen C. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin, Int J Poult Sci 2005;4:103–108.
48. ชัยวัฒน์ อาจิน-วรรณพร ทะพิงค์แก ธัญญาทะพิงค์แก ประจิตร์ อุดหนุน และ มงคล ยะไชย ผลการเสริมวัสดุเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารต่อสมรรถนะการผลิตและคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่ไข่. วารสาร สัตวศาสตร์แห่งประเทศไทย 2558;2 (พิเศษ1):183-187.
49. Gilliland S, Nelson C, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by Lactobacillus acidophilus, Appl Envir Microb 1985;49:377-381.
50. Kim GB, Lee BH. Biochemical and molecular insights into bile salt hydrolase in the gastrointestinal micro flora: a review, Asian-Aust J Anim Sci 2005; 18:1505–1512.
51. Kim GB, Miyamoto CM, Meighen EA, Lee BH. Cloning and characterization of the bile salt hydrolase genes (bsh) from Bifidobacterium bifidium strains, Appl. Environ. Microbiol. 2004;70:5603–5612.
52. Begley M, Colin H, Gahan CGM. Bile salt hydrolase activity in probiotics, Appl. Envi Microb 2006, 72:3 1729–1738
53. Batta, A. K., G. Salen, R. Arora, S. Shefer, M. Batta, and A. Perseon. 1990. Side chain conjugation prevents bacterial 7-dehydroxylation of bile acids. J. Biol. Chem. 265:10925–10928
54. Ghasemian M, Jahanian R. Dietary mannanoligosaccharides supple-mentation could affect performance, immuno-competence, serum lipid metabolites, intestinal bacterial populations, and ileal nutrient digestibility in aged laying hens, Anim Feed Sci and Tech 2016;13:1-89.
55. Yusrizal SN, Chen TC, Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length, Int J Poult Sci 2003;2: 214–219.

56. Kannan M, Karunakaran R, Balakrishnan V, Prabhakar TG. Influence of prebiotics supplementation on lipid profile of broilers, Int J Poult Sci 2005;4:994–997.
57. Leeson S, Diaz G, Summers JD. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. university books publishing, Guelph, Ontario, Canada. 1995;
58. Yalcinkaya I, Gungor T, Basalan M, Erdem E. Mannan-oligosaccharides (MOS) from Saccharomyces cerevisiae in broilers: effects on performance and blood biochemistry, Turk J Vet Anim Sci 2008;32 (1):43-48.
59. Sohail MU, Ijaz A, Yousaf MS, Ashraf K, Zaneb H, Aleem M, Rehman H. Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and Lactobacillus-based probiotic: dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity, Poult Sci 2010;89 :1 934–1938.
60. Mikulski D, Jankowski J, Naczmanski J, Mikulska M, Demey V. Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens, Poult Sci 2012;91:2691-2700.
61. Kurtoglu V, Kurtoglu F, Seker E, Coskun B, Balevi T, Polat ES. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol, Food Addit Contam. 2004;21(9):817-23.
62. YousefiK M, Karkoodi K. Effect of probiotic Thepax® and *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on performance and egg quality of laying hens, Int Poult Sci 2007; 6(1):52-54.