รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่

Effects of silicic acid powder containing bamboo vinegar supplementation on performance, egg quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora population of laying hens

นักวิจัย

ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

ทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

88.T5

9

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ SIT570350S

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่

Effects of silicic acid powder containing bamboo vinegar supplementation on performance, egg quality, alterations of intestinal villi and intestinal microflora population of laying hens

คณะผู้วิจัย	หน่วยงาน
ดร. เจษฎา รัตนวุฒิ	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดย เงินรายได้มหาวิทยาลัย ประเภททั่วไป ประจำปี 2557
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สัญญาเลขที่ SIT570350S

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ การเปลี่ยนแปลงของวิลไล และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ไข่ ได้ดำเนินการและสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประเภททั่วไป ประจำปี 2557 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ SIT570350 และได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ในการใช้สถานที่ ห้องปฏิบัติการเครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับการวิจัย รวมทั้งอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณบุคลากรและนักศึกษาของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทำวิจัย

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบผลการใช้ร่วมกันของกรดซิลิซิกและน้ำส้มควันไม้ไผ่ (silicic acid powder containing bamboo vinegar, SPV) ในอาหารต่อสมรรถภาพ คุณภาพไข่ ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 25 สัปดาห์ จำนวน 80 ตัว โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 4 ตัว ทำการเลี้ยงไก่ด้วยอาหารทดลองที่เสริมด้วย SPV ที่ระดับ 0, 0.2, 0.4 และ 0.6% เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริม SPV ในอาหารที่ระดับ 0.2% มีผลทำให้ผลผลิตไข่ที่อายุ 34-37 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีมวลไข่ที่อายุ 38-41 สัปดาห์ มากที่สุด ($P<0.05$) การเสริม SPV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพไข่ ($P>0.05$) การเสริม SPV มีแนวโน้มทำให้เชื้ออีโคไล และซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง ($P<0.1$) การเสริม SPV ที่ระดับ 0.2% มีผลทำให้ความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนกลาง และขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางเพิ่มมากขึ้นที่สุด ($P<0.05$) ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าควรใช้ SPV ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0.2%

คำสำคัญ: กรดซิลิซิกผง น้ำส้มควันไม้ไผ่ ไก่ไข่ จุลินทรีย์ ลำไส้เล็ก

Abstract

A study was conducted to investigate the effects of dietary inclusion of silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) on performance, egg quality, intestinal microflora and small intestine morphology in laying hens. Eighty ISA Brown laying hens, 25 weeks of age, were randomly divided into 4 treatment groups, with 5 replicates per treatment and 4 hens per replicate. They were fed *ad libitum* a basal diet supplemented with SPV at 0, 0.2, 0.4 or 0.6% level, for 16 weeks. Egg production significantly increased with the 0.2% SPV diet for hens 34-37 weeks old, while egg mass was highest for hens fed the 0.2% SPV diet in 38-41 weeks age range ($P<0.05$). Egg quality traits were not significantly affected by SPV ($P>0.05$). In the ileal content, populations of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. tended to decrease with SPV in the diet ($P<0.10$). Villus height of jejunum and villus area of duodenum and jejunum were highest in the birds fed the 0.2% SPV diet ($P<0.05$). The results suggest that the SPV could be used at a level of 0.2% in laying diet.

Key words: silicic acid powder, bamboo vinegar, laying hen, microorganism, small intestine

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	จ
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	7
ผลการทดลอง	10
วิจารณ์ผลการทดลอง	15
สรุปผลการทดลอง	17
เอกสารอ้างอิง	18
ภาคผนวก	20

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่	3
ตารางที่ 2 สูตรอาหารและส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	8
ตารางที่ 3 ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่	11
ตารางที่ 4 ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อคุณภาพไข่	13
ตารางที่ 5 ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลายของไก่ไข่	13
ตารางที่ 6 ผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้	14

บทนำ

การผลิตสัตว์ปีกในปัจจุบันได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์กันอย่างกว้างขวางเพื่อที่จะปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตและประสิทธิภาพการใช้อาหารให้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม การใช้ยาปฏิชีวนะในระดับต่ำอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานได้ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา เช่น เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ รวมทั้งเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์และมนุษย์ ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นในการค้นหาทางเลือกที่มีประสิทธิภาพเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ สำหรับทางเลือกต่างๆ ที่มีการใช้เพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะ ได้แก่ โปรไบโอติค พรีไบโอติค เอนไซม์ ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ฯลฯ สารเพิ่มความเป็นกรด (acidifiers) เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารในสัตว์ปีก Samanta et al. (2010) ได้กล่าวว่า จุดประสงค์ที่สำคัญของการใช้สารเพิ่มความเป็นกรดในอาหาร คือ การยับยั้งแบคทีเรียในลำไส้ที่แก่งแย่งโภชนะจากตัวสัตว์ ดังนั้น จึงมีผลทำให้น้ำหนักของตัวสัตว์เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคก็มีผลดีต่อสุขภาพของสัตว์ด้วยเช่นกัน

น้ำส้มควันไม้ไผ่เป็นผลิตผลที่ได้จากการเผาถ่านไม้ไผ่ เป็นสารเพิ่มความเป็นกรดชนิดหนึ่ง น้ำส้มควันไม้ไผ่ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ กรดอะซิติก สารประกอบฟีนอล คีโตน และอัลดีไฮด์ โดยพบว่ามีกรดอะซิติกประกอบอยู่ประมาณ 80% ของสารอินทรีย์ทั้งหมด Watarai and Tana (2005) ได้รายงานไว้ว่า กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ในขณะที่ Akakabe et al. (2006) ก็ได้รายงานไว้ว่า น้ำส้มควันไม้ไผ่มีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าแมลง ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

สารเพิ่มความเป็นกรดอีกชนิดหนึ่ง คือ กรดซิลิซิก ซึ่งเป็นกรดอ่อนที่พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่อยู่ในผนังเซลล์ เป็นที่ทราบกันดีว่ากรดซิลิซิกเป็นรูปแบบหนึ่งที่ใช้ประโยชน์ได้ (active form) ของธาตุซิลิกอน (silicon) McDowell (1992) ได้รายงานว่า ซิลิกอนในระดับ 50-500 ppm เป็นระดับที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกระดูกในลูกไก่ สารเพิ่มความเป็นกรดทั้งสองชนิดนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติ ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยเมื่อนำมาใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ สามารถใช้ได้ตลอดอายุของการเลี้ยงสัตว์ และไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมกรดซิลิซิกในรูปแบบผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการใช้ในการผลิตสัตว์ที่ปลอดภัยตรงตามความต้องการของผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลการเสริมกรดซิลิซิกแบบผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ของไก่ไข่

2. ศึกษาผลการเสริมกรดซิลิซิกแบบผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum)

3. ศึกษาผลการเสริมกรดซิลิซิกแบบผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาหาระดับการใช้ที่เหมาะสมของกรดซิลิซิกแบบผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับต่างๆ (0, 0.2, 0.4 และ 0.6%) ต่อปริมาณอาหารที่กิน ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ คุณภาพไข่ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ในช่วงอายุ 26-41 สัปดาห์

การตรวจเอกสาร

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) ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำส้มควันไม้ไผ่แสดงในตารางที่ 1 Velmurugan et al. (2009) ได้รายงานว่า น้ำส้มควันไม้ไผ่มีความเข้มข้นของสารประกอบฟีโนลิกมากกว่าน้ำส้มควันไม้ทั่วไปประมาณ 3-4 เท่า สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่ได้รับความสนใจในปัจจุบันเนื่องจากมีผลต่อการป้องกันการหืน (antioxidant) ป้องกันการอักเสบ (anti-inflammatory) และมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค น้ำส้มควันไม้ไผ่ได้มีการใช้เป็นยาพื้นบ้านสำหรับการรักษาโรคผิวหนัง ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ รวมทั้งใช้เป็นสารดับกลิ่น การนำไปใช้ส่วนใหญ่จะทำการผสมด้วยน้ำ

Table 1 Chemical properties of bamboo vinegar liquid[1]

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

[1]Analysed in triplicate samples

การทำให้น้ำส้มควันไม้บริสุทธิ์

น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากการควบแน่นจากกระบวนการผลิตถ่านยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที เนื่องจากการเปลี่ยนเป็นถ่านไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมกันทั้งเตา ดังนั้นควันที่ออกมาจากปล่องควันจึงเป็นควันที่ผสมกัน

ระหว่างควันอุณหภูมิต่ำและสูง 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

น้ำส้มควันไม้แตกต่างจากน้ำส้มสายชูหรือน้ำส้มอื่นๆ ที่ได้จากการหมักหรือสารสังเคราะห์อื่นๆ คือ มีสารประกอบต่างๆ หลากหลายกว่า น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากไม้ต่างชนิดก็จะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยทั่วไปน้ำส้มควันไม้มีสารประกอบที่สำคัญได้แก่ น้ำประมาณ 85% กรดอินทรีย์ 3% และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 12% มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ประมาณ 3 และความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.012-1.024 ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของไม้ที่นำมาเผาถ่าน (จิระพงษ์, 2553)

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 ทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ดีขึ้นทั้งรสชาด สี และกลิ่น
5) ช่วยยับยั้งการเกิดแก๊สแอมโมเนีย และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ทำให้ลดกลิ่นของมูลสัตว์ ซึ่งช่วยให้สัตว์ไม่เครียด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยคอกที่ได้จากมูลสัตว์ให้ดีขึ้นด้วย
6) ช่วยยับยั้งการฟักไข่ของแมลงในมูลสัตว์ทำให้ลดปริมาณของแมลงในบริเวณฟาร์ม โดยเฉพาะแมลงวัน

Watarai and Tana (2005) ได้รายงานไว้ว่า กรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด ในขณะเดียวกันก็สามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ตามปกติได้ เช่น *Enterococcus faecium* และ *Bifidobacterium thermophilum*

กรดซิลิซิก (Silicic acid)

กรดซิลิซิกเป็นกรดอ่อน ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งที่ใช้ประโยชน์ได้ (active form) ของธาตุซิลิกอนทั้งในพืชและสัตว์ ซิลิกอนเป็นธาตุที่มีอยู่มากมายในโลก พบทั้งในดินและต้นพืช และสัตว์มักจะได้รับในปริมาณมาก ธาตุซิลิกอนจัดเป็นโภชนะที่จำเป็นสำหรับลูกไก่ เป็นแร่ธาตุที่ใช้ในการทำงานของเอนไซม์ prolylhydroxylase และ ornithine aminotransferase ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คอลลาเจน ซิลิกอนจึงมีส่วนช่วยทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของคอลลาเจนเป็นไปตามปกติ (McDowell, 1992) ซิลิกอนส่วนใหญ่ในอาหารจะอยู่ในรูปซิลิเกตซึ่งสัตว์ใช้ประโยชน์ได้น้อย ดังนั้นการใช้ในรูปของกรดซิลิซิกจึงทำให้สัตว์สามารถย่อยและใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น เพิ่มศักดิ์ (2546) ได้รายงานว่าซิลิกอนมีส่วนเกี่ยวข้องในขั้นตอนการสะสมแร่ธาตุในกระดูก อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติจะพิจารณาถึงผลกระทบจากการที่สัตว์ได้รับซิลิกอนมากเกินไปมากกว่าที่จะพิจารณาถึงการขาดธาตุชนิดนี้ Calisle (1981) ได้รายงานว่า การขาดธาตุซิลิกอนอาจทำให้เกิดความผิดปกติของกระดูกได้ และการให้ซิลิกอนที่เพียงพอก็จะทำให้การเจริญเติบโตของไก่โดยเฉพาะช่วงไก่รุ่นเป็นไปตามปกติ

งานทดลองของ Chu et al. (2013) ได้รายงานว่า การใช้น้ำส้มควันไม้ไผ่เสริมในอาหารสุกรขุนที่ระดับ 0.3% มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตของสุกรเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Ruttanavut et al. (2012) ก็ได้รายงานไว้ว่า การใช้กรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ที่ระดับ 0.1, 0.2 และ 0.3% มีแนวโน้มทำให้น้ำหนักตัวของไก่โคชินเพศผู้เพิ่มขึ้น และน้ำหนักเพิ่มสูงสุดในกลุ่มที่ใช้ที่ระดับ 0.3% ของอาหาร อย่างไรก็ตาม งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้กรดซิลิซิกร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในไก่ไข่ยังไม่มีรายงานการใช้ การวิจัยครั้งนี้จึงได้กระทำในไก่ไข่โดยเป็นการศึกษาถึงผลของการใช้กรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ งานวิจัยของ Yamauchi (2007) ได้รายงานไว้ว่า ส่วนประกอบของอาหารที่สัตว์กินเข้าไปมีผลกระทบโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะมีผลต่อเนื่องต่อการย่อยและการดูดซึมโภชนะ ดังนั้น การดำรงรักษาสิ่งแวดล้อมในลำไส้ให้อยู่ในสภาพที่ดีจะเป็นปัจจัยสำคัญที่จะช่วยส่งเสริมการทำหน้าที่ของลำไส้ ด้วยเหตุนี้การเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ก็อาจจะมีผลช่วยในการรักษาสภาพแวดล้อมในลำไส้ให้อยู่ในสภาวะสมดุล (สภาพความเป็นกรดช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์) ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อการย่อยและการดูดซึมโภชนะ รวมทั้งมีผลต่อสุขภาพและการให้ผลผลิตของไก่ไข่

วิธีการทดลอง

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

การศึกษาผลของการเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ (Silicic acid powder containing bamboo vinegar, SPV) ในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ของไก่ไข่ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 25 สัปดาห์ จำนวน 80 ตัว ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม (treatment) แต่ละกลุ่มมี 5 ซ้ำๆ ละ 4 ตัว เลี้ยงไก่ทดลองในโรงเรือนเปิด ทำการทดลองในช่วงเดือนสิงหาคม-ธันวาคม โดยไก่จะได้รับอาหารทดลองที่ปลอดจากสารปฏิชีวนะ (Table 2) แล้วเสริมด้วย SPV 4 ระดับ คือ 0, 0.2, 0.4 และ 0.6% ของอาหาร สำหรับ SPV ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ถูกผลิตขึ้นในบริษัท (Shikoku Tekuno Co., Ltd, Kagawa, Japan) โดยการผสมน้ำส้มควันไม้ไผ่ 3 ลิตร กับกรดซิลิซิกผง 5 กิโลกรัม ไก่ทดลองจะได้รับอาหารตามคำแนะนำของบริษัทและให้น้ำตลอดเวลา ให้วัคซีนต่างๆ ตามโปรแกรม และได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 4 ช่วงๆ ละ 4 สัปดาห์

การวัดสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

ทำการทดสอบสมรรถภาพการผลิตทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบปริมาณอาหารที่กิน ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ยตลอดช่วงการทดลอง (น้ำหนักไข่ทั้งหมด/จำนวนไข่ทั้งหมด) มวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ทำการชั่งน้ำหนักตัวของไก่ไข่ก่อนเริ่มการทดลองและหลังจากสิ้นเสร็จการทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว สำหรับการตรวจสอบคุณภาพไข่จะกระทำทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตรวจสอบน้ำหนักฟองไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit โดยไข่ที่จะนำมาตรวจสอบคุณภาพจะเป็นไข่ที่เก็บในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง (period) น้ำหนักของไข่ เปลือกไข่ ไข่ขาวและไข่แดง จะทำการชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล ความหนาของเปลือกไข่จะทำการวัดด้วยเวอร์เนียไมโครมิเตอร์ โดยทำการวัด 3 จุด คือ ด้านป้าน ตรงกลาง ด้านแหลม และนำมาหาค่าเฉลี่ย ความสูงของของไข่ขาวทำการวัดด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ สำหรับสีของไข่แดงทำการวัดโดยการใช้พัดสี (Roche yolk color fan scores) ซึ่งมีระดับสีตั้งแต่ 1-15 โดย 1 คือ สีอ่อนสุด และ 15 คือ สีเข้มที่สุด สำหรับค่า Haugh unit ทำการคำนวณจากสูตร $100 \times \log (H + 7.57 - 1.7 \times W^{0.37})$ โดย H = ความสูงของไข่ขาว (มิลลิเมตร) และ W = น้ำหนักไข่ (กรัม)

Table 2. Feed formulation and chemical composition of experimental diet

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	59.50
Soybean meal (44% CP)	20.00
Rice bran	4.25
Fish meal (58% CP)	6.58
Oyster shell	5.63
Dicalcium phosphate (18% P)	2.04
Plant oil	1.00
DL-Methionine	0.20
Salt	0.30
Premix[†]	0.50
Calculated analysis	
Crude protein	18.00
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	4.93
Calcium	3.30
Available phosphorus	0.55
Lysine	0.97
Methionine	0.53

[†]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.

การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กส่วนปลาย

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

การวัดการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะทำการฆ่าไก่และเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กทั้งส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย เพื่อนำไปหาการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้เล็ก โดยเก็บซ้ำละ 1 ตัว โดยลำไส้เล็กในแต่ละส่วนจะถูกเก็บในสารละลาย 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 และนำไปวัดค่าความสูงและความกว้างของวิลไลด้วยกล้องจุลทรรศน์

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ สมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ จะนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป ผลการทดลองจะแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย ค่า $P<0.05$ จะถูกพิจารณาว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า $P<0.1$ จะถูกพิจารณาว่ามีแนวโน้ม

สถานที่ทำการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการที่ฟาร์มปฏิบัติการ และศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ผลการทดลอง

สมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่เลี้ยงด้วย SPV ที่ระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 3 การเสริม SPV ในอาหารไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักไข่เฉลี่ย และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ไข่ ($P>0.05$) แต่การเสริม SPV ที่ระดับ 0.2% ในอาหารมีผลทำให้ผลผลิตไข่ในช่วงอายุ 34-37 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และการเสริม SPV ที่ระดับ 0.2 และ 0.4% มีผลทำให้มวลไข่ในช่วงอายุ 38-41 สัปดาห์ เพิ่มมากขึ้นที่สุด ($P<0.05$) ในการทดลองครั้งนี้ไก่ไข่ทุกตัวมีสุขภาพดีและไม่มีการตายเกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง

คุณภาพไข่ของไก่ไข่ที่เสริมด้วย SPV ในอาหารที่ระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 4 การเสริม SPV ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่า Haugh unit ($P>0.05$)

จำนวนของแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนปลาย

จำนวนของเชื้ออีโคไล และเชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ในระหว่างกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5) แต่การเสริม SPV ในอาหารมีแนวโน้มทำให้เชื้ออีโคไลและเชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง ($P<0.1$)

การเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้

ความสูงและขนาดของวิลไลของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองแสดงในตารางที่ 6 การเสริม SPV ในอาหารที่ระดับ 0.2% มีผลทำให้ความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) และขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) และลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) เพิ่มมากขึ้นที่สุด ($P<0.05$)

Table 3 Effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) on performance of laying hens during 26-41 weeks of age

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Body weight changes (g)	145.32	142.15	135.71	122.52	11.46	0.814
Hen housed egg production (%)						
26-29 weeks	97.14	96.78	97.14	96.07	0.69	0.950
30-33 weeks	97.85	98.92	97.85	96.07	0.65	0.508
34-37 weeks	94.33^{bc}	98.57^{a}	97.49^{ab}	93.10^{c}	0.73	0.012
38-41 weeks	96.03	96.92	96.17	94.11	0.39	0.055
26-41 weeks	96.34	97.80	97.16	94.84	0.44	0.091
Egg weight (g)						
26-29 weeks	55.53	55.08	54.70	55.43	0.43	0.920
30-33 weeks	57.12	58.03	56.46	54.87	0.59	0.301
34-37 weeks	58.64	58.53	58.05	57.26	0.49	0.775
38-41 weeks	59.05	60.79	60.72	59.13	0.44	0.336
26-41 weeks	57.58	58.11	57.48	56.67	0.45	0.701
Egg mass (g/hen/day)						
26-29 weeks	53.93	53.35	53.18	53.27	0.66	0.982
30-33 weeks	55.91	57.42	55.31	52.77	0.85	0.293

Table 3 Effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) on performance of laying hens during 26-41 weeks of age (continued)

34-37 weeks	55.33	57.70	56.63	53.26	0.70	0.092
38-41 weeks	56.71[ab]	58.94[a]	58.40[a]	55.61[b]	0.49	0.046
26-41 weeks	55.48	56.85	55.85	53.74	0.60	0.309
Feed intake (g/d)						
26-29 weeks	109.00	108.10	108.29	107.50	0.87	0.953
30-33 weeks	116.25	117.21	115.71	111.10	1.01	0.115
34-37 weeks	113.61	114.14	113.25	108.10	1.21	0.261
38-41 weeks	114.14	113.10	113.81	112.32	1.26	0.963
26-41 weeks	113.25	113.14	112.76	109.75	0.67	0.213
Feed efficiency						
(egg mass/feed intake)						
26-29 weeks	0.495	0.494	0.491	0.496	0.007	0.990
30-33 weeks	0.481	0.490	0.473	0.475	0.006	0.816
34-37 weeks	0.486	0.506	0.500	0.494	0.005	0.562
38-41 weeks	0.498	0.522	0.514	0.495	0.007	0.598
26-41 weeks	0.490	0.502	0.495	0.490	0.005	0.795
Mortality (%) 26-41 weeks	0	0	0	0	-	-

[a, b, c] Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$). Values are means of 5 replicates.

Table 4 Effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) on egg quality traits of laying hens from 26 to 41 weeks of age

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Egg weight (g)	58.73	59.16	58.53	57.59	0.35	0.472
Shell weight (g)	6.46	6.50	6.58	6.26	0.04	0.190
Shell thickness (mm)	0.37	0.36	0.37	0.36	0.01	0.531
Albumen weight (g)	38.19	38.48	37.70	37.52	0.31	0.729
Yolk weight (g)	14.09	14.17	14.26	13.80	0.11	0.515
Yolk color	7.23	7.15	7.37	7.35	0.05	0.372
Haugh unit	84.18	83.85	84.16	84.29	0.29	0.950

Values are means of 5 replicates.

Table 5 Ileal microflora counts of chickens fed 0, 0.2, 0.4 and 0.6% dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) diets (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Escherichia coli	3.91	3.86	3.87	3.88	0.01	0.064
Salmonella spp.	3.38	3.32	3.29	3.27	0.01	0.057

Values are means of 5 replicates.

Table 6 Villus height and villus area of the duodenum, jejunum and ileum in chickens fed 0, 0.2, 0.4 and 0.6% dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar (SPV) diets

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Villus height (mm)						
Duodenum	1.32	1.38	1.34	1.28	0.01	0.059
Jejunum	0.89^{ab}	0.94^{a}	0.92^{ab}	0.86^{b}	0.01	0.013
Ileum	0.48	0.50	0.47	0.46	0.01	0.335
Villus area (mm^2)						
Duodenum	0.118^{ab}	0.122^{a}	0.119^{ab}	0.115^{b}	0.008	0.034
Jejunum	0.0743^{b}	0.083^{a}	0.080^{a}	0.073^{b}	0.002	0.002
Ileum	0.034	0.037	0.035	0.032	0.001	0.229

[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 SPV ในอาหารมีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อเพิ่มขึ้น (Rattanawut and Yamauchi, 2015) เนื่องจาก SPV ไปกระตุ้นการทำงานของวิลไลและเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เป็นการทดสอบผลของการเสริม SPV ในอาหารไก่ไข่ในช่วงอายุ 26-41 สัปดาห์ ต่อสมรรถภาพการผลิต จำนวนของจุลินทรีย์ในลำไส้ และการเปลี่ยนแปลงของวิลไลในลำไส้ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า การเสริม SPV ในอาหารที่ระดับ 0.2% มีผลทำให้ผลผลิตไข่ในช่วงอายุ 34-37 สัปดาห์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สมรรถภาพการผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม SPV ที่ระดับ 0.2% นั้นอาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากผลดีของน้ำส้มควันไม้ไผ่และกรดซิลิซิก น้ำส้มควันไม้ไผ่ที่รวมอยู่ใน SPV ประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 200 ชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีโนลิก โพลีฟีโนลิก และสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ สารประกอบฟีโนลิกได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีผลดีต่อสุขภาพเกี่ยวกับการป้องกันการหืน เป็นสารต่อต้านการเกิดมะเร็ง และสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (Viveros et al., 2011) นอกจากนั้นกรดอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ก็มีรายงานว่าช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะอาหาร (Samanta et al., 2010) กรดอะซิติกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหลักที่พบในน้ำส้มควันไม้ กรดอะซิติกสามารถควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอีกด้วย Wang et al. (2012) ได้รายงานว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ที่ระดับ 0.4% ในอาหารสุกรมีผลทำให้การเจริญเติบโตของสุกรเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Choi et al. (2009) ได้พบว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ที่ระดับ 0.2% และการเสริมกรดอินทรีย์ที่ระดับ 0.2% ในอาหารมีผลทำให้น้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรเพิ่มมากขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม ในขณะที่กรดซิลิซิกที่อยู่ใน SPV ก็เป็นแหล่งของแร่ธาตุซิลิกอน สัตว์ต้องการซิลิกอนสำหรับการการทำงานของเอนไซม์ prolylhydroxylase และ ornithine aminotransferase ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คอลลาเจน ซิลิกอนจึงมีส่วนช่วยทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของคอลลาเจนเป็นไปตามปกติ (McDowell, 1992) นอกจากนั้นซิลิกอนก็มีส่วนเกี่ยวข้องในขั้นตอนการสะสมแร่ธาตุในกระดูก (เพิ่มศักดิ์, 2546) อย่างไรก็ตาม Elliot and Edwards (1991) พบว่า การเสริมซิลิกอนในอาหารที่ระดับ 0.6-143 ppm ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทง ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้จึงอาจจะสรุปได้ว่าสมรรถภาพการผลิตไข่ที่สูงขึ้นในกลุ่มที่เสริม SPV ที่ระดับ 0.2% นั้นอาจเกิดขึ้นเนื่องจากน้ำส้มควันไม้ไผ่ที่ช่วยในการปรับปรุงสิ่งแวดล้อมในทางเดินอาหารของไก่ไข่ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า การเสริม SPV ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0.6% มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตที่ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณที่มากเกินไปของสารเพิ่มความเป็นกรดอาจจะมีผลต่อสมดุลของกรด-เบสในทางเดินอาหารของไก่ นอกจากนั้นระดับที่สูงเกินไปของ SPV ก็อาจจะมีผลกระทบต่อความสมดุลของแบคทีเรียในทางเดินอาหาร โดย Wang et al. (2012) ได้พบว่า

ความหลากหลายและความสมบูรณ์ของแบคทีเรียในลำไส้มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการเพิ่มระดับของน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหาร

การทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริม SPV ที่ระดับ 0.2% ในอาหารมีสมรรถภาพการผลิตไข่ดีที่สุด และไก่ไข่ในกลุ่มนี้มีความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้น และขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางสูงที่สุด การเพิ่มขึ้นของวิลไลในลำไส้เป็นการชี้ให้เห็นว่ามีพื้นที่การดูดซึมโภชนะมากยิ่งขึ้น และมีผลทำให้การย่อยได้ของโภชนะเพิ่มขึ้น Gilmore and Ferretti (2003) พบว่า ขนาดของวิลไลที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากประชากรของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ซึ่งคอยช่วยในการจัดหาโภชนะและเป็นตัวกระตุ้นการพัฒนาของวิลไล ในงานทดลองของ Choct (2009) ได้พบว่า วิลไลจะมีขนาดลดลงเมื่อจำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น น้ำส้มควันไม้ไผ่มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *E. coli, Staphylococcus aureous* และ *Candida albicans* (Jiang, 2005) นอกจากนั้นรายงานของ Chu et al. (2013) ได้พบว่า การเสริมน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารมีผลทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์กลุ่ม lactic acid bacteria เพิ่มขึ้น ในขณะที่จำนวนของแบคทีเรียก่อโรคในกลุ่ม coliform bacteria และ *Salmonella* ลดลง ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า การเสริม SPV ในอาหารที่ระดับต่างๆ มีแนวโน้มทำให้เชื้ออีโคไลและเชื้อซาลโมเนลลาในลำไส้เล็กส่วนปลายลดลง ถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ซึ่งผลเหล่านี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในน้ำส้มควันไม้ไผ่ เช่น ฟีโนลิก กรดอินทรีย์ ฯลฯ ซึ่งช่วยทำให้การก่อตัวของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลดลง และลดการอักเสบที่เยื่อบุผนังลำไส้ ด้วยเหตุนี้จึงมีผลช่วยทำให้ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า การเสริม SPV ในอาหารที่ระดับ 0.2% มีผลในการกระตุ้นการทำงานของลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าโภชนะส่วนใหญ่จะถูกดูดซึมในส่วนบนของลำไส้

สรุปผลการทดลอง

การเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับ 0.2% มีผลทำให้ขนาดของวิลไลในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น และมีผลทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นในช่วงอายุ 34-37 สัปดาห์ การเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารมีแนวโน้มทำให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลดลงและไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพไข่ อย่างไรก็ตาม การเสริมกรดซิลิซิกผงร่วมกับน้ำส้มควันไม้ไผ่ในอาหารที่ระดับสูงเกินไปมีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

เอกสารอ้างอิง

จิระพงษ์ คูหากาญจน์. 2553. การผลิตถ่านและน้ำส้มควันไม้. สำนักพิมพ์เกษตรธรรมชาติ. กรุงเทพฯ.

เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ. 2546. โภชนศาสตร์สัตว์ปีก. ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. เชียงใหม่.

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

Carlisle, E.M., J.W. Berger and W.F. Alpenfels. 1981. A silicon requirement for prolyl hydroxylase activity. Fed. Proc. 40:866.

Choct, M. 2009. Managing gut health through nutrition. Br. Poult. Sci. 50:9-15.

Choi, J.Y., P.L. Shinde, I.K. Kwon, Y.H. Song and B.J. Chae. 2009. Effect of wood vinegar on the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. Asian Australas. J. Anim. Sci. 22:267–274.

Chu, G.M., C.K. Jung, H.Y. Kim, J.H. Ha, J.H. Kim, M.S. Jung, S.J. Lee, Y. Song, R.I.H. Ibrahim, J.H. Cho, S.S. Lee and Y.M. Song. 2013. Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar as antibiotic alternatives on growth performance, immune responses and fecal microflora population in fattening pigs. Anim. Sci. J. 84:113-120.

Elliot, M.A. and H.M. Edward. 1991. Effect of dietary silicon on growth and skeletal development in chickens. J. Nutr. 121:201-207.

Gilmore, M.S. and J.J. Ferretti. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen. Science. 299:1999-2002.

Jiang, X.L. 2005. An experiment on the sterilization effects of bamboo vinegar. J. Bamboo Res. 24:50-53.

McDowell, L.R. 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, San Diego, Califonia, pp 407-441.

Rattanawut, J. and K. Yamauchi. 2015. Growth performance, carcass traits, and histological changes in the intestinal villi of male broiler chickens fed dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid. J. Anim. Feed Sci. 24:48-52.

Ruttanavut, J., Y. Matsumoto and K. Yamauchi. 2012. A fluorescence-based demonstration of intestinal villi and epithelial cell in chickens fed dietary silicic acid powder including bamboo vinegar compound liquid. Histol. Histopathol. 27:1333-1342.

Samanta, S., S. Haldar and T.K. Ghosh. 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology and small intestinal milieu. Vet. Med. Int. 2010:1-8.

Velmurugan, N., S.S. Chun, S.S. Han and Y.S. Lee. 2009. Characterization of chikusaku-eki and mokusaku-eki and its inhibitory effect on sapstaining fungal growth in laboratory scale. Int. J. Environ. Sci. Technol. 6:13-22.

Viveros, A., S. Chamorro, M. Pizarro, I. Arija, C. Centeno and A. Brenes. 2011. Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poult. Sci. 90:566-578.

Wang, H.F., J.L. Wang, W.M. Zhang, J.X. Liu and B. Dai. 2012. Effect of bamboo vinegar as an antibiotic alternative on growth performance and fecal bacterial communities of weaned piglets. Livest. Sci. 144:173-180.

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

Yamauchi, K. 2007. Review of a histological intestinal approach to assessing the intestinal function in chickens and pigs. Anim. Sci. J. 78:356-370.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาคผนวก

Supplementation effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid on performance, egg quality, intestinal microflora and intestinal morphology of laying hens

Jessada RATTANAWUT,[1] Areerat TODSADEE[2] and Koh-en YAMAUCHI[3]

[1]Faculty of Science and Industrial Technology and [2]Faculty of Liberal Arts and Management Sciences, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani, Thailand, and [3]Laboratory of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki-cho, Kagawa-ken, Japan

Running title: CHICKENS FED SILICIC ACID CONTAINING VINEGAR

Correspondence: Jessada 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

Eighty ISA Brown laying hens were used to investigate the effects of dietary inclusion of silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid (SPV) on performance, egg quality, intestinal microflora and small intestine morphology. The hens were randomly divided into 4 treatment groups, with 5 replicates per treatment and 4 hens per replicate. They were fed *ad libitum* a basal diet supplemented with SPV at 0, 0.2, 0.4 or 0.6% level, for 16 weeks. Egg production significantly increased with the 0.2% SPV diet for hens 34-37 weeks old, while egg mass was highest for hens fed the 0.2% SPV diet in 38-41 weeks age range ($P < 0.05$). Egg quality traits were not significantly affected by SPV. In the ileal content, populations of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. tended to decrease with SPV in the diet ($P < 0.10$). Villus height of jejunum and villus area of duodenum and jejunum were highest in the birds fed the 0.2% SPV diet ($P < 0.05$). The present results suggest that the SPV could be used at a level of 0.2% in laying hens' feed.

Key words: *silicic acid powder, bamboo vinegar, chicken, intestine*

INTRODUCTION

The application of antibiotics to poultry has been banned in many countries because of public concerns about the downsides. As a result, efficacious alternatives to replace antibiotics are sought, targeting effective prevention or control of infectious diseases, promotion of growth, and improvement of feed efficiency. In poultry acidifiers are an alternative that promote performance and improve gut health. Acidifiers are acids included in the feed or water, in order to lower the pH of the feed, the gut, and the microbial cytoplasm. A very important objective of dietary acidification is to inhibit intestinal bacteria that compete with the host for available nutrients, and this would improve the weight gain of the host animal (Samik *et al.* 2007). Furthermore, the growth inhibition of potential pathogenic and zoonotic bacteria, in the feed and in the gastrointestinal tract, benefits the animal health. 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). Bamboo vinegar can act as an insecticide, bactericide, deodorant for treating pet malodor, and is used by folk medicine (Akakabe *et al.* 2006). The silicic acid is a weak acid known to be the active form of silicon in both plants and animals. Silicon (50-500 ppm) is essential for the growth and the skeletal development in chicks (McDowell 1992). A mixture of silicic acid powder and bamboo vinegar liquid (SPV) has been recently formulated and tested as supplement in animal feeds, and it has a positive influence on the performance of meat type chickens (Ruttanavut *et al.* 2012). However, the effects of SPV on production performance of laying type chickens had not been investigated yet. In this study, the effects of dietary

60 SPV on performance, egg quality traits, intestinal microflora, and intestinal
61 morphology, were examined in laying hens.
62
63 **MATERIALS AND METHODS**
64 **Birds and management**
65 All experiments were performed according to the humane care guidelines for the use of
66 animals in experimentation, as provided by the Prince of Songkla University, Thailand.
67 The ISA Brown hens were obtained at 22 weeks of age, and reared in layer cages in a
68 completely randomized design at ambient temperature. Light was provided for 16 h
69 (from 6:00 to 22:00) each day. The hens were fed *ad libitum* with a conventional layer
70 mash diet for 4 weeks as an adaptation period to the environment, during which the
71 daily egg production and the egg weights were recorded. Water was continuously
72 available from nipple drinkers.

73 At 26-wk-old, 80 birds were divided into 4 treatment groups with 5 replicates each, and
74 4 birds in each replicate. The replicates had initially similar mean body weights and egg
75 production levels. The basal diet (Table 1) was supplemented with SPV at 0, 0.2, 0.4 or
76 0.6%. Commercial SPV with pH=4 (Shikoku Tekuno Co., Ltd, Kagawa, Japan) had
77 been produced as follows: bamboo vinegar liquid (Table 2) was obtained by condensing
78 smoke during the making of bamboo charcoal from moso bamboo (*Phyllostachys*
79 *pubescens*) by dry distillation at 700 °C in an airless condition, and it was stored for one
80 year. Then, the skimmed solution was distilled to remove harmful substances such as
81 tar. Then the bamboo vinegar (3 L) was allowed to absorb into commercial silicic acid

82 powder (5 kg, 50 mesh particle size), to create SPV. The hens were given *ad libitum*
83 access to water and their experimental diets for 16 weeks.

84 **Performance and egg quality**

85 Performance was determined every 4 weeks by monitoring egg production, egg weight
86 (the size of an individual egg), egg mass, feed intake and feed efficiency. Body weight
87 was measured at the beginning and at the end of the experiment. Egg quality was
88 assessed from measured egg weight, shell weight, shell thickness, albumen weight, yolk
89 weight, yolk color, and the Haugh unit of each egg, obtained on the final day of each
90 four-week period of the experiment. The weights of the shell, albumen and egg yolk
91 were measured using an electronic digital balance. Shell thickness was estimated as the
92 mean from three measured locations (air cell, equator and sharp end), and was measured
93 by a dial thickness gauge (Peacock, Tokyo, Japan). The albumen height was measured
94 using a micrometer. Yolk color was determined using the Roche yolk color fan scores
95 (RYCF; F. Hoffman-La Roche, Basel, Switzerland), and colors were scored according
96 to 15 sample colors ranging from 1 (the lightest) to 15 (the darkest). The Haugh units
97 were assessed by the following formula: $100 \times \log (H + 7.57 - 1.7 \times W^{0.37})$, where H =
98 albumen height (mm) and W = egg weight (g).

99 **Intestinal microflora analyses**

100 At the end of feeding period, the chickens were killed by decapitation and their
101 intestinal tracts were removed. Samples (5/diet; each pooled from 2 birds) of fresh
102 digesta from the ileum were collected aseptically in sterilized plastic tubes and blended
103 to obtain a homogeneous mass of digesta, and a 1 g sample was transferred to a test
104 tube. Each sample was mixed with 9 mL distilled water and homogenized at 2,500 rpm
105 for 1 min. The homogenized sample was diluted between 10^{-2} and 10^{-6} fold before

106 inoculations onto Petri dishes of sterile agar. *Escherichia coli* was grown on Eosin
107 Methylene Blue (EMB) agar (BBL, Sparks, MD, USA) and *Salmonella* spp. was grown
108 on *Salmonella-Shigella* (SS) agar (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA). The colonies on
109 each plate were counted after incubation in an aerobic chamber at 37 °C for 24 h.
110 Colony forming units (cfu) were defined as being distinct colonies measuring at least 1
111 mm in diameter.

112 **Tissue sampling and measurement**

113 Another 5 birds per group were used for morphometrical and histological observations
114 of the villi in each intestinal segment. After decapitation, the entire small intestine was
115 excised and fixed in 10% neutral-buffered formalin. The intestinal segment from the
116 gizzard to pancreatic and bile duct was regarded as duodenum, the jejunum was the part
117 from the duct to Meckel's diverticulum, and the ileum was the part from the
118 diverticulum to the ileo-cecal-colonic junction. The tissue samples were taken from the
119 middle part of each intestinal segment. After dehydration in graded alcohol, each
120 intestinal segment was embedded in Paraplast. Transverse 4 μm sections were cut, and
121 stained with haematoxylin and eosin. Villus height and villus area were determined at a
122 10× magnification using a light microscope. Villus height was measured from the villus
123 tip to the bottom. The mean villus height from 5 birds (16 villi from 8 different sections
124 in each segment per bird) is given as the mean villus height for a treatment group. Villus
125 area was calculated from the villus height, basal width and apical width. A total of 16
126 calculations of the villus area were made for each bird. The average of these was
127 assigned to each bird, and the mean of these across 5 birds is given as the mean villus
128 area for one treatment group.

129 **Statistical analysis**

130 All of the experimental data were statistically analyzed using one-way ANOVA, and
131 significant differences between treatments were determined with Duncan's multiple
132 range test using the SAS program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The results are
133 expressed as the mean and the pooled standard error of the mean (SEM). $P < 0.05$ was
134 considered significant, and $P < 0.1$ was considered a trend.

135

136 **RESULTS**

137 **Production performance**

138 The production performance is shown in Table 3. Egg production significantly
139 increased in the birds fed with the 0.2% SPV diet, during 34-37 weeks age period ($P <$
140 0.05), and the overall egg production tended to be higher in the 0.2% SPV group ($P <$
141 0.1). Egg mass was highest for the birds fed with 0.2% SPV, during 38-41 weeks age
142 period ($P < 0.05$). Body weight change, egg weight, feed intake, and feed efficiency did
143 not differ significantly between the treatments.

144 **Egg quality traits**

145 The SPV supplementation level did not affect mean egg weight, shell weight, shell
146 thickness, albumen weight, yolk weight, yolk colour, or Haugh unit (Table 4).

147 **Ileal microflora population**

148 The ileal *E. coli* and *Salmonella* colony counts did not differ significantly between the
149 treatments (Table 5). However, the populations of *E. coli* and *Salmonella* spp. tended to
150 decrease with SPV in the feed ($P < 0.10$).

151 **Intestinal morphology**

152 Villus height and villus area of the control and experimental groups are shown in Table
153 6. Villus height of jejunum and villus areas of duodenum and jejunum were highest in
154 the birds fed with 0.2% SPV in the feed ($P < 0.05$).

155

156 **DISCUSSION**

157 In prior studies, the addition of SPV to diets has improved the productive performances
158 of lightweight chickens (Ruttanavut *et al.* 2012) and fast growing chickens (Rattanawut
159 & Yamauchi 2015), by activating intestinal villi and epithelial cells. The main purpose
160 of this study was to investigate whether the performance of laying hens could be
161 improved with dietary SPV, during the age period from 26 to 41 weeks, and to
162 investigate whether alterations in intestinal morphology and microflora could be
163 observed as dietary effects. In this study, adding 0.2% SPV to the feed was effective in
164 improving the egg production and egg mass of laying hens, during the age periods 34-
165 37 and 38-41 weeks, respectively. A higher egg performance with the 0.2% SPV diet
166 might be due to the beneficial effects of silicic acid and bamboo vinegar liquid. Bamboo
167 vinegar liquid in the SPV includes more than 200 accessory ingredients, including
168 phenolics, polyphenolics, and various organic acids (Kimura *et al.* 2002). The organic
169 acids in bamboo vinegar reportedly increase gastric proteolysis and improve the
170 digestibility of proteins and amino acids (Samanta *et al.* 2010). Acetic acid is the main
171 organic acid component in bamboo vinegar. It can control the balance of intestinal
172 microflora and pathogens (Sorrells & Speck 1970). Acetic acid and phenolic
173 compounds contained in wood vinegar have been reported as anti-germination agents

(Yatagai *et al.* 2002) and termiticides (Mu *et al.* 2004). Pigs fed a diet supplemented with 0.4% bamboo vinegar grew faster than the controls (Wang *et al.* 2012). Choi *et al.* (2009) found that pigs fed 0.2% wood vinegar and 0.2% organic acid diets had higher average daily gain and better feed efficiency than the controls. Alternatively, silicic acid included in the SPV is a source of silicon element. Silicon is required for the maximal enzyme activity of prolyl hydroxylase, a determinant of the rate of collagen biosynthesis (Carlisle *et al.* 1981). However, Elliot and Edwards (1991) found that supplemental silicon had no effects on growth performance in broiler chickens receiving a basal diet containing silicon from 0.6 to 143 ppm. Thus, it is likely that the higher egg production performance for chickens fed the 0.2% SPV diet in the current study was mainly due to the effects of bamboo vinegar liquid, through improving the gastrointestinal tract environment. In our results the birds fed the 0.6% SPV diet had similar performance to the control birds. An excessive amount of acidifiers in the diet may disturb the acid-base balance of chickens. In addition, a higher level of SPV may affect the balance of gut microflora. Wang *et al.* (2012) found that the richness of intestinal bacteria tended to decrease with the increase of bamboo vinegar inclusion in the diet.

In the chickens fed the 0.2% SPV diet, intestinal villus height of the duodenum and villus area of the duodenum and the jejunum were the highest across the treatments. An increased size of the intestinal villi implies a greater surface area for nutrient absorption and thus improved nutrient digestibility. Gilmore and Ferretti (2003) found that villus height is increased with an enhanced efficiency of digestion and absorption of the small intestine, due to a population of beneficial bacteria that supplies nutrients and stimulates vascularisation and development of the intestinal villi; whereas Choct (2009) found shorter villi with increased counts of pathogenic bacteria in the gastrointestinal

198 tract. Bamboo vinegar diluted eight-fold killed fecal *E. coli*, *Staphylococococcus aureous*
199 and *Candida albicans* (Jiang 2005), while a 100-fold dilution has antimicrobial activity
200 against *E. coli* (Wang *et al.* 2012). Chu *et al.* (2013) reported that populations of lactic
201 acid bacteria in the feces were higher, while the population of coliform bacteria and
202 *Salmonella* were lower in pigs fed with bamboo vinegar in the feed. These results
203 indicate that bamboo vinegar can reduce harmful intestinal bacteria, but increases
204 beneficial bacteria. The effects of bamboo vinegar on bacterial communities are
205 attributed to its active components, such as organic acids. In the current study,
206 supplementing the diet with SPV tended to decrease ileal *E. coli* and *Salmonella* spp. of
207 the laying hens. This may be due to the active ingredients in bamboo vinegar reducing
208 the growth of pathogenic bacteria. As a result, the supplementation may reduce
209 intestinal colonization and slow infectious processes, thereby decreasing the
210 inflammatory processes in the intestinal mucosa, which improves villus size in
211 duodenum and jejunum. Yamauchi (2007) reported that increased villus height and
212 villus area in the intestine indicate that the intestinal villi are activated. The present
213 results showed that 0.2% SPV could effectively stimulate intestinal function in the
214 duodenum and jejunum, indicating that most nutrients are absorbed in the upper
215 segment of the intestine.

216 In conclusion, 0.2% dietary SPV supplementation increased the size of intestinal
217 villi in the duodenum and jejunum, tended to decrease ileal pathogenic bacteria counts,
218 and improved egg performance of laying hens. The results suggest that 0.2% SPV could
219 be used as a beneficial feed additive in layer production.

220

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by grant from the Prince of Songkla University (no. SIT570350S). 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 his critical reading through the manuscript.

REFERENCES

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

Carlisle EM, Berger JW, Alpenfels WF. 1981. A silicon requirement for prolyl hydroxylase activity. *Federation Proceedings* **40,** 866.

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

Choi JY, Shinde PL, Kwon IK, Song YH, Chae BJ. 2009. Effect of wood vinegar on the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences* **22,** 267–274.

Chu GM, Jung CK, Kim HY, Ha JH, Kim JH, Jung MS, Lee SJ, Song Y, Ibrahim RIH, Cho JH, Lee SS, Song YM. 2013. Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar as antibiotic alternatives on growth performance, immune responses and fecal microflora population in fattening pigs. *Animal Science Journal* **84,** 113-120.

Elliot MA, Edward HM. 1991. Effect of dietary silicon on growth and skeletal development in chickens. *The Journal of Nutrition* **121,** 201-207.

245 Gilmore MS, Ferretti JJ. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen.
246 *Science* **299,** 1999-2002.
247 Jiang XL. 2005. An experiment on the sterilization effects of bamboo vinegar. *Journal*
248 *of Bamboo Research* **24,** 50-53.
249 Kimura Y, Suto S, Tatsuka M. 2002. Evaluation of carcinogenic/co-carcinogenic
250 activity of chikusaku-eki, a bamboo charcoal by-product used as a folk remedy,
251 in BALB/c 3T3 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **25,** 1026-1029.
252 Lin HC, Murase Y, Shiah TC, Hwang GS, Chen PK, Wu WL. 2008. Application of
253 moso bamboo vinegar with different collection temperatures to evaluate fungi
254 resistance of moso bamboo materials. *Journal of the Faculty of Agriculture*
255 *Kyushu University* **53,** 107–113.
256 McDowell LR. 1992. *Minerals in animal and human nutrition*. Academic Press, San
257 Diego, California.
258 Mu J, Uehara T, Furuno T. 2004. Effect of bamboo vinegar on regulation of
259 germination and radical growth of seed plants II: composition of Moso bamboo
260 vinegar at different collection temperature and its effects. *Journal of Wood*
261 *Science* **50,** 470–476.
262 Rattanawut J, Yamauchi K. 2015. Growth performance, carcass traits, and histological
263 changes in the intestinal villi of male broiler chickens fed dietary silicic acid
264 powder containing bamboo vinegar liquid. *Journal of Animal and Feed Sciences*
265 **24**, 48-52.
266 Ruttanavut J, Matsumoto Y, Yamauchi K. 2012. A fluorescence-based demonstration of

267 intestinal villi and epithelial cell in chickens fed dietary silicic acid powder
268 including bamboo vinegar compound liquid. *Histology and Histopathology* **27,**
269 1333-1342.
270 Samanta S, Haldar S, Ghosh TK. 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend
271 and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens:
272 effects on performance, gut histology and small intestinal milieu. *Veterinary*
273 *Medicine International* **2010,** 1-8.
274 Samik KP, Halder G, Mondal MK, Samanta G. 2007. Effect of organic acid salt on the
275 performance and gut health of broiler chicken. *Journal of Poultry Science* **44,**
276 389-395.
277 Sorrells KM, Speck ML. 1970. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates
278 of *Leuconostoc citrovorum*. *Journal of Dairy Science* **53,** 239-241.
279 Wang HF, Wang JL, Zhang WM, Liu JX, Dai B. 2012. Effect of bamboo vinegar as an
280 antibiotic alternative on growth performance and fecal bacterial communities of
281 weaned piglets. *Livestock Science* **144,** 173-180.
282 Yamauchi K. 2007. Review of a histological intestinal approach to assessing the
283 intestinal function in chickens and pigs. *Animal Science Journal* **78,** 356-370.
284 Yatagai M, Nishimoto M, Hori K, Ohira T, Shibata A. 2002. Termiticidal activity of
285 wood vinegar, its components and their homologues. *Journal of Wood Science*
286 **48,** 338–342.
287

288 **Table 1** Feed formulation and chemical composition of experimental diet

Item	Amount (%)
Ingredient	
Corn	59.50
Soybean meal (44% CP)	20.00
Rice bran	4.25
Fish meal (58% CP)	6.58
Oyster shell	5.63
Dicalcium phosphate (18% P)	2.04
Plant oil	1.00
DL-Methionine	0.20
Salt	0.30
Premix†	0.50
Calculated analysis	
Crude protein	18.00
Metabolizable energy (kcal/kg)	2800
Crude fiber	3.61
Crude fat	4.93
Calcium	3.30
Available phosphorus	0.55
Lysine	0.97
Methionine	0.53

289 †Premix: 2.0 MIU vitamin A, 0.32 MIU vitamin D_3, 2,000 mg vitamin E, 330 mg vitamin K_3,
290 220 mg vit B_1, 450 mg vitamin B_2, 4.5 mg vitamin B_{12}, 600 mg niacin, 100 mg copper, 150 mg
291 iodine, 130 mg cobalt, 10 g iron, 8.8 g manganese, 8.8 g zinc, 25 g preservative, up to 1 kg
292 filter.

293

294 **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

295

296

297 **Table 3** Effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid (SPV)
298 on performance of laying hens during 26-41 weeks of age

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Body weight changes (g)	145.32	142.15	135.71	122.52	11.46	0.814
Egg production (%)						
26-29 weeks	97.14	96.78	97.14	96.07	0.69	0.950
30-33 weeks	97.85	98.92	97.85	96.07	0.65	0.508
34-37 weeks	94.33^{bc}	98.57^{a}	97.49^{ab}	93.10^{c}	0.73	0.012
38-41 weeks	96.03	96.92	96.17	94.11	0.39	0.055
26-41 weeks	96.34	97.80	97.16	94.84	0.44	0.091
Egg weight (g)						
26-29 weeks	55.53	55.08	54.70	55.43	0.43	0.920
30-33 weeks	57.12	58.03	56.46	54.87	0.59	0.301
34-37 weeks	58.64	58.53	58.05	57.26	0.49	0.775
38-41 weeks	59.05	60.79	60.72	59.13	0.44	0.336
26-41 weeks	57.58	58.11	57.48	56.67	0.45	0.701
Egg mass (g/hen/day)						
26-29 weeks	53.93	53.35	53.18	53.27	0.66	0.982
30-33 weeks	55.91	57.42	55.31	52.77	0.85	0.293
34-37 weeks	55.33	57.70	56.63	53.26	0.70	0.092
38-41 weeks	56.71^{ab}	58.94^{a}	58.40^{a}	55.61^{b}	0.49	0.046
26-41 weeks	55.48	56.85	55.85	53.74	0.60	0.309
Feed intake (g/d)						
26-29 weeks	109.00	108.10	108.29	107.50	0.87	0.953
30-33 weeks	116.25	117.21	115.71	111.10	1.01	0.115
34-37 weeks	113.61	114.14	113.25	108.10	1.21	0.261

38-41 weeks	114.14	113.10	113.81	112.32	1.26	0.963
26-41 weeks	113.25	113.14	112.76	109.75	0.67	0.213
Feed efficiency						
26-29 weeks	0.495	0.494	0.491	0.496	0.007	0.990
30-33 weeks	0.481	0.490	0.473	0.475	0.006	0.816
34-37 weeks	0.486	0.506	0.500	0.494	0.005	0.562
38-41 weeks	0.498	0.522	0.514	0.495	0.007	0.598
26-41 weeks	0.490	0.502	0.495	0.490	0.005	0.795

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

300 Values are means of 5 replicates.

301

302

303 **Table 4** Effects of dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid (SPV)

304 on egg quality traits of laying hens from 26 to 41 weeks of age

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Egg weight (g)	58.73	59.16	58.53	57.59	0.35	0.472
Shell weight (g)	6.46	6.50	6.58	6.26	0.04	0.190
Shell thickness (mm)	0.37	0.36	0.37	0.36	0.01	0.531
Albumen weight (g)	38.19	38.48	37.70	37.52	0.31	0.729
Yolk weight (g)	14.09	14.17	14.26	13.80	0.11	0.515
Yolk color	7.23	7.15	7.37	7.35	0.05	0.372
Haugh unit	84.18	83.85	84.16	84.29	0.29	0.950

305 Values are means of 5 replicates.

306

307 **Table 5** Ileal microflora counts of chickens fed 0, 0.2, 0.4 and 0.6% dietary silicic acid
308 powder containing bamboo vinegar liquid (SPV) diets (log10 cfu/g of wet digesta)

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Escherichia coli	3.91	3.86	3.87	3.88	0.01	0.064
Salmonella spp.	3.38	3.32	3.29	3.27	0.01	0.057

309 Values are means of 5 replicates.

310

311 **Table 6** Villus height and villus area of the duodenum, jejunum and ileum in chickens
312 fed 0, 0.2, 0.4 and 0.6% dietary silicic acid powder containing bamboo vinegar liquid
313 (SPV) diets

Parameters	Dietary SPV (%)				SEM	P-value
	0	0.2	0.4	0.6		
Villus height (mm)						
Duodenum	1.32	1.38	1.34	1.28	0.01	0.059
Jejunum	0.89^{ab}	0.94^{a}	0.92^{ab}	0.86^{b}	0.01	0.013
Ileum	0.48	0.50	0.47	0.46	0.01	0.335
Villus area (mm^2)						
Duodenum	0.118^{ab}	0.122^{a}	0.119^{ab}	0.115^{b}	0.008	0.034
Jejunum	0.0743^{b}	0.083^{a}	0.080^{a}	0.073^{b}	0.002	0.002
Ileum	0.034	0.037	0.035	0.032	0.001	0.229

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

315 Values are means of 5 replicates.