รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

Effects of bamboo charcoal powder including vinegar liquid supplementation on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora population of laying hens in the late phase of production

นักวิจัย

ผศ.ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ SIT570776S-0

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

Effects of bamboo charcoal powder including vinegar liquid supplementation on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora population of laying hens in the late phase of production

คณะผู้วิจัย	หน่วยงาน
ผศ.ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดย เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2557
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สัญญาเลขที่ SIT570776S-0

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต ได้ดำเนินการและสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2557 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ SIT570776S-0 และได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ในการใช้สถานที่ห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับการวิจัย รวมทั้งอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณบุคลากรและนักศึกษาของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทำวิจัย

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบผลการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ (bamboo charcoal powder including vinegar liquid, BCV) ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 60 สัปดาห์ จำนวน 200 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 5 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว ทำการเลี้ยงไก่ด้วยอาหารทดลองที่เสริมด้วย BCV ที่ระดับ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5% เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริม BCV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ($P>0.05$) การเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้อัตราไข่ที่เสียหายลดลง และการเสริมที่ระดับ 1.5% มีผลทำให้ความหนาเปลือกไข่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) การเสริม BCV ในอาหารมีผลทำให้เชื้ออีโคไลในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง ในขณะที่จำนวนของเชื้อซาลโมเนลลาลดลงเมื่อเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ($P<0.01$) ความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ในขณะที่ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม BCV ในอาหาร ($P<0.05$) ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริม BCV ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 1.0% เป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการลดแบคทีเรียก่อโรค และการกระตุ้นการทำหน้าที่ของลำไส้ ซึ่งนำไปสู่การลดลงของไข่ที่เสียหาย และการเสริม BCV ที่ระดับ 1.5% มีผลช่วยเพิ่มความหนาของเปลือกไข่ในไก่ไข่ที่มีอายุมาก

คำสำคัญ: ไก่ไข่ ผงถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่ จุลินทรีย์ ลำไส้เล็ก

Abstract

This study examined the supplementation level effects of bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV) on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora populations, in laying hens in their late phase of production. A total of 200 laying hens (60 weeks of age) were randomly allotted into 4 treatment groups, with 5 replicates per treatment and 10 hens per replicate. Hens were fed a basal diet, supplemented with BCV at 0, 0.5, 1.0 or 1.5%, *ad libitum* for 12 weeks. Egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency were not affected by the dietary treatment ($P>0.05$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the 1.0 and 1.5% BCV diets, and eggshell thickness increased in the 1.5% BCV group ($P<0.05$). In the ileal content, population of *Escherichia coli* decreased with BCV in the diet, while colony counts of *Salmonella* spp. were comparatively low with 1.0 and 1.5% BCV ($P<0.01$). Villus height and villus area of duodenum were higher in hens fed the 1.0 and 1.5% diets ($P<0.01$), while villus size of jejunum was higher in hens fed the BCV diets ($P<0.05$). The results of this study demonstrate that a level of 1.0% BCV in a layer's diet is sufficient for decreasing pathogenic bacteria and stimulating intestinal functions, leading to a significant reduction in the number of damaged eggs; and that dietary supplementation of BCV at 1.5% can improve eggshell thickness in aged laying hens.

Key words: laying hen, bamboo charcoal, bamboo vinegar, microorganism, small intestine

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	จ
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	8
ผลการทดลอง	13
วิจารณ์ผลการทดลอง	19
สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	
ภาพที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	26
Manuscript ที่ส่งไปตีพิมพ์	28

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของถ่านดำและถ่านขาวจากไม้ชนิดเดียว 4

ตารางที่ 2 สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง 11

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่ 12

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของผงถ่านไม้ไผ่ 12

ตารางที่ 5 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ 14

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อคุณภาพไข่ 16

ตารางที่ 7 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ 17

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ 18

หลักการและเหตุผล

คุณภาพเปลือกไข่เป็นสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกซึ่งมีผลต่อกำไรในการผลิตไข่เพื่อบริโภคและการผลิตไข่ฟัก ความแข็งแรงของเปลือกไข่มีผลต่อการแตกเสียหายของไข่และมีผลต่อการผ่านเข้าไปของจุลินทรีย์ก่อโรค คุณภาพของเปลือกไข่ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุของสัตว์ โรค สภาพทางโภชนะ และความเครียด สาเหตุหลักอันหนึ่งของคุณภาพเปลือกไข่ที่ลดลงในไก่ไข่เกิดขึ้นเนื่องจากอายุไก่ที่เพิ่มขึ้น เมื่อไก่มีอายุมากขึ้นจะส่งผลต่อน้ำหนักไข่ที่เพิ่มขึ้นแต่การสะสมของแคลเซียมในเปลือกไม่ได้เพิ่มขึ้นตาม ดังนั้นจึงมีผลทำให้สัดส่วนของเปลือกและความหนาของเปลือกลดลง Grobas et al. (1999) ได้รายงานว่า เมื่อไก่มีอายุมากขึ้นประสิทธิภาพในการดูดซึมแคลเซียมจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับไก่ที่อายุน้อยกว่า ด้วยเหตุนี้ไข่ที่แตกเสียหายจึงมีมากในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต นอกจากนั้นก็มีรายงานที่พบว่า ในระหว่างการขนส่งไข่จากฟาร์มไปสู่ผู้บริโภคจะมีไข่แตกเสียหายประมาณ 7% (Taylor, 2002) ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงได้พยายามหาวิธีต่างๆ ในการเพิ่มคุณภาพของเปลือกไข่ ในปัจจุบันพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับผลของโภชนะต่อคุณภาพของเปลือกไข่นั้นจะมุ่งเน้นไปที่การจัดการแคลเซียมในอาหารเป็นหลัก อย่างไรก็ตามพบว่าการเพิ่มระดับแคลเซียมในอาหารไม่ได้ช่วยทำให้ผลผลิตไข่และคุณภาพของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นก็พบว่าการเพิ่มระดับแคลเซียมเพียงอย่างเดียวก็มีผลกระทบต่อการดูดซึมแร่ธาตุอื่นๆ อีกด้วย Skrivan et al. (2010) ได้รายงานว่า การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมในลำไส้ในช่วงที่มีการสร้างเปลือกไข่มีความสำคัญมากกว่าระดับของแคลเซียมที่เก็บสะสม และการเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจะมีผลทำให้คุณภาพของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการเพิ่มระดับของแคลเซียมในอาหารจึงไม่สามารถแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ แต่การเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและการเพิ่มการดูดซึมในทางเดินอาหารอาจจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในทางปฏิบัติ

จุลินทรีย์ในลำไส้มีบทบาทสำคัญต่อการรักษาความสมบูรณ์ของเยื่อบุผนังลำไส้ ถ้าความสมบูรณ์นี้ลดลงจะทำให้ติดเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น เมื่อไก่ไข่มีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้และเยื่อบุของผนังลำไส้จะมีความไวต่อการสูญเสียความสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งมีผลทำให้แบคทีเรียที่ก่อโรคเข้าแทนที่แบคทีเรียที่มีประโยชน์ได้มากขึ้น (Lambert, 2009) ดังนั้น การหาวิธีเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์และลดแบคทีเรียที่เป็นโทษจึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยรักษาความสมดุลของลำไส้ นอกจากนั้นการใช้สารเสริมบางชนิดที่มีประโยชน์ก็อาจจะทำให้ความสมบูรณ์ของเยื่อบุผนังลำไส้ดีขึ้น ซึ่งอาจจะมีผลในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ รวมทั้งมีผลช่วยในการดูดซึมโภชนะต่างๆ ได้มากขึ้น

ถ่านไม้ไผ่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการเผาไม้ไผ่ มีคุณสมบัติในการดูดซึมสารต่างๆ ได้ดีกว่าถ่านไม้ทั่วๆ ไป เนื่องจากไม้ไผ่มีโครงสร้างของรูพรุนเล็กๆ จำนวนมาก (microporosity) และได้มีการนำมาใช้ในรูปแบบผงเพื่อลดการดูดซึมของสารพิษที่กินเข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ได้รับเกินขนาด (Anjaneyulu et al., 1993) งาน

ทดลองของ Samanya and Yamauchi (2002) พบว่า การใช้ผงถ่านเสริมในอาหารสามารถเพิ่มน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ไวท์เล็กฮอร์นเพศผู้ได้ ในขณะที่น้ำส้มควันไม้ไผ่ (bamboo vinegar) เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบฟีนอล อัลเคน แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ส่วนประกอบหลักของน้ำส้มควันไม้ไผ่ประกอบด้วยน้ำและกรดอะซิติค ซึ่งมีปริมาณ 80%-90% และ 3.5%-4% ตามลำดับ (Velmurugan et al., 2009) กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (*Enterococcus* และ *Bifidobacterium*) และช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (*Salmonella* species) (Watarai and Tana, 2005) นอกจากนั้นน้ำส้มควันไม้ยังช่วยส่งเสริมการดูดซึมของแคลเซียมในลำไส้ของหนูทดลองโดยการเพิ่มการละลายของแคลเซียม (Kishi et al., 1999)

ด้วยคุณสมบัติที่ดีของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ไผ่ ดังนั้น จึงได้มีการนำผงถ่านไม้ไผ่มาผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่และใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิต งานทดลองของ Yamauchi et al. (2010) พบว่าการใช้ผงถ่านไม้ไผ่ที่ผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่เสริมในอาหารสามารถเพิ่มสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ในระยะแรกของการให้ผลผลิตได้ อย่างไรตาม ผลของผงถ่านไม้ไผ่ที่ผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพของเปลือกไข่ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิตยังไม่มีรายงาน ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการทดสอบเกี่ยวกับผลของผงถ่านไม้ไผ่ที่ผสมรวมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพเปลือกไข่ของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต
2. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้
3. ศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum)

การตรวจเอกสาร

ถ่านและผงถ่าน (Charcoal and charcoal powder)

ถ่าน หมายถึง วัสดุที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอนซึ่งได้รับหลังจากการให้ความร้อนสารอินทรีย์ในสภาพไร้อากาศ ซึ่งได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การใช้เป็นเชื้อเพลิง การดูดซับกลิ่นและความชื้น สารขจัดพิษในร่างกาย การทำน้ำให้บริสุทธิ์ การบำบัดน้ำเสีย รวมทั้งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ถ่านเป็นตัวดูดซับสารต่างๆ ได้ดี และพลังการดูดซับจะสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการกระตุ้นทางเคมีหรือการกระตุ้นด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิที่อยู่ในช่วง 500 – 1,000 °C ซึ่งถ่านที่ได้นั้นจะเรียกว่า ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) Asada et al. (2002) ได้รายงานไว้ว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดระหว่างประสิทธิภาพในการดูดซับของถ่านกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเผา โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 900 – 1,000 °C พื้นที่ผิวของการดูดซับจะสูงสุด อย่างไรก็ตาม Kitamura and Katayama (2001) ได้พบว่า การใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 1,100 °C จะทำให้พื้นที่ผิวของการดูดซับลดลง เนื่องจากการหดตัวและการหายไปของโครงสร้างภายใน (pore structure) Hille and Ouden (2005) พบว่า ถ่านกัมมันต์มีรูพรุนภายในที่มากกว่าถ่านปกติประมาณ 5 เท่า ซึ่งทำให้มีประสิทธิภาพการดูดซับที่มากกว่า

จิระพงษ์ (2553) ได้รายงานว่า ถ่านไม้สามารถจำแนกได้ตามวิธีการผลิต ดังนี้

1. ถ่านดำหรือถ่านอ่อน (Black or Soft charcoal) เป็นถ่านไม้ที่ใช้กันโดยทั่วไป โดยใช้เป็นเชื้อเพลิงในครัวเรือน ใช้ดูดกลิ่นความชื้น บำบัดน้ำเสีย รวมทั้งใช้ปรับปรุงบำรุงดิน ผลิตโดยใช้ความร้อนประมาณ 400-700 °C ใช้เวลาเผาสั้น จากนั้นปิดเตาไม่ให้อากาศเข้าและปล่อยถ่านไว้ในเตาจนกว่าจะเย็นเอง ถ่านที่ได้จะมีสีดำ มีความแข็งแรงน้อยกว่าถ่านขาว ถ่านดำจะสุกไม่เท่ากันทั้งแท่ง ปริมาณคาร์บอนเสถียร (fixed carbon) ของถ่านที่ได้รับความร้อนสูงกว่าจะมีค่ามากกว่าถ่านที่ได้รับความร้อนต่ำกว่า เช่น ถ่านส่วนบนเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 85% ถ่านส่วนกลางเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 80% และถ่านส่วนพื้นเตามีคาร์บอนเสถียรประมาณ 75-78% ถ่านดำเป็นวัตถุดิบที่สำคัญสำหรับการผลิตถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) โดยนำถ่านดำไปเผาด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 1,000 – 1,100 °C และสามารถนำถ่านกัมมันต์ไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้ในการดูดกลิ่น ดูดความชื้น หรือการกรองน้ำ ฯลฯ

2. ถ่านขาวหรือถ่านแข็ง (White or Hard charcoal) เป็นถ่านที่มีความแข็งมากกว่าถ่านดำ ผลิตโดยใช้ความร้อนที่ประมาณ 1,000 – 1,100 °C จากนั้นนำถ่านที่กำลังลุกไหม้อยู่ออกมาดับนอกเตา โดยใช้ขี้เถ้าผสมดินและน้ำประมาณ 10-20% ขี้เถ้าดังกล่าวจะติดแน่นอยู่ที่ผิวถ่านเป็นสีขาวปนเทา จึงเรียกว่า ถ่านขาว เนื้อถ่านสุกเท่ากันและมีปริมาณคาร์บอนเสถียรเท่ากันทั้งแท่ง จุดติดไฟยากแต่ลุกไหม้ได้นาน สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงและเป็นถ่านเพื่อสุขภาพ เช่น ใส่ในหม้อหุงข้าว ทำน้ำแร่ ใช้ในการอาบน้ำ เป็นต้น คุณสมบัติของถ่านดำและถ่านขาวแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. คุณสมบัติของถ่านดำและถ่านขาวจากไม้ชนิดเดียวกัน

ชนิดของถ่าน	คาร์บอนเสถียร (%)	สารระเหย (%)	ขี้เถ้า (%)	ระดับความแข็ง	ค่าความร้อน (Kcal/kg)
ถ่านดำ	68.6	24.5	0.9	8	6,983
ถ่านขาว	77.6	9.8	2.4	10	7,023

ที่มา: จิระพงษ์ (2553)

ถ่านไม้ไผ่ (Bamboo charcoal)

ถ่านไม้ไผ่เป็นถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการเผาไม้ไผ่ มีคุณสมบัติในการดูดซับสารต่างๆ ได้ดีกว่าถ่านไม้ทั่วๆ ไป โดยทั่วไปมักใช้เป็นสารควบคุมความชื้น สารดูดซับกลิ่น รวมทั้งใช้ร่วมในกระบวนการทำน้ำให้สะอาด สำหรับผงถ่านไม้ไผ่ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการป้องกันการดูดซึมของสารที่เป็นพิษที่กินเข้าไป Watarai and Tana (2005) ได้ทดลองในห้องปฏิบัติการและพบว่า การใช้ผงถ่านที่ระดับ 1% มีความสามารถในการดูดซับแบคทีเรียที่ก่อโรคได้มากกว่าแบคทีเรียที่มีประโยชน์ สำหรับในด้านการผลิตสัตว์นั้น Kutlu et al. (2001) ได้รายงานไว้ว่า การใช้ผงถ่านเสริมในอาหารไก่ไข่ที่ระดับต่างๆ (0, 1, 2 และ 4%) ไม่มีผลทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น แต่การเสริมผงถ่านมีผลทำให้การแตกของเปลือกไข่ลดลงตามระดับการใช้ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากในผงถ่านมีแร่ธาตุต่างๆ อยู่ในระดับสูง อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลของ Kutlu *et al.* (2001) ก็ได้พบว่า การใช้ผงถ่านในระดับที่มากกว่า 1% มีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงเล็กน้อย เนื่องจากผงถ่านอาจจะมีผลทำให้ความน่ากินของอาหารลดลง การใช้ผงถ่านในด้านปศุสัตว์นั้นพบว่า ในบางครั้งได้มีการนำเอาผงถ่านมาเสริมในอาหารเพื่อรักษาอาการท้องเสีย รวมทั้งใช้เป็นตัวดูดซับสารพิษและผลิตผลจากกระบวนการต่างๆ ที่เป็นอันตรายในทางเดินอาหารของสัตว์ นอกจากนั้น ผงถ่านก็ยังสามารถใช้ควบคุมแบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารอีกด้วย (Nikolaeva et al., 1994) นอกจากการใช้ผงถ่านเสริมในอาหารสัตว์แล้วยังมีการใช้ผงถ่านหว่านบนพื้นของโรงเรือนสัตว์เพื่อลดกลิ่นแอมโมเนีย

ผลกระทบอื่นๆ ของการใช้ผงถ่านในอาหารสัตว์

การใช้ผงถ่านในระดับสูงเกินไปมีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงเนื่องจากมวลต่อหน่วยปริมาตรที่สูงของผงถ่าน (high bulk density) และสีดำของอาหารเนื่องจากผงถ่านก็อาจมีผลต่อความน่ากินของสัตว์ Kutlu et al. (2001) ได้รายงานไว้ว่า ระดับที่สูงเกินไปของผงถ่านก็อาจทำให้โภชนะต่างๆ เช่น วิตามิน ไขมัน และเอนไซม์

ถูกดูดซับไปด้วย เนื่องจากการดูดซับของผงถ่านเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง นอกจากนั้นระดับที่สูงเกินไปของผงถ่านก็อาจมีผลรบกวนการย่อยได้ของอาหารอีกด้วย

น้ำส้มควันไม้ไผ่ (Bamboo vinegar liquid)

น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ (*Phyllostachys pubescens*) ภายใต้สภาพอับอากาศ (airless condition) และที่อุณหภูมิเหมาะสม (ประมาณ 700 °C) ควันที่ออกมาเมื่อกระทบความเย็นก็จะกลั่นตัวเป็นไอน้ำจนเป็นของเหลวในที่สุด น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟ ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก สารประกอบฟีนอล คีโตน และอัลดีไฮด์ โดยพบว่ามีกรดอะซิติกประกอบอยู่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของสารอินทรีย์ทั้งหมด (Akakabe et al., 2006) Velmurugan et al. (2009) ได้รายงานว่า น้ำส้มควันไม้ไผ่มีความเข้มข้นของสารประกอบฟีโนลิกมากกว่าน้ำส้มควันไม้ทั่วไปประมาณ 3-4 เท่า สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่ได้รับความสนใจในปัจจุบันเนื่องจากมีผลต่อการป้องกันการหืน (antioxidant) ป้องกันการอักเสบ (anti-inflammatory) และมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค น้ำส้มควันไม้ไผ่ได้มีการใช้เป็นยาพื้นบ้านสำหรับการรักษาโรคผิวหนัง ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ รวมทั้งใช้เป็นสารดับกลิ่น การนำไปใช้ส่วนใหญ่จะทำการผสมด้วยน้ำ Watarai and Tana (2005) ได้รายงานไว้ว่า กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด ในขณะเดียวกันก็สามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ตามปกติได้ เช่น *Enterococcus faecium* และ *Bifidobacterium thermophilum*

การทำให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์

น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากการควบแน่นจากกระบวนการผลิตถ่านยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที เนื่องจากการเปลี่ยนเป็นถ่านไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมกันทั้งเตา ดังนั้นควันที่ออกมาจากปล่องควันจึงเป็นควันที่ผสมกันระหว่างควันอุณหภูมิต่ำและสูง ทำให้น้ำส้มควันไม้ที่ได้มีทั้งสารที่มีประโยชน์และสารที่เป็นโทษ จึงต้องนำมาทำให้บริสุทธิ์ก่อน จิระพงษ์ (2553) ได้กล่าวว่า การทำให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์สามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. ปล่อยให้ตกตะกอน โดยนำน้ำส้มควันไม้มาเก็บในถังทรงสูงที่มีความสูงมากกว่าความกว้างประมาณ 3 เท่า โดยทิ้งให้ตกตะกอนประมาณ 90 วัน น้ำส้มควันไม้ก็จะตกตะกอนแบ่งเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นบนสุดจะเป็นน้ำมันใส ชั้นกลางเป็นของเหลวใสสีน้ำตาลมีกลิ่นควันไฟซึ่งเป็นน้ำส้มควันไม้ และชั้นล่างสุดเป็นของเหลวข้นสีดำซึ่งเป็นน้ำมันดิน

2. การกรอง โดยใช้ผ้ากรองหรือถังกรองที่ใช้ผงถ่านกัมมันต์ ซึ่งจะได้คุณสมบัติแตกต่างกันไปเพราะถ่านกัมมันต์จะลดความเป็นกรดของน้ำส้มควันไม้ และจะใช้วิธีนี้เพื่อนำไปเป็นวัตถุดิบในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เท่านั้น

3. การกลั่น โดยกลั่นได้ทั้งในความดันบรรยากาศปกติและการกลั่นแบบลดความดัน รวมทั้งการกลั่นลำดับส่วนเพื่อแยกเฉพาะสารหนึ่งสารใดในน้ำส้มควันไม้มาใช้ประโยชน์ ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยา อย่างไรก็ตาม ทั้งการกรองและการกลั่นต้องทำหลังจากการตกตะกอนก่อนเท่านั้น

คุณสมบัติของน้ำส้มควันไม้ (จิระพงษ์, 2553)

น้ำส้มควันไม้แตกต่างจากน้ำส้มสายชูหรือน้ำส้มอื่นๆ ที่ได้จากการหมักหรือสารสังเคราะห์อื่นๆ คือ มีสารประกอบต่างๆ หลากหลายกว่า น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากไม้ต่างชนิดก็จะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยทั่วไปน้ำส้มควันไม้มีสารประกอบที่สำคัญได้แก่ น้ำประมาณ 85% กรดอินทรีย์ 3% และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 12% มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ประมาณ 3 และความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.012-1.024 ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของไม้ที่นำมาเผาถ่าน

การใช้ประโยชน์จากน้ำส้มควันไม้

1. ใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่

- ใช้ผลิตสารดับกลิ่นตัว
- ใช้ผลิตอุตสาหกรรมรมควัน
- ใช้ในอุตสาหกรรมย้อมผ้า
- ใช้ผลิตสารป้องกันรักษาเนื้อไม้จากราและแมลง
- ใช้ผลิตสารช่วยย่อย

2. ใช้ในครัวเรือน ได้แก่

- ความเข้มข้น 100% ใช้รักษาแผลสด แผลถูกน้ำร้อนลวก รักษาโรคน้ำกัดเท้าและเชื้อราที่ผิวหนัง
- ผสมน้ำ 20 เท่า ใช้ราดทำลายปลวกและมด
- ผสมน้ำ 100 เท่า ใช้ฉีดพ่นถังขยะเพื่อดับกลิ่นและป้องกันแมลงวัน ใช้ดับกลิ่นในกรงเลี้ยงสัตว์

3. ใช้ในการเกษตร น้ำส้มควันไม้ที่มีความเข้มข้นสูงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อที่รุนแรงเนื่องจากมีความเป็นกรดสูง และมีสารประกอบ เช่น เมธานอล และฟีนอล ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อได้ดี

- ใช้ผสมน้ำ 20 เท่าพ่นลงดิน เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และแมลงในดิน

- ใช้ผสมน้ำ 200 เท่า ฉีดพ่นที่ใบพืช รวมทั้งพื้นดินรอบต้นพืชทุกๆ 7-15 วัน เพื่อขับไล่แมลง ป้องกันและกำจัดเชื้อรา

- ใช้ผสมน้ำ 1,000 เท่า เป็นสารจับใบ ช่วยลดการใช้สารเคมี เนื่องจากสารเคมีสามารถออกฤทธิ์ได้ดีในสารละลายที่เป็นกรดอ่อนๆ

- ใช้ทำปุ๋ยคุณภาพสูง โดยใช้น้ำส้มควันไม้เข้มข้น 100% หมักกับหอยเชอรี่บด เศษปลา เศษเนื้อหรือกากถั่วเหลือง โดยใช้โปรตีนต่างๆ 1 กิโลกรัมต่อน้ำส้มควันไม้ 2 ลิตร หมักนาน 1 เดือน แล้วกรองกากออก

- ใช้หมักกับสมุนไพร เช่น เมล็ดและใบสะเดา หางไหลแดง ข่าแก่ ตะไคร้หอม เพื่อเพิ่มฤทธิ์ของน้ำส้มควันไม้ในการไล่แมลงและป้องกันโรค

4. การนำน้ำส้มควันไม้ไปใช้ด้านปศุสัตว์

- ใช้ในการลดกลิ่นและป้องกันแมลงในฟาร์มปศุสัตว์ โดยการใช้ครั้งแรกควรผสมน้ำ 100 เท่า หลังจากนั้นเพิ่มเป็นผสมน้ำ 200 เท่า จะกำจัดกลิ่นและลดจำนวนแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

- ใช้ผสมอาหารสัตว์ เพื่อช่วยในการย่อยอาหารและป้องกันโรคท้องเสีย แต่การให้โดยตรงโดยการผสมน้ำจะมีกลิ่นควันไฟซึ่งสัตว์อาจจะไม่ชอบ ควรนำไปผสมกับผงถ่านก่อน โดยนำน้ำส้มควันไม้ 2 ลิตรผสมกับผงถ่าน 8 กิโลกรัม แล้วนำผงถ่านที่ชุ่มด้วยน้ำส้มควันไม้ไปผสมกับอาหารสัตว์ที่ระดับ 1% ซึ่งจะมีประโยชน์ ดังนี้

1) ช่วยทำให้การย่อยและการใช้ประโยชน์จากอาหารดีขึ้น ทำให้สัตว์โตเร็วกว่าปกติ
2) ช่วยยับยั้งการเกิดแก๊ส และดูดซึมโลหะหนักในกระเพาะอาหารทำให้สัตว์สุขภาพดี
3) ช่วยป้องกันและรักษาอาการท้องเสีย
4) ช่วยปรับปรุงคุณภาพ และลดปริมาณน้ำในเนื้อสัตว์ ทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ดีขึ้นทั้งรสชาติ สี และกลิ่น
5) ช่วยยับยั้งการเกิดแก๊สแอมโมเนีย และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ทำให้ลดกลิ่นของมูลสัตว์
6) ช่วยยับยั้งการฟักไข่ของแมลงในมูลสัตว์ทำให้ลดปริมาณของแมลงในบริเวณฟาร์ม โดยเฉพาะแมลงวัน

การใช้ผงถ่านร่วมกับน้ำส้มควันไม้

งานทดลองของ Rattanawut et al. (2014) ได้รายงานว่า การใช้ผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้เสริมในอาหารไก่เบตงที่ระดับ 1% สามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่ก่อโรค (*E. coli* และ *Salmonella* spp.) ให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และช่วยทำให้วิลไลมีการพัฒนามากขึ้น (มีพื้นที่การดูดซึมโภชนะมากขึ้น) ซึ่งทำให้สามารถย่อยโภชนะต่างๆ ได้มากขึ้น จึงมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้งานทดลองของ Yamauchi et al. (2010) พบว่า การใช้ผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่เสริมในอาหารที่ระดับ 0.5% และ 1.0% มีแนวโน้มทำให้สมรรถภาพการผลิตไข่ของไก่ไข่ในระยะแรกของการให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (สัปดาห์ที่ 22-39) อย่างไรก็ตาม งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในไก่ไข่ระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิตยัง

ไม่มีรายงานการใช้ การวิจัยครั้งนี้จึงได้กระทำในไก่ไข่ในช่วงท้ายของการให้ผลผลิต โดยเป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

การศึกษาผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ (Bamboo charcoal powder including vinegar liquid, BCV) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ในระยะสุดท้ายของการให้ผลผลิต ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 60 สัปดาห์ จำนวน 200 ตัว ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม (treatment) แต่ละกลุ่มมี 5 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว โดยไก่ได้รับอาหารทดลองที่ปลอดจากสารปฏิชีวนะ (Table 2) แล้วเสริมด้วย BCV 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5% ของอาหาร สำหรับ BCV ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ถูกผลิตขึ้นในบริษัท (Shikoku Tekuno Co., Ltd, Kagawa, Japan) โดยการผสมน้ำส้มควันไม้ไผ่ 3 ลิตร กับผงถ่านไม้ไผ่ 8 กิโลกรัม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่และผงถ่านไม้ไผ่แสดงในตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ ไก่ทดลองได้รับอาหารตามคำแนะนำของบริษัทและให้น้ำตลอดเวลา ให้วัคซีนต่างๆ ตามโปรแกรม และได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 3 ช่วงๆ ละ 4 สัปดาห์

การวัดสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

ทำการชั่งน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (อายุไก่ 60 สัปดาห์) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไก่ 72 สัปดาห์) เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง สำหรับการทดสอบสมรรถภาพการผลิตจะทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยมีการบันทึกผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราไข่ที่เสียหาย ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไข่ที่เก็บได้ในแต่ละวันจะนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักไข่เฉลี่ย จากนั้นนำมาแยกประเภทว่าเป็นไข่ปกติหรือไข่ที่เสียหาย โดยไข่ที่เสียหายประกอบด้วยไข่ผิดรูป ไข่ที่แตกเสียหาย และไข่ที่ไม่มีเปลือก ค่ามวลไข่ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักไข่จะคำนวณจากสูตร ดังต่อไปนี้

มวลไข่ = น้ำหนักไข่ × ผลผลิตไข่

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร = มวลไข่/ปริมาณอาหารที่กิน

ต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักไข่ = อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นผลผลิตไข่ x ราคาอาหาร 1 กิโลกรัม

การตรวจสอบคุณภาพไข่จะกระทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตรวจสอบน้ำหนักฟองไข่ ความแข็งแรงของเปลือกไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit โดยไข่ที่จะนำมาตรวจสอบคุณภาพเป็นไข่ที่เก็บในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง (period) น้ำหนักของไข่ทำการชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล ความแข็งแรงของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเครื่องทดสอบความแข็งแรงของเปลือกไข่ (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan) น้ำหนักของเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักไข่แดงทำการวัดด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล เปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่คำนวณจากน้ำหนักเปลือกไข่หารด้วยน้ำหนักไข่และคูณด้วยหนึ่งร้อย ความหนาของเปลือกไข่ทำการวัดด้วยเวอร์เนียไมโครมิเตอร์ โดยทำการวัด 3 จุด คือ ด้านป้าน ตรงกลาง ด้านแหลม และนำมาหาค่าเฉลี่ย สำหรับสีของไข่แดงและค่า Haugh unit ทำการวัดด้วยเครื่องวัดคุณภาพไข่อัตโนมัติ (digital egg tester)

การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างอาหารที่ย่อยในลำไส้ (fresh digesta) ของลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ของไก่ในแต่ละซ้ำๆ ละ 4 ตัว (นำมารวมกัน) จากนั้นนำตัวอย่างที่รวมกันแล้วในแต่ละซ้ำจำนวน 1 กรัมมาใส่หลอดทดลองและเติมน้ำกลั่นจำนวน 9 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเจือจางตั้งแต่ 10^{-2}-10^{-6} จากนั้นนำตัวอย่างไปลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็น 2 ชนิด คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* และอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. ทำการเกลี่ยตัวอย่างที่ใส่ลงไปให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

การวัดการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (อายุไก่ 72 สัปดาห์) ทำการฆ่าไก่และเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กทั้งส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย เพื่อนำไปหาการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก โดยเก็บซ้ำละ 1 ตัว โดยลำไส้เล็กในแต่ละส่วนถูกเก็บในสารละลาย 10% neutral-buffered formalin เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70, 80, 90, 95, 99 และ100% ความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง และนำไปหล่อในพาราฟินเพื่อเตรียมสำหรับการตัด เมื่อตัวอย่างลำไส้ในพาราฟินแข็งดีแล้วจึงทำการตัดด้วยไมโครโตมให้มีความหนา 4 ไมโครเมตร และวางบนสไลด์ หลังจากนั้นทำการย้อมสีด้วยสี haematoxylin and eosin และนำไปวัดค่าความสูงและความกว้างของวิลไลด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ติดตั้งร่วมกับกล้องดิจิตอลและคอมพิวเตอร์

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ สมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ คุณภาพไข่ ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ผลการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย ค่า $P<0.05$ จะถูกพิจารณาว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า $P<0.1$ จะถูกพิจารณาว่ามีแนวโน้ม

สถานที่ทำการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการที่ฟาร์มปฏิบัติการ และศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 2. สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.63
Soybean meal	24.35
Rice bran	5.35
Fish meal	3.00
Oyster shell	8.44
Dicalcium phosphate	1.57
Plant oil	2.86
DL-Methionine	0.20
Salt	0.30
Premix*	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.50
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	5.90
Calcium	4.00
Available phosphorus	0.40
Lysine	0.93
Methionine	0.50

*Premix: 2.0 MIU vitamin A, 0.32 MIU vitamin D_3, 2,000 mg vitamin E, 330 mg vitamin K_3, 220 mg vit B_1, 450 mg vitamin B_2, 4.5 mg vitamin B_{12}, 600 mg niacin, 100 mg copper, 150 mg iodine, 130 mg cobalt, 10 g iron, 8.8 g manganese, 8.8 g zinc, 25 g preservative, up to 1 kg filter.

ตารางที่ 3. คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่

Item	Composition (%)
Total organic content	11.37
Acetic acid	2.87
Methanol	0.07
Formaldehyde	0.003
Phenol	0.177
Cresol	0.043
Tar	0.73
pH	3.25

ตารางที่ 4. องค์ประกอบของผงถ่านไม้ไผ่

Item	Composition (%)
Ash	6.35
Nitrogen	0.57
Phosphate	1.06
Potassium	2.10
Silicon dioxide	1.20

ผลการทดลอง

สมรรถภาพการผลิต

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่เลี้ยงด้วย BCV ที่ระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 5 การเสริม BCV ในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ไข่ ($P>0.05$) การเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้อัตราไข่ที่เสียหายในช่วงสุดท้ายของการทดลอง (อายุไก่ 69-72 สัปดาห์) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และการเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้อัตราไข่ที่เสียหายตลอดการทดลองมีแนวโน้มลดลง ($P<0.10$) สำหรับต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักไข่ตลอดการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

คุณภาพไข่

ผลของการเสริม BCV ที่ระดับต่างๆ ต่อคุณภาพไข่ไก่แสดงในตารางที่ 6 การเสริม BCV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักเปลือกไข่ เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit ($P>0.05$) ความหนาของเปลือกไข่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1.5% ($P<0.05$) และมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมสำหรับกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1% สำหรับความแข็งแรงของเปลือกไข่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ($P<0.10$)

จำนวนของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

จำนวนของเชื้ออีโคไล และเชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) แสดงในตารางที่ 7 การเสริม BCV ในอาหารมีผลทำให้เชื้ออีโคไลลดลง และลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ($P<0.01$) สำหรับจำนวนของเชื้อซาลโมเนลลาพบว่า การเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้เชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

การเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

การเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้แสดงในตารางที่ 8 การเสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้ความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และการเสริม BCV ในอาหารทุกระดับมีผลทำให้ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) เพิ่มขึ้น ($P<0.01$) สำหรับความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ($P>0.05$)

ตารางที่ 5. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Body weight changes (g)	202.50	196.50	183.90	192.10	13.04	0.972
Egg production (%)						
61-64 week	91.42	90.47	92.38	86.77	1.53	0.626
65-68 week	94.28	92.85	92.86	92.21	1.37	0.966
69-72 week	80.18	82.85	85.00	84.50	1.62	0.752
61-72 week	88.63	88.72	90.08	87.83	1.16	0.936
Egg weight (g)						
61-64 week	59.15	60.32	59.85	60.12	0.37	0.662
65-68 week	62.17	60.91	60.75	61.22	0.60	0.847
69-72 week	61.02	60.82	60.63	61.03	0.52	0.870
61-72 week	60.78	60.68	60.41	60.79	0.48	0.990
Egg mass (g/hen/day)						
61-64 week	54.07	54.57	55.28	52.16	1.19	0.409
65-68 week	58.61	56.55	56.41	56.45	1.05	0.775
69-72 week	48.92	50.38	51.53	51.57	1.00	0.925
61-72 week	53.87	53.83	54.41	53.39	0.73	0.910

Damaged egg rate (%)						
61-64 week	1.79	2.16	1.31	1.32	0.22	0.499
65-68 week	2.17	1.52	0.98	0.51	0.30	0.240
69-72 week	2.31[a]	2.57[a]	0.50[b]	0.77[b]	0.30	0.016
61-72 week	2.09	2.08	0.93	0.86	0.23	0.073
Feed intake (g/d)						
61-64 week	100.32	101.97	100.45	103.45	1.76	0.928
65-68 week	110.38	107.97	105.75	109.46	1.53	0.762
69-72 week	115.30	112.48	107.52	104.53	2.01	0.235
61-72 week	108.66	107.47	104.57	105.81	1.30	0.730
Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)						
61-64 week	0.538	0.535	0.550	0.504	0.008	0.323
65-68 week	0.530	0.523	0.533	0.515	0.007	0.781
69-72 week	0.424	0.447	0.479	0.493	0.008	0.425
61-72 week	0.497	0.501	0.520	0.504	0.006	0.838
Feed cost per kilogram egg (Bath/kg)						
61-72 week	32.20	32.95	32.65	34.58	0.42	0.211

[a,b]Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

Values are means of 5 replicates.

ตารางที่ 6. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อคุณภาพไข่ (61-72 สัปดาห์)

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Egg weight (g)	60.20	60.40	60.30	60.80	0.24	0.706
Eggshell weight (g)	6.55	6.53	6.62	6.73	0.08	0.838
Eggshell percent (%)	10.88	10.81	11.01	11.06	0.13	0.810
Eggshell thickness (mm)	0.371^{b}	0.368^{b}	0.374^{ab}	0.393^{a}	0.380	0.048
Eggshell strength (kg/cm^2)	3.27	3.25	3.60	3.92	0.11	0.069
Albumen weight (g)	37.59	37.68	37.58	37.81	0.32	0.909
Yolk weight (g)	16.06	16.19	16.10	16.26	0.21	0.955
Yolk color	8.10	8.06	8.16	8.28	0.08	0.804
Haugh unit	81.85	80.75	81.70	82.43	0.85	0.930

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05).

Values are means of 5 replicates.

ตารางที่ 7. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่ (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Escherichia coli	3.91[a]	3.89[b]	3.84[c]	3.86[c]	0.01	0.002
Salmonella spp.	3.41[a]	3.36[a]	3.26[b]	3.23[b]	0.02	0.001

[a,b,c]Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05).

Values are means of 5 replicates.

ตารางที่ 8. ผลของการเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Villus height (mm)						
Duodenum	1.41[b]	1.40[b]	1.46[a]	1.44[a]	0.01	0.003
Jejunum	0.90[b]	0.93[a]	0.94[a]	0.93[a]	0.01	0.040
Ileum	0.48	0.48	0.49	0.49	0.01	0.950
Villus area (mm^2)						
Duodenum	0.121[b]	0.120[b]	0.125[a]	0.126[a]	0.002	0.001
Jejunum	0.080[b]	0.085[a]	0.086[a]	0.084[a]	0.001	0.020
Ileum	0.036	0.036	0.038	0.037	0.001	0.543

[a,b]Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

Values are means of 5 replicates.

วิจารณ์ผลการทดลอง

งานทดลองก่อนหน้านี้ได้พบว่า การเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 0.5 และ 1.0% มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตไข่ของไก่ไข่ในช่วงแรกของการให้ผลผลิต (อายุไก่ 22-39 สัปดาห์) เพิ่มขึ้น โดยผลผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากผลดีของ BCV ในการกระตุ้นการทำหน้าที่ของลำไส้ (Yamauchi et al., 2010) ในการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าผลผลิตไข่จะไม่ได้เพิ่มขึ้น แต่อัตราไข่ที่เสียหายในช่วงสุดท้ายของการทดลอง (อายุไก่ 69-72 สัปดาห์) ลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่มที่เสริมด้วย BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% และมีแนวโน้มต่ำกว่า (P = 0.073) เมื่อเปรียบเทียบผลตลอดการทดลอง การลดลงของไข่ที่เสียหายเมื่อเสริม BCV เป็นผลโดยตรงจากคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีขึ้น ซึ่งประกอบด้วยความหนาเปลือกไข่และความแข็งแรงของเปลือกไข่ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งความหนาของเปลือกไข่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1.5% และความแข็งแรงของเปลือกไข่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (P = 0.069) ในกลุ่มที่เสริม BCV ที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ผลของ BCV ในอาหารต่อคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีขึ้นอาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากผลดีของผงถ่านไม้ไผ่และน้ำส้มควันไม้ต่อการปรับปรุงสภาพแวดล้อมในทางเดินอาหารของไก่ไข่ซึ่งอาจจะช่วยในการดูดซึมโภชนะต่างๆ ได้มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการดูดซึมแคลเซียม ผงถ่านไม้ไผ่มีความสามารถในการดูดซึมสารต่างๆ ได้ดีกว่าผงถ่านไม้ทั่วไป เนื่องจากโครงสร้างของไม้ไผ่ประกอบด้วยรูพรุนเล็กๆ จำนวนมาก (Zhao et al., 2008) ข้อมูลจากงานทดลองพบว่า ผงถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการดูดซับเชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้ได้มากกว่าเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในลำไส้ตามปกติ (*Enterococcus faecium*) ในขณะที่น้ำส้มควันไม้ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella enterica* serovar Enteritidis และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *E. faecium* และ *Bifidobacterium thermophilum* (Watarai and Tana, 2005) กรดอะซิติคเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหลักที่พบในน้ำส้มควันไม้ไผ่ โดยกรดอะซิติคสามารถควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอีกด้วย ซึ่งมีผลต่อการทำหน้าที่ของลำไส้ที่ดีขึ้น ผลจากการทดลองในไก่ไข่และแม่พันธุ์ไก่ไข่ที่มีอายุมากพบว่า กรดอินทรีย์ช่วยปรับปรุงการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุและมีผลดีต่อคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีขึ้น (Park et al., 2002; Sengor et al., 2007) กลไกหนึ่งที่ช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุเป็นการลดลงของความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหาร ซึ่งช่วยเพิ่มการทำหน้าที่ของเอนไซม์และการละลายของแร่ธาตุ (Swiatkiewicz et al., 2010) นอกจากนี้ก็มีรายงานที่แสดงว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารมีผลช่วยในการลดความเป็นกรด-ด่างในลำไส้และช่วยเพิ่มการละลายของแคลเซียม ซึ่งจะมีผลช่วยเพิ่มระดับแคลเซียมในเลือดและช่วยปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่ให้ดีขึ้น (Abdel-Fattah et al., 2008; Soltan, 2008) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้การเสริม BCV อาจจะช่วยปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่โดยผ่านกลไกต่างๆ เช่น การลดความเป็นกรด-ด่างในทางเดินอาหาร การส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และการส่งเสริมการย่อยและการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ

ในการศึกษาครั้งนี้ ความสูงและขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลางของไก่ไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.0 และ 1.5% ขนาดของวิลไลที่เพิ่มขึ้นมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมและทำให้สามารถดูดซึมโภชนะต่างๆ ได้ดีขึ้น นอกจากนั้นพื้นที่ผิวของการดูดซึมที่เพิ่มขึ้นก็มีผลในการเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมที่มากขึ้น Gilmore and Ferretti (2003) พบว่า ขนาดของวิลไลที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ซึ่งคอยช่วยในการจัดหาโภชนะและเป็นตัวกระตุ้นการพัฒนาของวิลไลในลำไส้ แบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* จะช่วยส่งเสริมการเผาผลาญอาหารและมีส่วนช่วยในการเพิ่มการดูดซึมโภชนะ (Gabriel et al., 2006) ในขณะที่แบคทีเรียที่ก่อโรคจะทำให้วิลไลเกิดความเสียหายและยับยั้งการหลั่งน้ำย่อย (Xu et al., 2003) งานทดลองของ Choct (2009) พบว่า วิลไลจะมีขนาดลดลงเมื่อจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลทำให้พื้นที่การดูดซึมอาหารลดลง ในการทดลองครั้งนี้จำนวนของเชื้ออีโคไลและซาลโมเนลลาลดลงเมื่อเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.0 และ 1.5% การลดลงของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาจเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไผ่ เช่น สารประกอบฟีโนลิค กรดอินทรีย์ ฯลฯ ซึ่งช่วยทำให้การก่อตัวของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลดลง และลดการอักเสบที่เยื่อบุผนังลำไส้ ซึ่งมีผลทำให้วิลไลมีการพัฒนามากขึ้น สามารถย่อยและดูดซึมโภชนะต่างๆ ได้มากขึ้น การเพิ่มขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นและลำไส้เล็กส่วนกลางเป็นการชี้ให้เห็นว่าการทำหน้าที่ของวิลไลถูกกระตุ้นโดย BCV ที่เสริมเข้าไปในอาหาร ผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าการเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.0 และ 1.5% สามารถกระตุ้นการทำหน้าที่ของลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง แต่ไม่มีผลต่อการทำหน้าที่ของลำไส้เล็กส่วนปลาย ซึ่ง Noy and Sklan (1995) ได้อธิบายว่าในสภาวะปกตินั้นโภชนะส่วนใหญ่จะถูกดูดซึมในลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง นอกจากนี้ Yamauchi et al. (1996) ได้รายงานไว้ว่าลำไส้เล็กส่วนปลายมีการทำหน้าที่ในการดูดซึมโภชนะต่างๆ ได้น้อยกว่าลำไส้เล็กส่วนบน

สรุปผลการทดลอง

การเสริมผงถ่านไม้ไผ่ร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับ 1.0 และ 1.5% มีผลทำให้ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางเพิ่มขึ้น มีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลดลง และส่งผลทำให้คุณภาพเปลือกไข่ดีขึ้น ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.0% เป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการลดการแตกเสียหายของไข่ และการเสริม BCV ในอาหารที่ระดับ 1.5% สามารถช่วยเพิ่มความหนาของเปลือกไข่ในไก่ที่มีอายุมากได้

เอกสารอ้างอิง

จิระพงษ์ คูหากาญจน์. 2553. การผลิตถ่านและน้ำส้มควันไม้. สำนักพิมพ์เกษตรธรรมชาติ. กรุงเทพฯ.

Abdel-Fattah SA, El-Sanhoury MH, El-Mednay NM and Abdel-Azeem F. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. International Journal of Poultry Science, 7: 215–222.

Akakabe Y, Tamura Y, Iwamoto S, Takabayashi M and Nyuugaku T. 2006. Volatile organic compounds with characteristic odor in bamboo vinegar. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70: 2797-2799.

Anjaneyulu Y, Rama Rao P and Gopal Naidu NR. 1993. Experimental aflatoxicosis and its amelioration by activated charcoal in broiler chicken-study on performance and haematology. Journal of Veterinary and Animal Science, 24: 51-54.

Asada T, Ishihara S, Yamane T, Toba A, Yamada A and Oikawa K. 2002. Science of bamboo charcoal: study on carbonizing temperature of bamboo charcoal and removal capability of harmful gases. Journal of Health Science, 48: 473-479.

Choct M. 2009. Managing gut health through nutrition. British Poultry Science, 50: 9-15.

Gabriel I, Lessire M, Mallet S and Guillot JF. 2006. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. World's Poultry Science Journal, 62: 499-511.

Gilmore MS and Ferretti JJ. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen. Science, 299: 1999-2002.

Grobas S, Mendez J, De Blas C and Mateos GG. 1999. Influence of dietary energy, supplemental fat and linoleic acid concentration on performance of laying hens at two ages. British Poultry Science, 40: 681-687.

Hille M and Ouden JD. 2005. Charcoal and activated carbon as adsorbate of phytotoxic compounds – a comparative study. Oikos, 108: 202-207.

Kishi M, Fukaya M, Tsukamoto Y, Nagasawa T, Takehana K and Nishizawa N. 1999. Enhancing effect of dietary vinegar on the intestinal absorption of calcium in ovariectomized rats. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 63: 905-910.

Kitamura T and Katayama H. 2001. The effect of carbonizing conditions on the specific surface area of charcoal from sugi (*Cryptomeria japonica*) wood. Mokuzai Gakkaishi, 47: 164-170.

Kutlu HR, Unsal I and Gorgulu M. 2001. Effects of providing dietary wood (oak) charcoal to broiler chicks and laying hens. Animal Feed Science and Technology, 90: 213-226.

Lambert GP. 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. Journal of Animal Science, 87: E101–E108.

Nikolaeva L, Grigor AV, Znamenskii V and Koval VK. 1994. An experimental study of the efficacy of enterosorbents in salmonellosis. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2: 7-11.

Noy Y and Sklan D. 1995. Digestion and absorption in the young chick. Poultry Science, 74: 366-373.

Park JH, Park GH and Ryu KS. 2002. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on performance and egg quality of laying hens. Korean Journal of Poultry Science, 29: 109-115.

Rattanawut J. 2014. Effects of dietary bamboo charcoal powder including bamboo vinegar liquid supplementation on growth performance, fecal microflora population and intestinal morphology in Betong chickens. The Journal of Poultry Science, 51: 165-171.

Samanya M and Yamauchi K. 2002. Morphological demonstration of the stimulative effects of charcoal powder including wood vinegar compound solution on growth performance and intestinal villus histology in chickens. The Journal of Poultry Science, 39: 42-55.

Sengor E, Yardimci M, Cetingul S, Bayram I, Sahin H and Dogan I. 2007. Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. South African Journal of Animal Science, 37: 158-163.

Skrivan M, Marounek M, Bubancova I and Podsednicek M. 2010. Influence of limestone particle size on performance and egg quality in laying hens aged 24-36 weeks and 56-68 weeks. Animal Feed Science and Technology, 158: 110-114.

Soltan MA. 2008. Effect of organic acid supplementation on egg production, egg quality, and some blood serum parameters in laying hens. International Journal of Poultry Science, 7: 613-621.

Swiatkiewicz S, Koreleski J and Arczewska A. 2010. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. Czech Journal of Animal Science, 55: 294-306.

Taylor R. 2002. Hindgut function in laying hens, a report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication No. 02/043, University of Newcastle, Australia.

Velmurugan N, Chun SS, Han SS and Lee YS. 2009. Characterization of chikusaku-eki and mokusaku-eki and its inhibitory effect on sapstaining fungal growth in laboratory scale. International Journal of Environmental Science and Technology, 6: 13-22.

Watarai S and Tana S. 2005. Eliminating the carriage of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in domestic fowls by feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-rich). Poultry Science, 84: 515-521.

Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA and Wang MQ. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science, 82: 1030-1036.

Yamauchi K, Kamisoyama H and Isshiki Y. 1996. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. British Poultry Science, 37: 909-921.

Yamauchi K, Ruttanavut J and Takenoyama S. 2010. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on chicken performance and histological alterations of intestine. Journal of Animal and Feed Science, 19: 257-268.

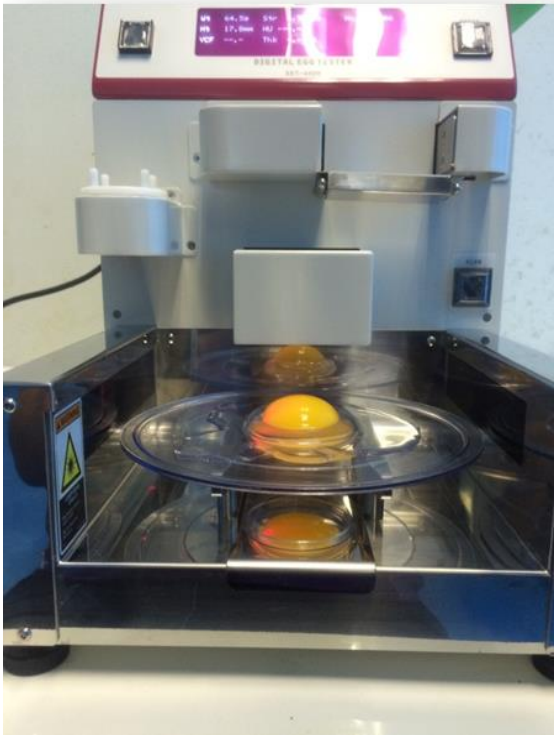
Zhao RS, Yuan JP, Jiang T, Shi JB and Cheng CG. 2008. Application of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the determination of atrazine and simazine in environmental water samples by high-performance liquid chromatography-ultraviolet detector. Talanta, 76: 956-959.

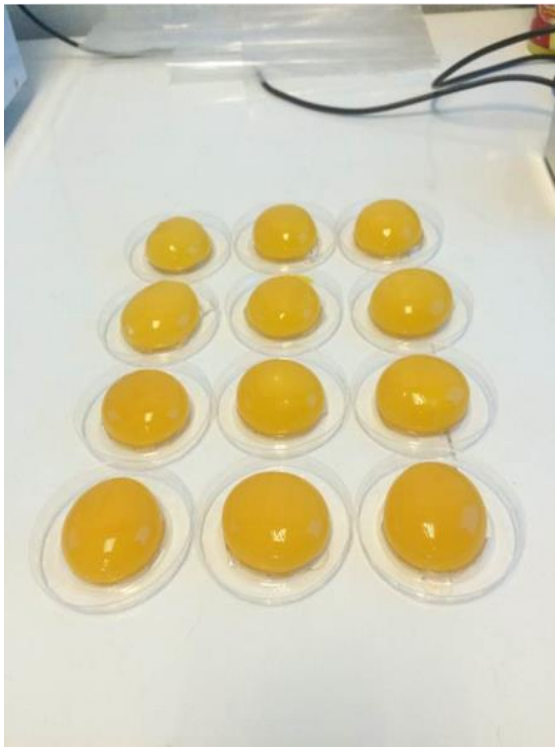
ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

ภาพที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เครื่องมือที่ใช้ในการวัดคุณภาพไข่





ภาคผนวกที่ 2

Manuscript ที่ส่งไปตีพิมพ์

Effects of Bamboo Charcoal Powder Including Vinegar Liquid Supplementation on Performance, Eggshell Quality, Alterations of Intestinal Villi and Intestinal Microflora Populations of Laying Hens in the Late Phase of Production

Jessada Rattanawut[1], Areerat Todsadee[2] and Koh-en Yamauchi[3]

[1]Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani, Thailand

[2]Faculty of Liberal Arts and Management Sciences, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani, Thailand

[3]Laboratory of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University, Kagawa-ken, Japan

Running title: Hens Fed Bamboo Charcoal Including Vinegar

Correspondence: Dr. J. Rattanawut, Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand.

(E-mail: jassada.r@psu.ac.th)

Abstract

This study examined the supplementation level effects of bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV) on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora populations, in laying hens in their late phase of production. A total of 200 laying hens (60 weeks of age) were randomly allotted into 4 treatment groups, with 5 replicates per treatment and 10 hens per replicate. Hens were fed a basal diet, supplemented with BCV at 0, 0.5, 1.0 or 1.5% level, *ad libitum* for 12 weeks. Egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency were not affected by the dietary treatment ($P > 0.05$). Damaged egg rate decreased in the hens fed the 1.0 and 1.5% BCV diets, and eggshell thickness increased in the 1.5% BCV group ($P < 0.05$). In the ileal content, population of *Escherichia coli* decreased with BCV in the diet, while colony counts of *Salmonella* spp. were comparatively low with 1.0 and 1.5% BCV ($P < 0.01$). Villus height and villus area of duodenum were higher in hens fed the 1.0 and 1.5% diets ($P < 0.01$), while villus size of jejunum was higher in hens fed the BCV diets ($P < 0.05$). The results of this study demonstrate that a level of 1.0% BCV in a layer's diet is sufficient for decreasing pathogenic bacteria and stimulating intestinal functions, leading to a significant reduction in the number of damaged eggs; and that dietary supplementation of BCV at 1.5% can improve eggshell thickness in aged laying hens.

Key words: aged hen, bamboo charcoal, bamboo vinegar, ileal microflora, intestine

Introduction

The laying cycle of a chicken flock usually covers a span of about 12 months. When hens get older, the eggs get larger, but the shell gland still deposits the same amount of calcium (Ca) on the shells, making them thinner. Also, aged hens are reportedly less efficient in absorbing Ca than younger ones (Al-Batshan *et al.*, 1994). For these reasons, the incidence of cracked eggs could exceed 20% in the late-phase production cycle (Nys, 2001). This problem has raised the interest of many researchers to improving eggshell quality using various approaches. Most of the studies on nutrition effects on eggshell quality in laying hens have focused on dietary Ca manipulation as the primary means to improve eggshell quality. However, increasing dietary Ca alone reportedly impairs the absorption of other minerals, such as phosphorus, magnesium, manganese, and zinc, causing secondary deficiencies. In addition, excess calcium significantly reduces egg production, egg weight and feed consumption (Harms and Waldroup, 1971). In a recent study, Jiang *et al*. (2013) reported that laying hens fed diets with high Ca concentrations (4.4%) experienced decreased eggshell quality (shell thickness) in comparison with a control group (3.7% Ca). Therefore, increasing Ca level in the diet to improve eggshell quality might not be a practical solution, but enhancing Ca availability and absorption in the gut might be useful. The gut microflora plays a major protective function, maintaining integrity of the intestinal mucosa. Intestinal barrier dysfunction leads to a progressive increase of mucosal permeability, which facilitates pathogen infections (Lambert, 2009). As a hen gets older, its gut microflora changes and the gut mucosal system becomes more susceptible to lose its integrity (Burel and Valat, 2009). Damaging the intestinal integrity encourages pathogenic gut bacteria at the expense of beneficial bacteria. Adding beneficial feed additives to the

diet can recover the intestinal integrity, improve gut health, and thus increase nutrient availability and absorption (Awad *et al.*, 2009; Abdelqader *et al.*, 2013). Bamboo charcoal is known as a universal adsorbent, because it contains a complex network of pores of various shapes and sizes (Zhao *et al.*, 2008). It has been used in powder form as an oral antidote to reduce the absorption of poison from the gastrointestinal tract (Anjaneyulu *et al.*, 1993). When activated charcoal was added to diets, the body weight gain and feed efficiency of chickens tended to increase (Samanya and Yamauchi, 2002). Bamboo vinegar liquid is an acidic by-product of bamboo charcoal production. It includes more than 200 accessory ingredients, including phenolics, alkanes, alcohols, aldehydes, and various organic acids (Kimura *et al*., 2002; Lin *et al.*, 2008). The main components of bamboo vinegar are acetic acid and water, which contribute 3.5%–4% and 80%–90%, respectively (Velmurugan *et al*., 2009). The acid in wood vinegar enhances the growth of *Bifidobacterium* and *Enterococcus* but inhibits the growth of *Salmonella* species (Watarai and Tana, 2005). In addition, dietary vinegar enhances intestinal Ca absorption in rats by improving Ca solubility and by the trophic effect of the acetic acid contained in vinegar (Kishi *et al.*, 1999). A mixture of bamboo charcoal powder and bamboo vinegar liquid (BCV) has been recently formulated and tested as animal feed supplement. BCV has been shown to induce a significant increase in egg production by stimulating intestinal functions of laying hens in the early phase of production (Yamauchi *et al.*, 2010). However, effects of BCV on production performance and eggshell quality of laying hens in the late phase of production have not yet been investigated. In this study, the effects of BCV treatment on performance, eggshell quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora populations, were examined in aged laying hens.

Materials and Methods

Birds and management

All experiments were performed according to the humane care guidelines for the use of animals in experimentation, as provided by the Prince of Songkla University, Thailand. A total of 200 55-week-old ISA Brown hens, obtained from a commercial source, were placed in a poultry house in cages (two birds per cage) on a wire-mesh floor at ambient temperature. The cage dimensions were 40 cm × 45 cm × 35 cm, equating to 1800 cm^2 total floor space per cage. During the pre-experimental period (55 to 60 weeks of age), the hens were fed *ad libitum* with a conventional layer mash diet, and the daily egg production and the egg weights were recorded.

At 60-week-old, the hens were randomly assigned to one of four treatments, each comprising 5 replicates, and 10 birds in each replicate. The replicates had initially similar mean body weights and egg production levels. During the experiment, the hens had free access to mash feed and water and were exposed to a 16 L:8 D lighting schedule. The composition of the basal diet is given in Table 1. The control group was fed a basal diet, and the other groups were fed the basal diet supplemented with BCV at 0.5, 1.0 or 1.5%. Commercial BCV was produced by the company (Shikoku Tekuno Co., Ltd, Kagawa, Japan) as follows: bamboo vinegar was obtained as condensate by cooling smoke during the making of bamboo charcoal from moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) by dry distillation at 700 ºC in an airless condition, and it was stored for one year. Then, the skimmed solution was distilled to remove harmful substances such as tar. This bamboo vinegar compound was absorbed into bamboo charcoal powder, in the ratio 3 L/8 kg. Chemical properties of bamboo vinegar and composition of bamboo charcoal powder are presented in Tables 2 and 3, respectively

(as provided by the manufacturer). The hens were fed an experimental diet until 72 weeks of age.

Performance and egg quality

Body weight was measured at the commencement (60 weeks of age) and the end (72 weeks of age) of the trial. Laying performance was determined every 4 weeks by monitoring egg production, egg weight, egg mass, damaged egg rate, feed intake and feed efficiency. Eggs were collected daily and the weight was recorded to calculate mean egg weight. Egg production was expressed on a hen-day basis (%hen-day). The collected eggs were classified as either normal or damaged for calculating the damaged egg rate; the latter included misshapen eggs, broken eggs and shell-less eggs. Egg mass was calculated by multiplying egg weight by egg production. Feed intake was determined by subtracting the remaining feed from the original amount of feed at the end of each week. Feed efficiency was calculated by dividing egg mass by the feed intake. Egg quality was assessed from measured egg weight, eggshell strength, eggshell weight, eggshell percent, eggshell thickness, albumen weight, yolk weight, yolk colour, and the Haugh unit of each egg, obtained on the final day of each four-week period of the experiment. The weight of the collected eggs from each group was recorded. The eggshell breaking strength was measured using an eggshell strength tester (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan), and the maximum force required to crack the shell surface was recorded. After the eggs were broken on a plate, the weights of the shell, albumen and egg yolk were measured using an electronic digital balance. Eggshell percent was calculated by dividing dry shell weight by egg weight and multiplying by 100. Eggshell thickness was estimated as the mean from three measured locations (air cell, equator and sharp end), and was measured by a digital micrometer (Mitutoyo

Corporation, Kanagawa, Japan). Yolk color and Haugh units were automatically measured using the digital egg tester (DET6000, NABEL Co., Ltd, Kyoto, Japan).

Intestinal microflora analyses

Ileal digesta contents (5 samples/diet; each pooled from 4 birds) were collected at the end of the experiment and then aseptically placed in sterile bags, later blended to obtain a homogeneous mass of digesta, and a 1 g sample was transferred to a test tube. Samples were taken to assays within 1 h after collection. Each sample was mixed with 9 mL sterile 0.9% NaCl, and homogenized at 2,500 rpm for 1 min. Homogenates of digesta samples were then serially diluted from 10^{-2} to 10^{-6}. One-tenth milliliter of each diluted sample was coated on the appropriate agar media, in duplicate for enumeration of the selected microbial populations. Bacterial counts were performed for the appropriate dilutions. *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. were assessed using Eosin Methylene Blue agar and *Salmonella-Shigella* agar, respectively. The colonies on each plate were counted after incubation in an aerobic chamber at 37 ºC for 24 h. Colony forming units (CFUs) were defined as being distinct colonies measuring at least 1 mm in diameter. Results are expressed as log 10 CFU/g of fresh sample.

Tissue sampling and measurement

At the end of feeding period (72 weeks of age), 5 birds per group were used for morphometrical and histological observations of the villi in each intestinal segment. After decapitation, their intestine and cecum were removed. The midpoint of the duodenum, the midpoint between the bile duct entry and Meckel's diverticulum (jejunum) and the midpoint between Meckel's diverticulum to the ileo-caecal junction (ileum) were fixed in 10% neutral-buffered formalin. After dehydration in graded

alcohol, each intestinal segment was embedded in Paraplast. Transverse 4 μm sections were cut, and stained with haematoxylin and eosin. Villus height and villus area were determined at a 10× magnification using a light microscope. Villus height was measured from the villus tip to the bottom. The mean villus height from 5 birds (16 villi from 8 different sections in each segment per bird) is given as the mean villus height for one group. Villus area was calculated from the villus height, basal width and apical width. A total of 16 calculations of the villus area were made for each bird. The average of these was recorded as the mean for each bird. Finally the mean across 5 birds was calculated and considered the mean villus area for one group.

Statistical analysis

All of the experimental data were statistically analyzed using one-way ANOVA, and significant differences between treatments were determined with Duncan's multiple range test using the SPSS program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The results are expressed as the mean and the pooled standard error of the mean (SEM). $P < 0.05$ was considered significant, and $P < 0.10$ was considered a tendency.

Results

Laying performance

Laying performance is summarized in Table 4. There were no significant differences in body weight changes, egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed efficiency between the hens fed BCV-supplemented diets and those fed the control diet, either during the experimental feeding phases or across the whole experiment ($P > 0.05$). During the late feeding stage (weeks 69 to 72), the rate of

damaged eggs decreased significantly ($P < 0.05$) in the 1.0 and 1.5% BCV groups compared with controls, and the damaged egg rate tended to be lower ($P < 0.10$) in the 1.0 and 1.5% BCV groups for the whole experiment.

Egg quality traits

The effects of dietary BCV supplementation on egg quality in laying hens are presented in Table 5. No significant differences were found between the groups with respect to eggshell weight, eggshell percent, albumen weight, yolk weight, yolk color, and egg albumen quality expressed in Haugh units. Eggshell thickness was significantly ($P < 0.05$) improved in hens fed the 1.5% BCV diet, whereas the 1.0% BCV group was intermediate. Eggshell strength tended to be higher in the 1.0 and 1.5% BCV groups than in the controls ($P < 0.10$).

Ileal microflora population

The population of ileal *E. coli* decreased ($P < 0.01$) with BCV supplementation and the *E. coli* numbers were strongly reduced in 1.0 and 1.5% BCV groups (Table 6). The number of ileal *Salmonella* spp. in hens fed 1.0 and 1.5% BCV diets was lower ($P < 0.01$) than in hens fed the control or 0.5% BCV diets.

Intestinal villi morphology

Data on intestinal villi morphology are presented in Table 7. Villus height and villus area of duodenum were higher in hens fed the 1.0 and 1.5% BCV diets ($P < 0.01$), while villus height and area of jejunum were higher in hens fed the BCV diets ($P < 0.05$). There were no significant differences in ileal villus height and area between hens fed BCV-supplemented diets and hens fed the control diet.

Discussion

In our previous study, supplementing the diet with 0.5 and 1.0% BCV tended to improve egg production of laying hens in the early phase of production (weeks 22 to 39) (Yamauchi *et al.*, 2010). Such effects were attributed to the beneficial effects of BCV in stimulating intestinal functions. In the present study, although egg production did not improve with feeding BCV, the rate of damaged eggs was significantly reduced in hens fed 1.0 and 1.5% BCV diets during the late laying period, from 69 to 72 weeks of age, and tended ($P = 0.073$) to be lower in these groups for the whole experiment. Decrease in the damaged egg rate with BCV supplementation, as observed in the present study, primarily reflected improved eggshell quality, including eggshell thickness and eggshell strength. Eggshell thickness increased in the hens fed the 1.5% BCV diet, and eggshell strength tended ($P = 0.069$) to be higher in the hens fed the 1.0 and 1.5% BCV diets. The positive effects of BCV in feed on eggshell quality could be attributed to the beneficial effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar liquid on the gastrointestinal tract, which may help to assimilate more nutrients, particularly to absorb Ca. Bamboo charcoal reportedly has higher adsorption capacity than wood charcoal, because of the special micro-pore structure of bamboo stems (ChungPin *et al.*, 2004); bamboo charcoal is known to have about 4 times more cavities, 3 times more mineral content and 4 times better absorption rate (Zhao *et al.*, 2008). Watarai and Tana (2005) reported that activated charcoal from the bark given orally could reduce intestinal *Salmonella enterica* serovar Enteritidis carriage and minimize the removal of normal bacterial flora (*Enterococcus faecium*) in the intestinal tract. They also reported that wood vinegar liquid inhibited *S.* Enteritidis growth, whereas growth of *E. faecium* and *Bifidobacterium thermophilum* was enhanced by it. Acetic acid is the main organic acid

component in bamboo vinegar. It can control the balance of intestinal microflora and pathogens (Sorrells and Speck, 1970) and affects intestinal functions and metabolism (Lutz and Scharrer, 1991). The results of some experiments with layers and old breeder hens have demonstrated that organic acids may improve the utilization of minerals and can positively affect eggshell quality (Park *et al*., 2002; Sengor *et al*., 2007). One contributing mechanism is the reduction of gastrointestinal pH, which increases the activity of digestive enzymes and the solubility of minerals (Swiatkiewicz *et al*., 2010). Dietary inclusion of organic acids is also reported to decrease intestinal pH and increase Ca solubility, which increases Ca level in blood and improves eggshell quality (Abdel-Fattah *et al*., 2008; Soltan, 2008). In this study, therefore, BCV may have improved eggshell quality through several possible mechanisms, including decreasing gut pH, selecting for beneficial intestinal organisms, inhibiting the growth of pathogens, and enhancing the digestion and utilization of minerals.

In the present study, intestinal villus height and area in the duodenum and the jejunum of aged laying hens increased when feeding BCV at 1.0 and 1.5% levels. An increased villus size provides greater absorptive surface area and a better capacity for absorbing available nutrients. The increased villus absorptive area could also increase Ca absorption. Gilmore and Ferretti (2003) reported that villus height is increased by the enhanced efficiency of digestion and absorption in the small intestine, when a population of beneficial bacteria supplies nutrients and stimulates vascularisation and development of the intestinal villi. Beneficial bacteria, such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* can enhance the metabolism of host birds and improve gut efficiency by increasing nutrient absorption (Gabriel *et al*., 2006). In contrast, harmful bacteria damage the villi and microvilli in intestinal mucosa and inhibit the secretion of digestive

enzymes (Xu *et al*., 2003). Choct (2009) found shorter villi when the counts of pathogenic bacteria increased in the gastrointestinal tract, resulting in fewer absorptive and more secretory cells. In the current study, the ileal *E. coli* and *Salmonella* spp. populations decreased on feeding aged laying hens with 1.0 and 1.5% BCV. This may be due to the organic acids in bamboo vinegar reducing the growth of pathogenic bacteria. This might reduce intestinal colonization and slow down infectious processes, thereby decreasing the inflammations in the intestinal mucosa, which improves villus height and its functions of secretion, digestion and absorption of nutrients. Increased villus size in the duodenum and jejunum are indicators that the function of the intestinal villi is activated by BCV in the feed. The present results show that 1.0 and 1.5% BCV could effectively stimulate intestinal function in the duodenum and jejunum, but there were no observed significant effects on the ileum. This may be explained by the fact that under normal circumstances the major absorption of nutrients occurs in the duodenum and jejunum (Noy and Sklan, 1995), while the ileum appears to have relatively less intestinal absorptive function (Yamauchi *et al.*, 1996).

In conclusion, 1.0 and 1.5% dietary BCV increased the size of intestinal villi in the duodenum and jejunum, decreased ileal pathogenic bacteria counts, and improved eggshell quality. The results of this study demonstrate that a level of 1.0% BCV in a layer's diet is sufficient for reducing the rate of damaged eggs, and dietary supplementation of BCV at 1.5% can improve eggshell thickness in aged laying hens.

Acknowledgements

This research was supported by grant from the Prince of Songkla University (no. SIT570776S-0). The authors would like to thank Associate Professor Seppo Karrila, Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Thailand, for critically reading the manuscript and valuable comments.

References

Abdel-Fattah SA, El-Sanhoury MH, El-Mednay NM and Abdel-Azeem F. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. International Journal of Poultry Science, 7: 215–222. 2008.

Abdelqader A, Al-Fataftah AR and 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. Animal Feed Science and Technology, 179: 103-111. 2013.

Al-Batshan HA, Scheideler SE, Black BL, Garlich JD and Anderson KE. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. Poultry Science, 73: 1590-1596. 1994.

Anjaneyulu Y, Rama Rao P and Gopal Naidu NR. Experimental aflatoxicosis and its amelioration by activated charcoal in broiler chicken-study on performance and haematology. Journal of Veterinary and Animal Science, 24: 51-54. 1993.

Awad WA, Ghareeb K, Abdel-Raheem S and Bohm J. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry Science, 88: 49-55. 2009.

Burel C and Valat C. The effect of the feed on the host-microflora interactions in poultry: an overview, in: Aland A, Madec F, (Eds.), Sustainable animal production. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 365-385. 2009.

Choct M. Managing gut health through nutrition. British Poultry Science, 50: 9-15. 2009.

ChungPin H, DehJen H, Song Yung W, Ingluen S and Chunhan K. Effect of carbonization conditions on indoor air purification of bamboo charcoal. Forest Products Industries, 23: 183-197. 2004.

Gabriel I, Lessire M, Mallet S and Guillot JF. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. World's Poultry Science Journal, 62: 499-511. 2006.

Gilmore MS and Ferretti JJ. The thin line between gut commensal and pathogen. Science, 299: 1999-2002. 2003.

Harms RH and Waldroup PW. The effect of high dietary calcium on the performance of laying hens. Poultry Science, 50: 967-969. 1971.

Jiang S, Cui L, Shi C, Ke X, Luo J and Hou J. Effects of dietary energy and calcium levels on performance, egg shell quality and bone metabolism in hens. The Veterinary Journal, 198: 252-258. 2013.

Kimura Y, Suto S and Tatsuka M. Evaluation of carcinogenic/co-carcinogenic activity of chikusaku-eki, a bamboo charcoal by-product used as a folk remedy, in BALB/c 3T3 cells. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 25: 1026-1029. 2002.

Kishi M, Fukaya M, Tsukamoto Y, Nagasawa T, Takehana K and Nishizawa N. Enhancing effect of dietary vinegar on the intestinal absorption of calcium in ovariectomized rats. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 63: 905-910. 1999.

Lambert GP. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. Journal of Animal Science, 87: E101–E108. 2009.

Lin HC, Murase Y, Shiah TC, Hwang GS, Chen PK and Wu WL. Application of moso bamboo vinegar with different collection temperatures to evaluate fungi resistance of moso bamboo materials. Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University, 53: 107–113. 2008.

Lutz T and Scharrer E. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. Experimental Physiology, 76: 615-618. 1991.

Noy Y and Sklan D. Digestion and absorption in the young chick. Poultry Science, 74: 366-373. 1995.

Nys Y. Recent development in layer nutrition for optimising shell quality. In: proceedings of 13th European symposium of poultry nutrition, Blankenberge, Belgium, 45-52. 2001.

Park JH, Park GH and Ryu KS. Effect of feeding organic acid mixture and yeast culture on performance and egg quality of laying hens. Korean Journal of Poultry Science, 29: 109-115. 2002.

Samanya M and Yamauchi K. Morphological demonstration of the stimulative effects of charcoal powder including wood vinegar compound solution on growth performance and intestinal villus histology in chickens. The Journal of Poultry Science, 39: 42-55. 2002.

Sengor E, Yardimci M, Cetingul S, Bayram I, Sahin H and Dogan I. Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. South African Journal of Animal Science, 37: 158-163. 2007.

Soltan MA. Effect of organic acid supplementation on egg production, egg quality, and some blood serum parameters in laying hens. International Journal of Poultry Science, 7: 613-621. 2008.

Sorrells KM and Speck ML. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. Journal of Dairy Science, 53: 239-241. 1970.

Swiatkiewicz S, Koreleski J and Arczewska A. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. Czech Journal of Animal Science, 55: 294-306. 2010.

Velmurugan N, Chun SS, Han SS and Lee YS. Characterization of chikusaku-eki and mokusaku-eki and its inhibitory effect on sapstaining fungal growth in laboratory scale. International Journal of Environmental Science and Technology, 6: 13-22. 2009.

Watarai S and Tana. Eliminating the carriage of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in domestic fowls by feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-rich). Poultry Science, 84: 515-521. 2005.

Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA and Wang MQ. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science, 82: 1030-1036. 2003.

Yamauchi K, Kamisoyama H and Isshiki Y. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. British Poultry Science, 37: 909-921. 1996.

Yamauchi K, Ruttanavut J and Takenoyama S. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid on chicken performance and histological alterations of intestine. Journal of Animal and Feed Science, 19: 257-268. 2010.

Zhao RS, Yuan JP, Jiang T, Shi JB and Cheng CG. Application of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the determination of atrazine and simazine in environmental water samples by high-performance liquid chromatography-ultraviolet detector. Talanta, 76: 956-959. 2008.

Table 1. **Feed formulation and chemical composition of the experimental diet**

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	53.63
Soybean meal	24.35
Rice bran	5.35
Fish meal	3.00
Oyster shell	8.44
Dicalcium phosphate	1.57
Plant oil	2.86
DL-Methionine	0.20
Salt	0.30
Premix[1]	0.30
Calculated analysis	
Crude protein	17.50
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	5.90
Calcium	4.00
Available phosphorus	0.40
Lysine	0.93
Methionine	0.50

[1]Premix: 2.0 MIU vitamin A, 0.32 MIU vitamin D_3, 2,000 mg vitamin E, 330 mg vitamin K_3, 220 mg vit B_1, 450 mg vitamin B_2, 4.5 mg vitamin B_{12}, 600 mg niacin, 100 mg copper, 150 mg iodine, 130 mg cobalt, 10 g iron, 8.8 g manganese, 8.8 g zinc, 25 g preservative, up to 1 kg filter.

Table 2. **Chemical properties of bamboo vinegar compound liquid**

Item	Composition (%)
Total organic content	11.37
Acetic acid	2.87
Methanol	0.07
Formaldehyde	0.003
Phenol	0.177
Cresol	0.043
Tar	0.73
pH	3.25

Table 3. **Composition of bamboo charcoal powder**

Item	Composition (%)
Ash	6.35
Nitrogen	0.57
Phosphate	1.06
Potassium	2.10
Silicon dioxide	1.20

Table 4. **Effects of bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV) on performance of laying hens during 60-72 weeks of age**

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Body weight changes (g)	202.50	196.50	183.90	192.10	13.04	0.972
Egg production (%)						
61-64 week	91.42	90.47	92.38	86.77	1.53	0.626
65-68 week	94.28	92.85	92.86	92.21	1.37	0.966
69-72 week	80.18	82.85	85.00	84.50	1.62	0.752
61-72 week	88.63	88.72	90.08	87.83	1.16	0.936
Egg weight (g)						
61-64 week	59.15	60.32	59.85	60.12	0.37	0.662
65-68 week	62.17	60.91	60.75	61.22	0.60	0.847
69-72 week	61.02	60.82	60.63	61.03	0.52	0.870
61-72 week	60.78	60.68	60.41	60.79	0.48	0.990
Egg mass (g/hen/day)						
61-64 week	54.07	54.57	55.28	52.16	1.19	0.409
65-68 week	58.61	56.55	56.41	56.45	1.05	0.775
69-72 week	48.92	50.38	51.53	51.57	1.00	0.925
61-72 week	53.87	53.83	54.41	53.39	0.73	0.910
Damaged egg rate (%)						
61-64 week	1.79	2.16	1.31	1.32	0.22	0.499
65-68 week	2.17	1.52	0.98	0.51	0.30	0.240
69-72 week	2.31[a]	2.57[a]	0.50[b]	0.77[b]	0.30	0.016
61-72 week	2.09	2.08	0.93	0.86	0.23	0.073
Feed intake (g/d)						
61-64 week	100.32	101.97	100.45	103.45	1.76	0.928
65-68 week	110.38	107.97	105.75	109.46	1.53	0.762
69-72 week	115.30	112.48	107.52	104.53	2.01	0.235
61-72 week	108.66	107.47	104.57	105.81	1.30	0.730

Feed efficiency (g of egg mass/g of feed consumed)						
61-64 week	0.538	0.535	0.550	0.504	0.008	0.323
65-68 week	0.530	0.523	0.533	0.515	0.007	0.781
69-72 week	0.424	0.447	0.479	0.493	0.008	0.425
61-72 week	0.497	0.501	0.520	0.504	0.006	0.838

[a,b]Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 5 replicates.

Table 5**. Effects of dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV) on egg quality traits of laying hens from 61 to 72 weeks of age**

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Egg weight (g)	60.20	60.40	60.30	60.80	0.24	0.706
Eggshell weight (g)	6.55	6.53	6.62	6.73	0.08	0.838
Eggshell percent (%)	10.88	10.81	11.01	11.06	0.13	0.810
Eggshell thickness (mm)	0.371^{b}	0.368^{b}	0.374^{ab}	0.393^{a}	0.380	0.048
Eggshell strength (kg/cm^2)	3.27	3.25	3.60	3.92	0.11	0.069
Albumen weight (g)	37.59	37.68	37.58	37.81	0.32	0.909
Yolk weight (g)	16.06	16.19	16.10	16.26	0.21	0.955
Yolk color	8.10	8.06	8.16	8.28	0.08	0.804
Haugh unit	81.85	80.75	81.70	82.43	0.85	0.930

^{a,b}Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 5 replicates.

Table 6. **Ileal microflora counts of hens fed 0, 0.5, 1.0 and 1.5% dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV) (log10 cfu/g of wet digesta)**

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Escherichia coli	3.91[a]	3.89[b]	3.84[c]	3.86[c]	0.01	0.002
Salmonella spp.	3.41[a]	3.36[a]	3.26[b]	3.23[b]	0.02	0.001

[a,b,c]Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 5 replicates.

Table 7. **Villus height and villus area of the duodenum, jejunum and ileum in hens fed 0, 0.5, 1.0 and 1.5% dietary bamboo charcoal powder including vinegar liquid (BCV)**

Parameters	Dietary BCV (%)				SEM	P-value
	0	0.5	1.0	1.5		
Villus height (mm)						
Duodenum	1.41[b]	1.40[b]	1.46[a]	1.44[a]	0.01	0.003
Jejunum	0.90[b]	0.93[a]	0.94[a]	0.93[a]	0.01	0.040
Ileum	0.48	0.48	0.49	0.49	0.01	0.950
Villus area (mm^2)						
Duodenum	0.121[b]	0.120[b]	0.125[a]	0.126[a]	0.002	0.001
Jejunum	0.080[b]	0.085[a]	0.086[a]	0.084[a]	0.001	0.020
Ileum	0.036	0.036	0.038	0.037	0.001	0.543

[a,b]Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Values are means of 5 replicates.