

ความต้านทานสารเคมีแมนโคเซบของเชื้อ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรค
ลำต้นเน่าและใบไหม้ของทุเรียนในแหล่งปลูกภาคตะวันออกของประเทศไทย

Mancozeb Resistance of *Phytophthora palmivora*, a Causal Agent of
Stem Rot and Leaf Blight of Durian in Eastern Thailand

พัชรินทร์ เนียรวิชัย¹ วีระณีย์ ทองศรี^{1*} ณัฐสุดา ธาราบุตร¹ วริษา ศรีโสภณ¹
กมลวรรณ สีฉาย¹ นภลภัส บุชบงก์¹ ปัฐวิภา สงกุมาร¹ และมณีนรัตน์ คูหาพิทักษ์ธรรม²
Patcharin Nianwichai¹, Veeranee Tongsri^{1*}, Nutsuda Taraput¹, Warisa Srisopha¹,
Kamonwan Sichai¹, Noplapat Bussabong¹, Pattavipha Songkumarn¹ and Maneerat Koohapitagtam²

บทคัดย่อ

ภาคตะวันออกเป็นแหล่งปลูกทุเรียนที่สำคัญของประเทศไทย ในแหล่งปลูกมักพบการแพร่ระบาดของโรครากเน่า ลำต้นเน่า และใบไหม้ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* อยู่เสมอ จึงทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตเป็นจำนวนมาก เป็นเหตุให้เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุชนิดเดิมต่อเนื่องเป็นเวลานาน ซึ่งอาจทำให้เชื้อสาเหตุโรคพัฒนาเกิดความต้านทานขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคในทุเรียน จำแนกชนิดของเชื้อด้วยวิธีชีวโมเลกุล และศึกษาการตอบสนองของเชื้อ *P. palmivora* ต่อสารเคมีแมนโคเซบ โดยแยกเชื้อจากทุเรียนที่เป็นโรคจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี ระยอง และตราด พบเชื้อ *Phytophthora* spp. 40 ไอโซเลท โดยทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคที่มีลักษณะใบไหม้คล้ายอาการช้ำน้ำ มีขนาดแผลตั้งแต่ 1 เซนติเมตรขึ้นไป เชื้อทุกไอโซเลทได้รับการยืนยันในระดับสปีชีส์โดยศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ว่าเป็น *P. palmivora* จากการทดสอบความต้านทานของเชื้อดังกล่าวต่อสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า 3 ไอโซเลทจาก 40 ไอโซเลท ได้แก่ CTT3, CTT4 และ RKT2 เกิดความต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบ โดยมีค่า EC_{50} 103.4 – 109.86 ppm ซึ่งเป็นเชื้อที่ได้จากจังหวัดจันทบุรี และระยอง ในทำนองเดียวกันเมื่อทดสอบความต้านทานบนเนื้อเยื่อใบทุเรียน พบว่าตัวแทนไอโซเลทที่อ่อนแอต่อสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีค่า EC_{50} 13.29 – 15.64 ppm ส่วนตัวแทนไอโซเลทที่ต้านทานต่อสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีค่า EC_{50} >1000 ppm ซึ่งถูกจัดอยู่ในกลุ่มอ่อนแอและต้านทานต่อแมนโคเซบ ตามลำดับ เช่นเดียวกับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ในการเลือกใช้สารเคมีกลุ่มอื่น เพื่อทดแทนสารเคมีในกลุ่ม Dithiocarbamate ในการควบคุมโรคของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อ *P. palmivora* ในแหล่งปลูกภาคตะวันออกของประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: ไฟทอปธอรา ทุเรียน ไตโรโอคาร์บาเมต การตอบสนอง

Abstract

The eastern region is a vital cultivation area for durian production in Thailand. In planting areas, the outbreaks of root rot, stem rot and leaf blight caused by *Phytophthora palmivora* are persistent, and they cause a large number of yield losses. Since the growers have continued to use the same fungicides for a long period of time, the pathogens have

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

² บริษัท เรนคอตตอน จำกัด แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310

¹ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

² RAINCOTTON company limited, Huaykwang, Samsen Nok, Bangkok 10310

* Corresponding author, Email: fagrvt@ku.ac.th

developed fungicide resistance. This research aims to study the fungal pathogenicity, identify the pathogens using molecular techniques and investigate the pathogens resistant to mancozeb. The pathogens were isolated from diseased durian parts obtained from 3 provinces, Chanthaburi, Rayong and Trat. The results revealed that 40 isolates of *Phytophthora* spp. caused leaf blight-like water-soaked symptoms with more than 1 cm in size. All isolates of pathogens were confirmed based on nucleotide sequence in the ITS region as *P. palmivora*. The evaluation of fungicide resistance of the pathogens on culture media was found in 3 out of 40 isolates, including CTT3, CTT4 and RKT2 isolates that were resistant to mancozeb with the EC₅₀ values of 103.4 – 109.86 ppm. The resistant isolates were predominated in Chanthaburi and Rayong provinces. Additionally, in the resistance assay on durian leaf tissues, the mancozeb-sensitive and mancozeb-resistant isolates had the EC₅₀ values of 13.29 – 15.64 ppm and >1000 ppm, respectively. This phenomena were classified as the sensitivity type in the culture medium assay. Thus, the information from this study will be beneficial to choosing alternative fungicides for dithiocarbamate fungicide replacement in controlling *P. palmivora* diseases of durian in eastern Thailand.

Keywords: *Phytophthora*, durian, dithiocarbamate, sensitivity

คำนำ

แมนโคเซบ (Mancozeb) เป็นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดสัมผัส (contact fungicides) มีกลไกออกฤทธิ์แบบจุดจับจำเพาะหลายจุด (multi-site actions) จัดอยู่ในกลุ่มสารเคมี Dithiocarbamate โดยมีชนิดของสารเคมีที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่ มาเนบ (Maneb) ซิเนบ (Zineb) โพรพิเนบ (Propineb) และไธราม (Thiram) เป็นต้น ซึ่งเป็นกลุ่มสารเคมีที่มีความเสี่ยงต่ำที่จะทำให้เชื้อราเกิดความต้านทาน อย่างไรก็ตาม Sijpesteijn (1984) รายงานว่า สารเคมีแมนโคเซบมีความเกี่ยวข้องกับการยับยั้งหมู่ sulfhydryl ของกรดอะมิโนและเอนไซม์ภายในเซลล์ของเชื้อรา ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมันและการหายใจของเซลล์ โดยทั่วไปแล้ว สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม Oomycetes มักเป็นสารเคมีเมทาแลกซิล (Metalaxyl) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีกลไกยับยั้งการสังเคราะห์และการทำงานของเอนไซม์ RNA polymerase I ซึ่งออกฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อในกลุ่ม Oomycetes ได้ตรงจุดกว่าสารเคมีแมนโคเซบ แต่ด้วยเหตุที่สารเคมีเมทาแลกซิลเป็นสารที่มีความเสี่ยงสูงที่ทำให้เชื้อในกลุ่มดังกล่าวเกิดความต้านทานได้ง่าย (Wu et al., 2011; Kongtragoul et al., 2021; Chacón et al., 2022) สารเคมีแมนโคเซบจึงถูกนำมาใช้สลับกับสารเคมีเมทาแลกซิลเพื่อควบคุมโรคดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าสารเคมีแมนโคเซบมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Oomycetes ได้ดีมาอย่างยาวนาน อาทิ โรคลำต้นเน่าของทุเรียน ส้ม อะโวคาโด ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* และ *P. cinnamomi* โรคใบไหม้ของมันฝรั่งและมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อ *P. infestans* (Ramirez-Gil et al., 2017; Chi et al., 2020; Ivanov et al., 2021) โรคราน้ำค้างของหอม ที่เกิดจากเชื้อ *Peronospora destructor* (Araújo et al., 2020) และโรคราน้ำค้างขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อ *Plasmopara viticola* (Wong & Wilcox, 2001) ถึงแม้ว่าสารเคมีแมนโคเซบจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้หลากหลาย แต่ก็พบว่ามีความไวต่อสารเคมีลดลง (Gullino et al., 2010) ดังเช่น เชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เป็น

สาเหตุโรคใบไหม้ของมะเขือเทศ และยังสามารถทำให้เกิดความต้านทานข้าม (cross resistance) ต่อสารเคมีไซโปรไดนิล (Cyprodinil) และเทบูโคนาโซล (Tebuconazole) (Malandrakis et al., 2015) เช่นเดียวกับ Yang et al. (2019) รายงานว่า เชื้อรา *A. alternata* บางไอโซเลท เกิดความต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบ และสามารถเกิดความต้านทานต่อสารเคมีไดฟีโนโคนาโซล (Difenoconazole) ซึ่งความต้านทานข้ามนี้จะส่งผลกระทบต่อการใช้สารเคมีชนิดหนึ่งเป็นอย่างมาก เนื่องจากจะเป็นการส่งเสริมให้เชื้อราสาเหตุโรครามีโอกาสต้านทานต่อสารเคมีชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ร่วมหรือใช้สลับกับแมนโคเซบได้ จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ นอกจากนี้ยังพบการรายงานว่าการระบาดของเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* สาเหตุโรคผลเน่าของแอปเปิ้ลเกิดความต้านทานสูงต่อสารเคมีแมนโคเซบร้อยละ 25 และมีความต้านทานปานกลางร้อยละ 50 ของไอโซเลทที่นำมาทดสอบทั้งหมด (Moreira et al., 2019) และเนื่องจากแมนโคเซบเป็นสารเคมีที่ทำให้เชื้อราพัฒนาความต้านทานได้ต่ำ จึงทำให้ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความต้านทานสารเคมีแมนโคเซบของเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรคลำต้นเน่าและใบไหม้ของทุเรียนในแหล่งปลูกทั้ง 3 จังหวัดของภาคตะวันออกของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง และตราด ซึ่งเป็นแหล่งปลูกที่มีการใช้สารเคมีแมนโคเซบอย่างต่อเนื่อง และยังไม่มียางานถึงความต้านทานของเชื้อชนิดนี้ต่อสารเคมีดังกล่าว เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีแมนโคเซบในการควบคุมโรค และเป็นแนวทางในการเลือกใช้สารเคมีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อการจัดการโรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *P. palmivora* ที่เป็นปัจจุบันต่อไป

วิธีการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างทุเรียนที่เป็นโรค แยกเชื้อบริสุทธิ์และพิสูจน์การก่อโรค

เก็บตัวอย่างทุเรียนที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกภาคตะวันออก 3 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี ระยอง และตราด โดยสุ่มเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อ *P. palmivora* เช่น อาการลำต้นและกิ่งเน่า ยอดเน่าและใบไหม้ จังหวัดละ 2-3 แปลง (Table 1) นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมานำเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อระหว่างผลและเนื้อเยื่อปกติให้ได้ขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวรอบนอกด้วย 10% Clorox[®] เป็นเวลา 5-7 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งในสภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนพืชวางบนอาหารจำเพาะ carrot agar (แครอท 200 กรัมและวุ้น 15 กรัมต่อลิตร) ซึ่งประกอบด้วย pentachloronitrobenzene 100 ppm, pimarinin 10 ppm, ampicillin 200 ppm, vancomycin 100 ppm, nystatin 25 ppm และ hymexazol 40 ppm (ดัดแปลงจาก Jeffers & Martin, 1986) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2-4 วัน ใช้เข็มเย็บตัดปลายเส้นใยของเชื้อย้ายไปวางบนอาหาร half potato dextrose agar (half PDA) และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค hyphal tip เก็บเชื้อไว้ในหลอดอาหารเอียง (slant agar) เพื่อนำไปทดสอบการก่อโรคด้วยวิธี detached leaf โดยตัดใบทุเรียนในระยะเพสลาดและนำมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง และปลูกเชื้อที่แยกได้ในแต่ละไอโซเลท โดยตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อโดยใช้ cork borer ให้ชิ้นวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ย้ายชิ้นวุ้นปลูกบนใบทุเรียนที่ทำแผลใบละ 3 จุด วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ บ่มใบทุเรียนที่ปลูกเชื้อแล้วในกล่องพลาสติกชั้นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและลักษณะอาการของแผลที่ปรากฏ ประเมินระดับความรุนแรงของโรค โดยให้คะแนน 4 ระดับ ได้แก่ - = ไม่เกิดแผล, + = แผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง <1 เซนติเมตร, ++ = แผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 เซนติเมตร และ +++ = แผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง >2 เซนติเมตร จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทที่ก่อโรคไว้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

Table 1 Diseased parts of ‘Mon Thong’ durians collected from growing areas of eastern Thailand, Chanthaburi, Rayong and Trat provinces

Fungal isolates	Diseased parts	Location
CKKB1, CKKB2	Branches	Khao Khitchakut District, Chanthaburi Province
CKKL1, CKKL2, CKKL3, CKKL4, CKKL5, CKKL6	Leaves	Khao Khitchakut District, Chanthaburi Province
CKLB1, CKLL1, CKLT1	Leaves	Khlung District, Chanthaburi Province
CTT1, CTT2, CTT2-1, CTT3, CTT4	Trunks	Tha Mai District, Chanthaburi Province
RKT1, RKT2	Trunks	Klaeng District, Rayong Province
RWL1, RWL2	Leaves	Wang Chan District, Rayong Province
RWT1, RWT2, RWT3	Trunks	Wang Chan District, Rayong Province
TBA1, TBA2	Shoots	Bo Rai District, Trat Province
TBL1, TBL2, TBL3	Leaves	Bo Rai District, Trat Province
TBT1	Trunk	Bo Rai District, Trat Province
TKT1, TKT2, TKT3	Trunks	Khao Saming District, Trat Province
TKL1, TKL2, TKL3	Leaves	Khao Saming District, Trat Province
TMB1	Branch	Mueang District, Trat Province
TML1, TML2, TML3, TML4	Leaves	Mueang District, Trat Province

2. สกัด DNA และตรวจสอบสปีชีส์ของเชื้อสาเหตุโรค

นำเชื้อที่แยกได้แต่ละไอโซเลทมาเลี้ยงบนอาหาร half PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวของ half potato dextrose broth (half PDB) เป็นเวลา 3 วันบนเครื่องเขย่า 240 รอบต่อนาที นำเส้นใยมาสกัด DNA ด้วยวิธี CTAB (ดัดแปลงจาก Doyle & Doyle., 1987) โดยนำเส้นใยของเชื้อจำนวน 100 มิลลิกรัมใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร ใส่ลูกเหล็กขนาด 4 มิลลิเมตร จำนวน 3 ลูกต่อหลอด แล้วจึงเติม CTAB buffer [2% CTAB, 1.4M NaCl, 100mM Tris (pH 8.0), 20mM EDTA, 2% PVP polyvinylpyrrolidone, 0.2% Beta mercaptoethanol] 600 ไมโครลิตร บดเส้นใยให้ละเอียดด้วยเครื่องตีเส้นใยเป็นเวลา 3 นาที นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส 500 ไมโครลิตรใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม Chloroform : Isoamyl alcohol (24:1) 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 rpm เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใส 350 ไมโครลิตรใส่ในหลอดใหม่ เติม Chloroform : Isoamyl alcohol (24:1) 240 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตรใส่ในหลอดใหม่ เติม isopropanol 200 ไมโครลิตร และ (1:10) 3M Sodium Acetate (pH 5.2) 20 ไมโครลิตร นำไปปั่นที่ -20°C เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติม 70% ethanol 200 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12000 rpm 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง ตากตะกอน DNA ให้แห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ละลายตะกอน DNA ด้วย Nuclease-free water (Omega Bio-tek, Norcross, Georgia) จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปวัดปริมาณและคุณภาพด้วยเครื่อง BioDrop (Biodrop Ltd.,

Cambridge, United Kingdom) และเก็บสารละลาย DNA ที่ -20°C จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณ DNA เพื่อตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (Internal transcribed spacer region) โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ในปฏิกิริยาประกอบด้วย 375 ng/ μL DNA template, 1X FIREPol[®] Master Mix (Solis BioDyne, Tartu, Estonia), forward และ reverse primer ได้แก่ 0.1 μM forward primer ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') และ 0.1 μM reverse primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') จากนั้นนำเข้าเครื่อง PCR โดยตั้งค่าดังนี้ initial denaturation 94°C 5 นาที, ตามด้วย 30 รอบ ของ denaturation 94°C 1 นาที, annealing 48°C 1 นาที, extension 72°C 1 นาที และ final extension 72°C 5 นาที เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยานำผลผลิตที่ซีอาร์มาวิเคราะห์โดยวิธี Agarose gel electrophoresis ใน 1% Agarose gel ใน 0.5X TBE buffer ผสม RedSafe[™] (iNtRON Bio, Korea) โดยใช้ความต่างศักย์ 120 โวลต์ 30 นาที ตรวจสอบชิ้น DNA ภายใต้แสง UV ซึ่งจะปรากฏแถบ DNA ขนาดประมาณ 754-834 คู่เบส นำผลผลิตที่ซีอาร์ส่งบริษัท U2Bio (Thailand) Co., Ltd (Bangkok, Thailand) เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี BT sequencing และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) โดยใช้ Nucleotide BLAST ในฐานข้อมูล NCBI เพื่อยืนยันชื่อในระดับสปีชีส์

3. ทดสอบความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารเคมีแมนโคเซบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทดสอบความต้านทานของเชื้อต่อสารเคมีด้วยวิธี poisoned food โดยเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคบนอาหาร half PDA ที่มีส่วนผสมของสารเคมีแมนโคเซบที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 ppm) ตัดขอบโคโลนีของเชื้อด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร วางชิ้นส่วนของเชื้อที่กึ่งกลางจานโดยคว่ำด้านที่มีเส้นใยลงบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทดสอบ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อในแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารเคมี) โดยใช้สูตร เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ = $(\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทดสอบในชุดควบคุม} - \text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทดสอบบนอาหารผสมสารเคมี} / \text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทดสอบในชุดควบคุม}) \times 100$ จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของสารเคมีแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50% (half maximal effective concentration; EC_{50}) โดยใช้สมการลอการิทึมของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเคมีและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ ($y = a \times \ln(x) + b$) เพื่อประเมินความต้านทานของเชื้อทดสอบต่อสารเคมี (Lu et al., 2010) โดยแบ่งกลุ่มการตอบสนองของเชื้อต่อสารเคมีเป็น 2 กลุ่ม คือ อ่อนแอ (sensitive, S) = $EC_{50} \leq 100$ ppm และต้านทาน (resistant, R) = $EC_{50} > 100$ ppm (ดัดแปลงจาก Malandrakis et al., 2015)

4. ทดสอบความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารเคมีแมนโคเซบบนเนื้อเยื่อพืช

ตัดใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองในระยะเฟสลาดจากต้นกล้าที่อายุ 10 เดือน จุ่มใบในสารละลาย 10% Clorox[®] เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวรอบนอก ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง ตัดใบทุเรียนให้ได้พื้นที่ 2 ตารางเซนติเมตร ทำแผลโดยใช้เข็มเจาะ 1 แผลบริเวณกลางชิ้นใบ วางชิ้นใบทุเรียนให้ลอยบนสารเคมีแมนโคเซบที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (0, 0.1, 1, 10, 100, 500, 1000 และ 3000 ppm) ที่บรรจุอยู่ในจานทดลองปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อจาน (ดัดแปลงจากวิธีการของ Zhao et al., 2013) หยดสารแขวนลอย sporangium ของตัวแทนไอโซเลทกลุ่มละ 2 ไอโซเลทที่คัดเลือกจากเชื้อที่อ่อนแอ (ไอโซเลท CKKL1 และ TML2) และต้านทาน (ไอโซเลท CTT3 และ CTT4) ต่อสารเคมีแมนโคเซบในข้อ 3. ที่ความเข้มข้น 1×10^5 sporangia / มิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงบนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน บันทึกความรุนแรงของโรค โดยประเมินเปอร์เซ็นต์พื้นที่ที่แสดงอาการของโรค (อาการช้ำสีน้ำตาล) และคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง

ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแทนสารเคมี) โดยใช้สูตร เเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความรุนแรงของโรค = (เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในชุดควบคุม - เเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคบนสารเคมี / เเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในชุดควบคุม) \times 100 คำนวณค่า EC₅₀ โดยใช้สมการลอการิทึมของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเคมีและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความรุนแรงของโรค ($y = a \times \ln(x) + b$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. เก็บตัวอย่างทุเรียนที่เป็นโรค แยกเชื้อบริสุทธิ์และพิสูจน์การก่อโรค

จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างทุเรียนที่เป็นโรคที่เก็บมาจากแหล่งปลูกภาคตะวันออกทั้ง 3 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี ระยอง และตราด พบว่า เชื้อทั้ง 40 ไอโซเลทที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนที่เป็นโรค (Table 1) มีลักษณะโคโลนีเป็นสีขาว เส้นใยฟูเล็กน้อยและมีการเจริญเป็นชั้นบนอาหาร half PDA ส่วน sporangia มีรูปร่างคล้ายผลแพร์ (pear shape) โดยบริเวณส่วนปลาย มี papilla และบริเวณฐานมน ภายใน sporangia บรรจุด้วย zoospore ซึ่งเป็นสปอร์ในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Prommate et al. (2019) และ Suzui et al. (1979) ที่รายงานว่าลักษณะสัณฐานของเชื้อดังกล่าวถูกระบุเป็นเชื้อ *Phytophthora* spp.

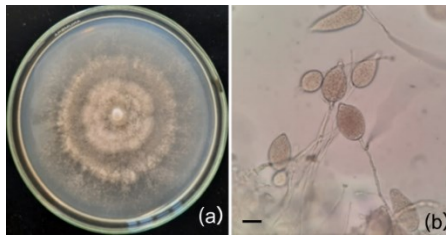


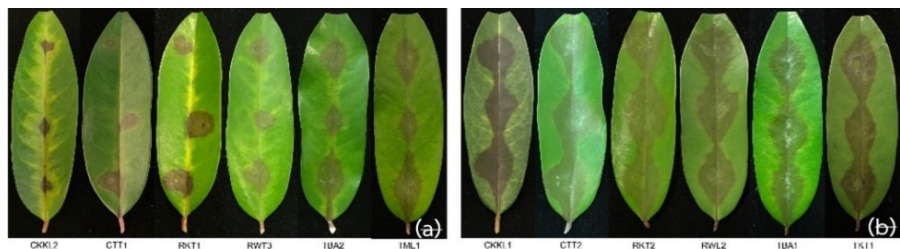
Figure 1 Colony characteristics of a representative isolate of *Phytophthora* sp. obtained from a diseased durian part on half PDA incubated at 25°C for 10 days (a) and sporangium shapes (b), scale bar = 20 μ m.

จากการนำเชื้อ *Phytophthora* spp. ทั้ง 40 ไอโซเลทที่แยกได้ มาทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองด้วยวิธี detached leaf พบว่าทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคได้ โดยเริ่มปรากฏอาการช้ำน้ำที่ 2 วันหลังการปลูกเชื้อ ซึ่งต่อมาขยายลามเป็นแผลสีน้ำตาลขนาดใหญ่ ไอโซเลทส่วนใหญ่จำนวน 32 ไอโซเลทจาก 40 ไอโซเลทก่อให้เกิดแผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 2 เซนติเมตร (Table 2, Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Koohapitagtam (2018) ที่กล่าวว่าเชื้อ *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากทุเรียนในแหล่งปลูกภาคตะวันออกจำนวน 15 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองได้เช่นเดียวกัน

Table 2 Isolates of *Phytophthora* spp. causing blight symptoms on 'Mon Thong' durian leaves obtained from artificial inoculation after 5 days of incubation.

Isolates of <i>Phytophthora</i> spp.	Disease severity ^{1/}
CKKL2, CKKL5, CTT1, RKT1, RWT1, RWT3, TBA2, TML1	++
CKKB1, CKKB2, CKKL1, CKKL3, CKKL4, CKKL6, CKLB1, CKLL1, CKLT1, CTT2, CTT2-1, CTT3, CTT4, RKT2, RWL1, RWL2, RWT2, TBA1, TBL1, TBL2, TBL3, TBT1, TKL1, TKL2, TKL3, TKT1, TKT2, TKT3, TMB1, TML2, TML3, TML4	+++

^{1/} + = lesion size <1 cm, ++ = lesion size 1–2 cm, +++ = lesion size >2 cm.

**Figure 2** Pathogenicity tests of *Phytophthora* spp. causing blight symptoms on 'Mon Thong' durian leaves obtained from artificial inoculation after 5 days of incubation, lesion size 1–2 cm (a) and lesion size >2 cm (b).

2. การระบุชนิดของเชื้อสาเหตุด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS

จากการตรวจสอบชนิด (species) ของเชื้อทั้ง 40 ไอโซเลทที่แยกได้จากต้นทุเรียนที่เป็นโรคโดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS กับฐานข้อมูลใน GenBank พบว่า ทุกไอโซเลทแสดงค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 100% กับเชื้อ *P. palmivora* isolate Pp43-Wera-leaf (GenBank accession number KP183963) ที่เป็นสาเหตุโรคที่แยกได้จากทุเรียนในประเทศอินโดนีเซีย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Kongtragoul et al. (2021) ที่เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS และ 5.8S rDNA พบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคลำต้นเน่าและผลเน่าของทุเรียนในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 17 ไอโซเลทจากทั้งหมด 20 ไอโซเลทถูกระบุชนิดเป็น *P. palmivora* เช่นเดียวกัน

3. ทดสอบความต้านทานของเชื้อต่อสารเคมีแมนโคเซบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการทดสอบความต้านทานของเชื้อ *P. palmivora* ทั้ง 40 ไอโซเลทต่อสารเคมีแมนโคเซบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ามีค่า EC_{50} ตั้งแต่ <10 – 109.86 ppm ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มอ่อนแอ (S; $EC_{50} \leq 100$ ppm) มี 37 ไอโซเลท โดยมีค่า EC_{50} <10 – 93.21 ppm และกลุ่มต้านทาน (R; $EC_{50} > 100$ ppm) มี 3 ไอโซเลท คือ CTT3, CTT4 และ RKT2 โดยมีค่า EC_{50} 103.4, 106.53 และ 109.86 ppm ตามลำดับ ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากแหล่งปลูกในอำเภอแกลง จังหวัดระยอง และอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (Figure 3) แมนโคเซบเป็นสารเคมีที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบจุดจับจำเพาะหลายจุด จึงส่งผลให้เชื้อราและสิ่งมีชีวิตคล้าย

ราที่เป็นสาเหตุโรครมีความเสี่ยงต่ำต่อการเกิดความต้านทานต่อสารเคมี (FRAC, 2022) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rekanović et al. (2012) ที่พบว่าเชื้อ *P. infestans* จำนวน 12 ไอโซเลทมีความไว (sensitive) ต่อสารเคมีแมนโคเซบ โดยมีค่า EC_{50} 3.9 – 5 ppm เช่นเดียวกับการรายงานของ Puig et al. (2021) ที่พบว่าเชื้อ *P. palmivora* จากโกโก้ จำนวน 7 ไอโซเลท มีความไวต่อสารเคมีแมนโคเซบ โดยมีค่า EC_{50} 29.5 – 41.5 ppm แต่จากการศึกษาของ Malandrakis et al. (2015) พบว่า เชื้อรา *Alternaria alternata* จำนวน 42 ไอโซเลทมีทั้งอ่อนแอและต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบ โดยมีค่า EC_{50} 2.34 – >100 ppm รวมทั้งยังพบว่าเชื้อรา *A. alternata* ที่เกิดความต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวยังเกิดความต้านทานข้ามต่อสารเคมี 2 ชนิด คือ Cyprodinil และ Tebuconazole

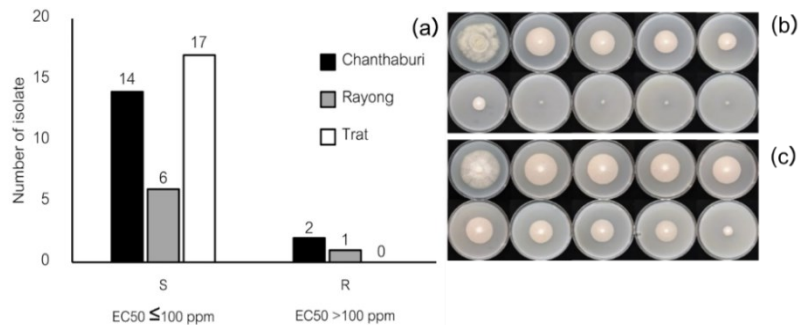


Figure 3 Sensitivity types of *P. palmivora* to mancozeb obtained from durian growing areas in eastern Thailand (a), CKKL1, a representative isolate sensitive (S) to mancozeb (b) and RKT2, a representative isolate resistant (R) to mancozeb (c). The pathogens were grown on culture medium amended with different concentrations of mancozeb at 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 ppm, starting from the left plates of the upper rows, respectively.

4. ทดสอบความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารเคมีแมนโคเซบบนเนื้อเยื่อพืช

จากการทดสอบความต้านทานของตัวแทนไอโซเลทเชื้อ *P. palmivora* ที่อ่อนแอและต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบบนเนื้อเยื่อใบทุเรียน พบว่า ไอโซเลท CKKL1^{MS} และ TML2^{MS} มีค่า EC_{50} 13.29 – 15.64 ppm ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มอ่อนแอต่อแมนโคเซบ ส่วนไอโซเลท CTT3^{MR} และ CTT4^{MR} มีค่า EC_{50} >1000 ppm ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มต้านทานต่อแมนโคเซบ (Table 3, Figure 4) โดยไอโซเลทของเชื้อทั้ง 2 กลุ่มนี้มีการตอบสนองต่อสารเคมีเช่นเดียวกับที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นในการทดสอบความต้านทานของเชื้อ *P. palmivora* ต่อสารเคมีแมนโคเซบ จึงสามารถใช้วิธีการทดสอบได้ทั้ง 2 วิธี อย่างไรก็ตาม จากการที่ค่า EC_{50} ของไอโซเลท CTT3^{MR} และ CTT4^{MR} ที่ทดสอบบนเนื้อเยื่อใบพืชมีค่า EC_{50} สูงกว่าที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อเกินกว่า 10 เท่า นั้น อาจมีสาเหตุมาจากสารเคมีแมนโคเซบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ จึงทำให้เชื้อดังกล่าวสามารถเจริญและก่อโรคบนเนื้อเยื่อพืชได้ หรืออาจเกิดจากแมนโคเซบเป็นสารเคมีประเภทสัมผัส ซึ่งไม่สามารถเคลื่อนย้ายเข้าสู่เนื้อเยื่อภายในของพืชได้ (FRAC, 2022) จึงส่งผลให้ไม่สามารถควบคุมโรคได้เท่าที่ควร หากต้องการหลีกเลี่ยงการเกิดความต้านทานของประชากรเชื้อ *P. palmivora* ของทุเรียนต่อสารเคมีแมนโคเซบในอนาคต ควรใช้สารเคมีตามอัตราแนะนำอย่างเคร่งครัด หรือสลับไปใช้สารเคมีประเภทสัมผัสในกลุ่มอื่น เช่น แคปเทน (Captan) หรือ คลอโรทาลอนิล (Chlorothalonil) เป็นต้น

Table 3 Sensitivity type of *P. palmivora* isolates to mancozeb on durian leaf tissues.

Isolates of <i>P. palmivora</i> ^{1/}	Logarithmic regression	R ²	EC ₅₀	Sensitivity type on durian leaf tissues ^{2/}
CKKL1 ^{MS}	$y = 9.65\ln(x) + 23.46$	0.89	15.64	Sensitive
TML2 ^{MS}	$y = 3.54\ln(x) + 40.83$	0.84	13.29	Sensitive
CTT3 ^{MR}	$y = 4.55\ln(x) + 16.21$	0.98	>1000	Resistant
CTT4 ^{MR}	$y = 29.12\ln(x) - 151.99$	0.94	>1000	Resistant

^{1/} MS = mancozeb-sensitive isolates, ^{MR} = mancozeb-resistant isolates obtained from culture medium technique

^{2/} Sensitive = EC₅₀ ≤100 ppm, Resistant = EC₅₀ >100 ppm

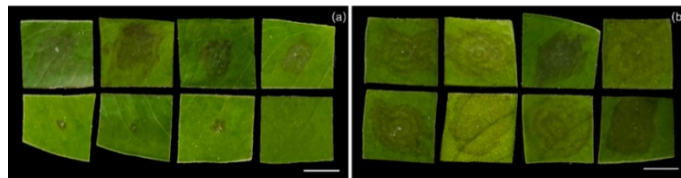


Figure 4 Water-soaked symptoms on durian leaf tissues obtained from artificial inoculation using sporangium suspension dropping technique of CKKL1, mancozeb-sensitive (a) and CTT3, mancozeb-resistant isolates (b). The durian leaf tissues were floated in mancozeb solutions at different concentrations of 0, 0.1, 1, 10, 100, 500, 1000 and 3000 ppm, starting from the left side of the upper rows, respectively, scale bar = 10 mm.

สรุปผลการศึกษา

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคลำต้นเน่าและใบไหม้ของทุเรียนในแหล่งปลูกภาคตะวันออก 3 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี ระยองและตราด ได้เชื้อ *Phytophthora* spp. จำนวน 40 ไอโซเลท โดยทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคบนใบทุเรียน และทุกไอโซเลทได้รับการยืนยันโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ว่าเป็น *P. palmivora* เมื่อทดสอบความต้านทานของเชื้อทุเรียนไอโซเลทต่อสารเคมีแมนโคเซบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ไอโซเลท CTT3 และ CTT4 ที่แยกได้จากจังหวัดจันทบุรี และไอโซเลท RKT2 ที่แยกได้จากจังหวัดระยองเกิดความต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบ ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดสอบความต้านทานของเชื้อบนเนื้อเยื่อใบทุเรียน ที่พบว่าตัวแทนไอโซเลทที่อ่อนแอต่อสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็อ่อนแอต่อสารเคมีบนเนื้อเยื่อพืชด้วย และตัวแทนไอโซเลทที่ต้านทานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็ต้านทานต่อสารเคมีบนเนื้อเยื่อพืชเช่นเดียวกัน จากการวิจัยครั้งนี้บ่งชี้ได้ว่าเชื้อ *P. palmivora* ที่แยกได้จากแหล่งปลูกทุเรียนในภาคตะวันออกของประเทศไทย มีบางไอโซเลทของเชื้อเริ่มพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีแมนโคเซบแล้ว แต่ประชากรของเชื้อส่วนใหญ่ยังอ่อนแอต่อสารเคมีอยู่ ดังนั้นเกษตรกรยังสามารถใช้สารเคมีแมนโคเซบต่อไปได้ในแหล่งปลูกที่เชื้อยังไม่เกิดความต้านทาน แต่ควรใช้เท่าที่จำเป็น และใช้ตามอัตราแนะนำอย่างเคร่งครัด รวมทั้งควรตรวจสอบความต้านทานของเชื้อเป็นระยะ ๆ เพื่อป้องกันการพัฒนาความต้านทานของประชากรเชื้อ *P. palmivora* ต่อสารเคมีแมนโคเซบในจำนวนที่มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนทางภาคตะวันออกที่อนุเคราะห์ให้ใช้พื้นที่ในการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Koohapitagtam, M. (2018). *Kānsuksā Laksana Thāng Santhānvitthaya læ Kānkoet̄rōk khōng Chuārā Phytophthora palmivora Sāhēt Rōkrāknao læ Khōnnao khōng Thuriān Nai Prathedthai* [Characterization of morphology and pathogenicity of *Phytophthora palmivora* a causal agent of root rot and stem rot of durian in Thailand]. Research. Burapha University.
- Prommate, A., Valyasevi, S., Arunothayanan, H., McGovern, R. J., Cheewankoon, R., & To-anun, C. (2019). Prasitthiphap khōng Ra Patipak *Chaetomium* spp. To *Phytophthora palmivora* (P-ha) Sāhēt Rōkrāk̄lækhōnnao Thuriān. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 47(6), 1251-1264
- Araújo, E. R., Resende, R. S., Alves, D. P., & Higashikawa, F. S. (2020). Field efficacy of fungicides to control downy mildew of onion. *European Journal of Plant Pathology*. 156(1), 305-309
- Chacón, M. G., Caicedo, E., & Ordóñez, M. E. (2022). Sensitivity to metalaxyl, mefenoxam, and cymoxanil in *Phytophthora andina* isolates collected from tree tomato (*Solanum betaceum*) in Ecuador. *Tropical Plant Pathology*. doi:10.1007/s40858-022-00512-1
- Chi, N. M., Thu, P. Q., Nam, H. B., Quang, D. Q., Phong, L. V., Van, N. D., Trang, T. T., Kien, T. T., Tam, T. T. T., & Dell, B. (2020). Management of *Phytophthora palmivora* disease in *Citrus reticulata* with chemical fungicides. *Journal of General Plant Pathology*. 86(6), 494-502
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19(1): 11-15.
- FRAC. (2022). FRAC Code List ©*2022: Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). Retrieved from: <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management>
- Gullino, M. L., Tinivella, F., Garibaldi, A., Kemmitt, G. M., Bacci, L., & Sheppard, B. (2010). Mancozeb: past, present, and future. *Plant Disease*. 94: 1076–87.
- Ivanov, A. A., Ukladov, E. O., & Golubeva, T. S. (2021). *Phytophthora infestans*: An overview of methods and attempts to combat late blight. *Journal of Fungi*. 7(12), 1071
- Jeffers, S. N., & Martin, S. B. (1986). Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease*. 70(11), 1038-1043
- Sijpesteijn, A. K. (1984). Mode of action of some traditional fungicides. In: Trinci, A. P. J., & Ryley, J. F., *Mode of Action of Antifungal Agents: Symposium series-British Mycological Society* (pp. 135-153). Cambridge: Cambridge University Press.
- Kongtragoul, P., Ishikawa, K., & Ishii, H. (2021). Metalaxyl resistance of *Phytophthora palmivora* causing durian diseases in Thailand. *Horticulturae*. 7(10), 375
- Lu, X. H., Zhu, S. S., Bi, Y., Liu, X. L., & Hao, J. J. (2010). Baseline sensitivity and resistance-risk assessment of *Phytophthora capsici* to iprovalicarb. *Phytopathology*. 100(11), 1162-1168.
- Malandrakis, A. A., Apostolidou, Z. A., Markoglou, A., & Flouri, F. (2015). Fitness and cross-resistance of *Alternaria alternata* field isolates with specific or multiple resistance to single site inhibitors and mancozeb. *European Journal of Plant Pathology*. 142(3), 489-499
- Moreira, R. R., Hamada, N. A., Peres, N. A., & De Mio, L. L. M. (2019). Sensitivity of the *Colletotrichum acutatum* Species Complex from Apple Trees in Brazil to Dithiocarbamates, Methyl Benzimidazole Carbamates, and Quinone Outside Inhibitor Fungicides. *Plant Disease*. 103(10), 2569-2576

- Puig, A. S., Quintanilla, W., Matsumoto, T., Keith, L., Gutierrez, O. A., & Marelli, J. P. (2021). *Phytophthora palmivora* Causing Disease on Theobroma cacao in Hawaii. **Agriculture**. 11(5), 396
- Ramirez-Gil, J. G., Castañeda-Sánchez, D. A., & Morales-Osorio, J. G. (2017). Production of avocado trees infected with *Phytophthora cinnamomi* under different management regimes. **Plant Pathology**. 66(4), 623-632
- Rekanović, E., Potočnik, I., Milijašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., & Mihajlović, M. (2012). Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from Serbia. **Journal of Environmental Science and Health**. 47(5), 403-409
- Suzui, T., Kueprakone, U., & Kamphangridthrong, T. (1979). *Phytophthora* spp. isolated from some economic plants in Thailand. **Technical Bulletins**. 12, 32-41
- Wong, F. P., & Wilcox, W. F. (2001). Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). **Plant Disease**. 85(6), 649-656
- Wu, Y., Lu, S., Huang, S., Fu, G., Chen, L., Xie, D., Li, Q., & Cen, Z. (2011). Field resistance of *Phytophthora melonis* to metalaxyl in South China. **Wei Sheng Wu Xue Bao**. 51(8), 1078-1086.
- Yang, L. N., He, M. H., Ouyang, H. B., Zhu, W., Pan, Z. C., Sui, Q. J., Shang, L. P., & Zhan, J. (2019). Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. **BMC Microbiology**. 19(1), 1-10
- Zhao, X., Ren, L., Yin, H., Zhou, J., Han, J., & Luo, Y. (2013). Sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph, metalaxyl and fosetyl-aluminium in Shanxi of China. **Crop Protection**. 43, 38-44

วันรับบทความ (Received date) : 21 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 30 ก.ย. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 3 ต.ค. 65

ผลการใช้ถั่วคาวาลเคตทดแทนอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในแกะรุ่น

Effects of Utilization of Cavalcade as Concentrate Diet Substitute on Performance and Economic Return in Growing Sheep

ทัสนันท์ หงสะพัก^{1*} จิดาภา บุญศรี¹ เรนูกา สมศรีธนากร¹ อาทิตย์ ปัญญาศักดิ์¹ สุนิรันท์ ทองสน¹
และ ลักษณ์ เพ็ญชัย¹

Tassanan Hongsapak^{1*}, Jidapa Boonsri¹, Renuka Somsrithanakorn¹, Arthit Panyasak¹,
Sunirun Thongson¹ and Lak Piasai¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ถั่วคาวาลเคตทดแทนอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในแกะรุ่น โดยใช้แกะพันธุ์ลูกผสมซานต้าอีนเนส เพศผู้ 8 ตัว เพศเมีย 8 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 16.5 ± 2.0 กิโลกรัม วางแผนแบบการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 หญ้ารูซี่สด (T1) กลุ่มที่ 2 หญ้ารูซี่สด เสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว (T2) กลุ่มที่ 3 หญ้ารูซี่สด:ถั่วคาวาลเคตสด 50:50 % โดยน้ำหนัก (T3) กลุ่มที่ 4 หญ้ารูซี่สดเสริมถั่วคาวาลเคตสด 1 % ของน้ำหนักตัว (T4) ผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่เสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันสูงที่สุด ($P < 0.01$) กลุ่มที่เสริมถั่วคาวาลเคต 1% ของน้ำหนักตัว มีปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง ($g/kgBW^{0.75}$) สูงที่สุด ($P < 0.01$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่:ถั่วคาวาลเคต 50:50 % โดยน้ำหนัก มีปริมาณการกินได้ของโปรตีนรวมสูงที่สุด ($P < 0.01$) และมีค่าปริมาณการกินได้ของเยื่อใยต่ำที่สุด ($P < 0.01$) กลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่มีค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ด้านผลตอบแทนทางเศรษฐกิจพบว่ากลุ่มที่เสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว และกลุ่มที่เสริมถั่วคาวาลเคต 1% ของน้ำหนักตัว มีต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนัก 1 กิโลกรัม เท่ากับ 58.13 และ 60.77 บาท/ตัว ($P > 0.05$) ดังนั้น การเสริมถั่วคาวาลเคต 1% ของน้ำหนักตัว ร่วมกับหญ้ารูซี่ในแกะพันธุ์ลูกผสมซานต้าอีนเนส สามารถเป็นทางเลือกของแหล่งโปรตีนในการทดแทนการใช้อาหารชั้นได้

คำสำคัญ: ถั่วคาวาลเคต แกะ สมรรถภาพการผลิต ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of utilization of cavalcade as concentrate diet substitute on performance, and economic return in growing sheep. Eight male and eight female Santa Ines crossbred sheep with the initial weight of 16.5 ± 2.0 kg. This experiment used randomized Completely Block Design. Four dietary treatments, were 1) ruzi (T1), 2) ruzi plus concentrate at 1% of body weight (BW) (T2), 3) ruzi : cavalcade 50:50 w/w (T3), and 4) ruzi plus cavalcade at 1%BW (T4). The results showed that the sheep fed with concentrate supplementation (1% of BW) had the significantly highest weight gain and average daily gain (ADG) ($P < 0.01$). In addition, the sheep fed with cavalcade supplement (1%

¹ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140

* Corresponding author, E-mail: tassanan.h@ku.th

of BW) had the significantly highest total dry matter intakes (g/kg BW^{0.75}) (P<0.01). The sheep fed with ruzi : cavalcade 50:50 w/w had the significantly highest total protein intake (P<0.01) but the significantly lowest NDF and ADF intake (P<0.01). The sheep fed with ruzi had the significantly lowest blood urea nitrogen. Regarding the economic return, it was found that the sheep fed with concentrate supplementation (1% of BW) and cavalcade supplementation (1% of BW) had feed cost per body weight gain of 58.13 and 60.77 Baht/sheep, respectively. It was concluded that supplementation of cavalcade 1% of BW in ruzi roughage diets could be an alternative protein source as substitution of concentrate diet for growing Santa Ines crossbred sheep.

Keywords: cavalcade, sheep, production performance, economical return

คำนำ

การเลี้ยงแกะในปัจจุบันของเกษตรกร นิยมเลี้ยงเป็นสัตว์เศรษฐกิจมากขึ้น เนื่องจากตลาดแพะแกะภายในประเทศและกลุ่มประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนมีการขยายตัว อีกทั้งยังเป็นสัตว์ที่สามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว สร้างรายได้และให้ผลตอบแทนเร็ว ใช้เงินลงทุนต่ำ โดยมีการเลี้ยงแกะในหลายพื้นที่ของประเทศ ซึ่งมีมากที่สุดในพื้นที่ภาคตะวันตก จำนวน 38,706 ตัว จำนวนเกษตรกร 659 ราย รองลงมาคือ พื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง จำนวน 27,001 ตัว จำนวนเกษตรกร 5,291 ราย (Department of Livestock Development [DLD], 2021) โดยเลี้ยงเพื่อบริโภคในประเทศและเลี้ยงเพื่อส่งออกไปยังประเทศใกล้เคียง

เกษตรกรผู้เลี้ยงแกะส่วนใหญ่จะปล่อยแกะไปแทะเล็มตามทุ่งหญ้าธรรมชาติ แต่ปัจจุบันพื้นที่หญ้าธรรมชาติลดลง อีกทั้งคุณภาพของหญ้าธรรมชาติก็ไม่สม่ำเสมอ ทำให้มีคุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของแกะ จึงทำให้เกษตรกรหันมาปลูกสร้างแปลงหญ้ามากขึ้นเพราะหญ้าที่ปลูกมีคุณภาพที่ดีกว่าและให้ผลผลิตที่สูงกว่าหญ้าธรรมชาติ DLD (2002) รายงานว่า หญ้ารูซี่ มีโปรตีน 7-10% เยื่อใย NDF 60-74% เยื่อใย ADF 35-37% มีการย่อยได้ค่อนข้างสูงถึง 55-70% เหมาะนำมาใช้เป็นอาหารหยาบ แต่อย่างไรก็ตาม แกะที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโต จะต้องการโปรตีนในปริมาณที่เหมาะสม ดังนั้น การได้รับโปรตีนจากหญ้าเพียงอย่างเดียว อาจไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตหรือการให้ผลผลิต ดังนั้นการหาแหล่งเสริมโปรตีนให้กับแกะนอกจากใช้อาหารข้นเสริมแล้ว ยังสามารถใช้ถั่วอาหารสัตว์ได้ด้วย Hare (1995) รายงานว่า ถั่วคาวาลเคดมีข้อดีกว่าพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ คือ ใบค่อนข้างยาว ส่วนของใบมีมากกว่าลำต้น เมื่อนำไปใช้เลี้ยงสัตว์จึงมีความน่ากินสูง ถั่วคาวาลเคด ที่อายุ 90-120 วัน มีโปรตีนประมาณ 15% และปริมาณโภชนะรวมที่ย่อยได้ 56% (Phonbumrung et al., 1999) จึงสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบ หรือเสริมร่วมกับถั่วชนิดอื่นเพื่อทดแทนอาหารข้นได้ Snitwong et al., (2003) ศึกษาถึงระดับของถั่วคาวาลเคดแห้งที่เหมาะสมเพื่อใช้ร่วมกับหญ้าแพงโกล่าแห้งเลี้ยงโคเนื้อพันธุ์บราห์มันเพศเมียพบว่า การใช้หญ้าแพงโกล่าแห้งผสมถั่วคาวาลเคดแห้งในอัตราส่วน 50:50 และ 25:75 % โดยน้ำหนัก ทำให้โคมีอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารไม่แตกต่างกับการใช้อาหารข้นเสริม และมีต้นทุนค่าอาหารเฉลี่ยต่อการเพิ่มน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ต่ำกว่าการใช้อาหารข้นเสริม นอกจากนี้ Harakord (2009) ได้ศึกษาการเสริมถั่วคาวาลเคดร่วมกับหญ้าแพงโกล่าในอาหารแพะเนื้อระยะกำลังเจริญเติบโต พบว่า แพะในกลุ่มที่ได้รับหญ้าแพงโกล่าเสริมอาหารข้น 1% ของน้ำหนักตัว, ถั่วคาวาลเคดหมัก 1% ของน้ำหนักตัว และถั่วคาวาลเคดแห้ง 1% ของน้ำหนักตัว มีค่าการย่อยได้

ของโปรตีนหยาบ ไนโตรเจนที่กินได้ และไนโตรเจนที่เก็บกักในร่างกาย สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับหญ้าแพงโกล่าเพียงอย่างเดียว

สำหรับข้อมูลการใช้ถั่วคาวาลเคดในแกะยังมีการศึกษาไม่มากนัก ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการใช้ถั่วคาวาลเคดเป็นแหล่งโปรตีน เพื่อทดแทนการใช้อาหารชั้นในแกะ ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการใช้พืชตระกูลถั่วเพื่อทดแทนอาหารชั้น สำหรับการลดต้นทุนการผลิตแกะขุน และเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการปลูกพืชอาหารสัตว์ใช้เองภายในฟาร์มของเกษตรกรต่อไป

วิธีการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แกะพันธุ์ลูกผสมซานตาอีนัส เพศผู้ 8 ตัว เพศเมีย 8 ตัว รวมทั้งหมด 16 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 16.5 ± 2.0 กิโลกรัม มีอายุเริ่มทดลองอยู่ที่ 4-6 เดือน เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1.5 เมตร แกะทุกตัวได้รับอาหารหยาบแบบเต็ม (ad libitum) โดยทุกกลุ่มการทดลองมีการคำนวณปริมาณการที่กินได้ของวัตถุดิบเท่ากับ 3% ของน้ำหนักตัว แบ่งให้อาหารให้วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 08.00 น. และ 16.00 น. และมีน้ำสะอาดให้แกะกินตลอดระยะเวลาทดลอง 60 วัน การทดลองนี้อยู่ภายใต้กฎระเบียบที่คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์กำหนด (ACKU64-AGK-026)

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design) โดยใช้เพศเป็นบล็อก โดยมีอาหารทดลองที่แตกต่างกัน 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หญ้าซูซีสด 100%

กลุ่มที่ 2 หญ้าซูซีสด 100% เสริมอาหารชั้นทางการค้า (16% โปรตีน) 1% ของน้ำหนักตัว

กลุ่มที่ 3 หญ้าซูซีสด : ถั่วคาวาลเคดสด อัตราส่วน 50:50 % โดยน้ำหนัก

กลุ่มที่ 4 หญ้าซูซีสด 100% เสริมถั่วคาวาลเคดสด 1% ของน้ำหนักตัว

บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือในวันถัดไป แล้วนำมาคำนวณปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน ซึ่งน้ำหนักแกะที่ 30 และ 60 วันหลังจากเริ่มทดลอง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักในแต่ละช่วง รวมทั้งคำนวณอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 60 ของการทดลอง) เจาะเลือดแกะทุกตัว ณ ชั่วโมงที่ 0 และ ชั่วโมงที่ 4 หลังกินอาหาร เพื่อวิเคราะห์ค่ากลูโคสในเลือด และ ค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดแกะ คำนวณต้นทุนการผลิตได้แก่ ต้นทุนค่าอาหารทั้งหมดต่อตัวสัตว์ และต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม

สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าซูซี ถั่วคาวาลเคด และอาหารชั้น นำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปบดผ่านรตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อเก็บไว้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีนรวม และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) วิเคราะห์ผนังเซลล์ลิกโนเซลลูโลส และ ลิกนิน ตามวิธีการของ Goering & Van Soest (1970)

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก ปริมาณการกินได้ ค่าชีวเคมีในเลือด (ค่ากลูโคสในเลือด และค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด) ต้นทุนค่าอาหาร และค่าอาหารต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นแต่ละตัว นำมาเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ generalized linear models (GLM) แบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized completely block design) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS® OnDemand for Academics Copyright©2014

ผลการศึกษาและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้ารูซี่สด พบว่า มีโปรตีนรวม 3.35% เยื่อใย NDF 77.06% เยื่อใย ADF 50.72% และ ลิกนิน (ADL) 8.6% (Table 1) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำ และเยื่อใยสูง เมื่อเปรียบเทียบกับ DLD (2002) รายงานว่า หญ้ารูซี่ มีโปรตีน 7-10% เยื่อใย NDF 60-74% เยื่อใย ADF 35-37% ในขณะที่ Pholsen et al. (2014) พบว่า หญ้ารูซี่ที่ปลูกโดยใช้เพียงปุ๋ยคอกในอัตรา 4 ตัน/ไร่ มีโปรตีน 8.57% เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้ให้ปุ๋ยเคมี จึงอาจส่งผลต่อการสะสมโปรตีนในหญ้าน้อยลง และหญ้ารูซี่มีอายุการตัดมากกว่า 60 วัน ทำให้คุณค่าทางโภชนาการของหญ้ารูซี่ลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของถั่วคาวาลเคดสด พบว่า มีโปรตีนรวม 18.78% เยื่อใย NDF 51.67% เยื่อใย ADF 44.39% และ ลิกนิน (ADL) 11.45% (Table 1) Namsele et al. (2003) รายงานว่า ถั่วคาวาลเคดตัดที่อายุ 60 วัน มีปริมาณวัตถุแห้งค่อนข้างต่ำ คือ 26 – 27% มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง คือ 15-16% ซึ่งเป็นเกณฑ์เฉลี่ยของถั่ว จัดเป็นอาหารหยาดคุณภาพดี DLD (2004) รายงานว่า ถั่วคาวาลเคดแห้งมีโปรตีนหยาด 14.5% เยื่อใย NDF 60-74% เยื่อใย ADF 35-37% มีการย่อยได้ค่อนข้างสูงถึง 55-70% โดยหญ้าอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพดี ควรมีระดับโปรตีนรวมไม่ต่ำกว่า 7% เยื่อใย NDF ไม่มากกว่า 60% และเยื่อใย ADF ไม่มากกว่า 35%

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นเชิงการค้า พบว่า มีโปรตีนรวม 16.34% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ใกล้เคียงกับถั่วคาวาลเคดสดที่ใช้ในการทดลอง (Table 1)

Table 1 Chemical composition of experimental diets.

	Fresh Ruzi	Fresh Cavalcade	Concentrate
Dry matter (DM)	46.56	25.65	89.86
-----%Dry matter-----			
Organic matter (OM)	94.91	91.63	91.76
Crude protein (CP)	3.35	18.78	16.34
Neutral detergent fiber (NDF)	77.06	51.67	40.59
Acid detergent fiber (ADF)	50.72	44.39	26.33
Acid detergent lignin (ADL)	8.60	11.45	5.65

สมรรถภาพการผลิต

ผลของการใช้ถั่วคาวาลเคดแทนอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิตของแกะรุ่น พบว่า แกะกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดและเสริมด้วยอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว มีน้ำหนักสิ้นสุด เท่ากับ 20.39 กิโลกรัม น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 3.58 กิโลกรัม และ อัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 59.66 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งมีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ และมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารมีแนวโน้มดีที่สุด ($P = 0.0523$) เท่ากับ 20.40 ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดเพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สด : ถั่วคาวาลเคดสด 50:50 % โดยน้ำหนัก มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารมีแนวโน้มต่ำที่สุด เท่ากับ 58.74 และ 61.01 แต่มีแนวโน้มไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่เสริมถั่วคาวาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว เท่ากับ 48.05 อย่างไรก็ตาม

เพศของแกะไม่มีอิทธิพลร่วมต่อสมรรถภาพการผลิต ได้แก่ น้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 2

จากผลการทดลอง กลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสด : ถั่วคาวาลเคด 50:50 % โดยน้ำหนักนั้น มีสมรรถภาพการผลิตใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสดเพียงอย่างเดียว เนื่องจากหญ้ารัฐสดที่ใช้ในการทดลองอาจจะมีอายุมาก ทำให้คุณค่าทางโภชนาการต่ำลง การกินถั่วคาวาลเคดในปริมาณมาก อาจมีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไม่เต็มที่ เนื่องจากถั่วคาวาลเคดมีปริมาณพลังงานค่อนข้างต่ำ (2.13 MCal/Kg) (Cheva-Isaraku et al., 2001) ดังนั้น การใช้ถั่วคาวาลเคดเพื่อเลี้ยงสัตว์ควรมีการเสริมด้วยอาหารพลังงานที่ใช้ประโยชน์ง่าย เช่น มันสำปะหลัง เพื่อช่วยปรับสมดุลของโปรตีนและพลังงาน ทำให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนในถั่วคาวาลเคดเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (DLD, 2004) ส่วนกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว มีสมรรถภาพการผลิตที่ดีที่สุด เนื่องจากอาหารชั้นมีโปรตีน 16.34% และมีเยื่อใยต่ำ ทำให้แกะใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้เต็มที่ ซึ่งแกะรุ่นต้องการโปรตีนที่ 14-16% ต่อวัน (NRC, 2007) แต่อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่ได้รับหญ้าสดเสริมถั่วคาวาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว มีสมรรถภาพการผลิตลำดับรองลงมาจากกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว อาจเนื่องจากมีปริมาณถั่วคาวาลเคดที่เหมาะสม จึงทำให้มีสมรรถภาพการผลิตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับรัฐสดอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสด:ถั่วคาวาลเคด 50:50 % โดยน้ำหนัก

Table 2 Effects of utilization of cavalcade as substitution of concentrate diet on production performance of experimental growing sheep.

Parameter	T1:	T2: Ruzi+	T3:	T4: Ruzi+	P-Value	
	Ruzi	Concentrate 1%BW	Ruzi:Cavalcade 50:50 %w/w	Cavalcade 1%BW	TRT	Sex
Initial weight (Kg)	16.74±0.89	16.54±0.92	17.07±0.92	16.90±0.89	NS	NS
Final weight (Kg)	18.19±0.38 ^B	20.39±0.40 ^A	17.99±0.40 ^B	18.93±0.89 ^B	<0.01	NS
Weight gain (Kg)	1.38±0.38 ^B	3.58±0.40 ^A	1.18±0.40 ^B	2.12±0.38 ^B	<0.01	NS
ADG (g)	22.94±6.37 ^B	59.66±6.63 ^A	19.59±6.60 ^B	35.32±6.37 ^B	<0.01	NS
FCR	58.74±9.06	20.40±9.43	61.01±9.39	48.05±9.07	0.0523	NS

^{AB} Means in the same row with different superscript differ highly significantly ($P<0.01$)

NS = Not significant ($P>0.05$), ADG = Average daily gain, FCR = Feed conversion ratio

ปริมาณอาหารที่กิน

ผลของการใช้ถั่วคาวาลเคดแทนอาหารชั้นต่อปริมาณอาหารที่กิน พบว่า แกะกลุ่มที่ให้ได้รับหญ้ารัฐสดเพียงอย่างเดียว และแกะกลุ่มที่ได้รับหญ้าสด:ถั่วคาวาลเคด 50:50 % โดยน้ำหนัก มีค่าปริมาณการกินได้วัดถั่วแห้งต่ำที่สุด ($P<0.01$) แต่แกะกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสดเสริมถั่วคาวาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว มีปริมาณการกินได้น้ำหนักตัว (% น้ำหนักตัว) และปริมาณการกินได้เมทาบอลิก^{0.75} สูงที่สุด ($P<0.01$) ส่วนแกะกลุ่มที่ได้รับที่หญ้ารูรัฐสดเพียงอย่างเดียวมีปริมาณการกินได้ของโปรตีนรวม ถั่ว และลิกนินต่ำที่สุด ($P<0.01$) นอกจากนี้ แกะกลุ่มที่ได้รับหญ้ารัฐสด:ถั่วคาวาลเคด 50:50 % โดยน้ำหนัก มีค่าปริมาณการกินได้ของโปรตีนรวมสูงที่สุด ($P<0.01$) และมีค่าปริมาณการกินได้ของเยื่อใย NDF และเยื่อใย ADF ต่ำที่สุด ($P<0.01$) ส่วนแกะกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูรัฐสดเสริมถั่ว

ควาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว มีค่าปริมาณการกินได้ของถั่ว, เยื่อใย NDF, เยื่อใย ADF และลิกนินสูงที่สุด ($P < 0.01$) นอกจากนี้ พบว่า เพศของแกะไม่มีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณการกินได้ ($P > 0.05$) ดังแสดง Table 3

แกะกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สด:ถั่วควาลเคดสด 50:50 % โดยน้ำหนัก มีปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักตัว (% น้ำหนักตัว) ลดลง อาจเกิดจากปริมาณถั่วควาลเคดที่เพิ่มขึ้น โดยถั่วควาลเคดมีความหนาแน่นต่ำ ความฟามสูง จึงมีผลต่อความจุของกระเพาะทำให้ปริมาณการกินของแกะลดลง (Snitwong et al., 2003) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mertens (1995) ที่รายงานว่ ปริมาณเยื่อใยในอาหารมีผลต่อการใช้ประโยชน์ของอาหาร เมื่อเยื่อใยในอาหารมากส่งผลให้ปริมาณการกินได้ลดลง เช่นเดียวกับการรายงานของ Mungman (2007) รายงานว่าโคนมมีปริมาณการกินได้ลดลง เมื่อเพิ่มระดับถั่วควาลเคดแห้งในสูตรอาหารผสมสำเร็จ แต่กลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเสริมถั่วควาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว พบว่า มีปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้เมทาบอลิซึม^{0.75} เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่หญ้าที่สด:ถั่วควาลเคดสด 50:50 % โดยน้ำหนัก และกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเสริมถั่วควาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว จะมีปริมาณการกินได้ของโปรตีนค่อนข้างสูง แต่ก็มีสมรรถภาพการผลิตที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว อาจเพราะการเสริมถั่วควาลเคด ทำให้มีค่าลิกนินที่สูงขึ้น การย่อยได้ของโภชนะและปริมาณการกินได้จึงต่ำลง สอดคล้องกับการรายงานของ Veerasilp (1997) ที่รายงานว่ ลิกนินจะเข้าไปจับตัวกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ทำให้เอนไซม์ของจุลินทรีย์เข้าย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้น้อยลงส่งผลทำให้การย่อยได้ลดลง ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้ลดลงด้วย ซึ่ง NRC (2007) รายงานว่ แกะระยะรุ่น น้ำหนัก 20 กิโลกรัม ที่มีอัตราการเจริญเติบโตวันละ 100 กรัม/วัน มีความต้องการโปรตีน 68-73 กรัม/วัน

ค่าชีวเคมีในเลือด

ผลของการใช้ถั่วควาลเคดแทนอาหารชั้นต่อการเปลี่ยนแปลงค่าชีวเคมีในเลือด พบว่ ค่ากลูโคสในกระแสเลือดที่ชั่วโมงที่ 0 และ 4 หลังกินอาหาร มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทุกกลุ่มการทดลอง ส่วนค่ายูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดที่ชั่วโมงที่ 0 และ 4 หลังกินอาหาร พบว่ กลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเพียงอย่างเดียว มีค่ายูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สด:ถั่วควาลเคด 50:50 % โดยน้ำหนัก และกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเสริมถั่วควาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว อย่างไรก็ตาม เพศของแกะไม่มีอิทธิพลร่วมต่อการเปลี่ยนแปลงค่าชีวเคมีในเลือด ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 4

ค่ากลูโคสในกระแสเลือดของแกะทุกกลุ่มการทดลอง อยู่ในช่วง 61.26-76.88 mg% ซึ่งสอดคล้องกับ Anonymous (2011) ที่รายงานว่ แกะมีค่ากลูโคสในกระแสเลือด 48-80 mg% ส่วนค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด พบว่ ทุกกลุ่มการทดลอง มีค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด อยู่ในช่วง 7.24-12.27 mg% ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเพียงอย่างเดียว มียูเรียไนโตรเจนในเลือด อยู่ในช่วง 4.21-4.73 mg% ซึ่งต่ำกว่าระดับที่ Wanapat (1990) ได้รายงานว่ ระดับความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องอยู่ในช่วง 6.3-25.5 mg% ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณและความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนที่สัตว์ได้รับด้วย หากแอมโมเนียไนโตรเจนต่ำ แสดงถึงปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะรูเมนไม่เพียงพอ ซึ่งเกิดจากระดับโปรตีนในอาหารไม่เพียงพอ (Jindaniradool, 2013) การที่ค่ายูเรียไนโตรเจนในชั่วโมงที่ 0 มีค่าแตกต่างกันนั้น อาจเกิดจากถั่วควาลเคดมีปริมาณคอนเดนทแทนนิน (8.4 กรัม/กิโลกรัมวัตถุดิบ) (Pootaeng-on et al., 2015) ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสม (5 – 55 กรัม/กิโลกรัมวัตถุดิบ) ที่ถั่วควาลเคดจะสามารถคงตัวอยู่ในกระเพาะรูเมน และไม่ถูกย่อยในกระเพาะรูเมน แต่ผ่านมายังกระเพาะโอม่าซิมและลำไส้เล็ก เพื่อถูกย่อยและ

ดูซึมต่อไป (García-Ferrer et al., 2016) ดังนั้น ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ยังคงอยู่ในระดับสูงอาจเป็นผลจากอัตราการย่อยสลายโปรตีนที่ช้าลงของอาหารมูก่อนวันที่จะมีการเจาะเลือดได้ โดยระดับยูเรียในเลือดจะเปลี่ยนแปลงล่าช้ากว่าระดับแอมโมเนียในรูเมน ประมาณ 4-8 ชั่วโมง (Lewis, 1957)

Table 3 Effects of utilization of cavalcade as substitution of concentrate diet on daily dry matter and nutrient feed intake of experimental growing sheep.

Parameter	T1:	T2: Ruzi+	T3:	T4: Ruzi+	P-Value	
	Ruzi	Concentrate 1%BW	Ruzi:Cavalcade 50:50 %w/w	Cavalcade 1%BW	TRT	Sex
Ruzi (g/d)	1,151.20	1125.60	683.48	1086.12	-	-
Cavalcade (g/d)	-	-	425.28	304.06	-	-
Concentrate (g/d)	-	179.72	-	-	-	-
DM (g/d)	1152.72±26.88 ^B	1313.20±27.98 ^A	1101.42±27.87 ^B	1388.32±26.89 ^A	<0.01	NS
%BW	6.35±0.16 ^B	6.46±0.17 ^B	6.19±0.17 ^B	7.35±0.16 ^A	-	-
g/kg BW ^{0.75}	131.01±3.08 ^B	137.24±3.21 ^B	126.82±3.20 ^B	153.13±3.09 ^A	-	-
OM (g/d)	1094.02±25.49 ^B	1240.52±26.53 ^A	1031.57±26.42 ^B	1307.72±25.50 ^A	<0.01	NS
CP (g/d)	38.74±1.14 ^D	68.15±1.19 ^C	101.74±1.80 ^A	93.26±1.14 ^B	<0.01	NS
Ash (g/d)	58.70±1.40 ^C	72.68±1.45 ^B	69.85±1.45 ^B	80.60±1.40 ^A	<0.01	NS
NDF (g/d)	888.69±22.53 ^B	947.59±22.46 ^A	756.89±23.36 ^C	992.19±22.54 ^A	<0.01	NS
ADF (g/d)	585.01±14.96 ^{BC}	623.55±15.57 ^B	541.81±15.50 ^C	684.50±14.96 ^A	<0.01	NS
ADL (g/d)	99.23±4.06 ^B	99.65±4.22 ^B	107.65±4.21 ^B	127.90±4.06 ^A	<0.01	NS

DM = Dry matter, OM = Organic matter, CP = Crude protein, NDF = Neutral detergent fiber, ADF = Acid detergent fiber, ADL = Acid detergent lignin

^{ABCD} Means in the same row with different superscript differ highly significantly (P<0.01)

NS = Not significant (P>0.05)

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ผลของการใช้ถั่วคาวาคัดแทนอาหารชั้นต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจพบว่า กลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดเพียงอย่างเดียว มีต้นทุนค่าอาหารทั้งหมดต่ำที่สุด (P<0.01) เท่ากับ 74.18 บาท/ตัว และกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัวมีต้นทุนค่าอาหารทั้งหมดสูงที่สุด (P<0.01) เท่ากับ 205.06 บาท/ตัว ส่วนค่าอาหารต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม พบว่า ทุกกลุ่มการทดลองมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่จะเห็นว่ากลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดเสริมอาหารชั้น 1% ของน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ได้รับหญ้ารูซี่สดเสริมถั่วคาวาคัด 1% ของน้ำหนักตัว มีค่าอาหารต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัมใกล้เคียงกัน เท่ากับ 58.13 และ 60.77 บาท/ตัว ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 5

Table 4 Effects of utilization of cavalcade as substitution of concentrate diet on blood chemistry of experimental growing sheep.

Parameter	T1:	T2: Ruzi+	T3:	T4: Ruzi+	P-Value	
	Ruzi	Concentrate 1%BW	Ruzi:Cavalcade 50:50 %w/w	Cavalcade 1%BW	TRT	Sex
Hour 0						
- BG (mg %)	69.26±5.58	71.03±5.01	65.80±4.86	65.93±4.73	NS	NS
- BUN (mg %)	4.21±1.64 ^b	7.24±1.47 ^{ab}	12.14±1.43 ^a	9.91±1.39 ^a	<0.05	NS
Hour 4						
- BG (mg %)	76.88±5.67	70.17 ± 5.90	62.44±5.87	61.26±5.67	NS	NS
- BUN (mg %)	4.73±1.59 ^b	7.55±1.66 ^{ab}	12.27±1.65 ^a	10.20±1.60 ^a	<0.05	NS

BG = Blood glucose, BUN = Blood urea nitrogen

^{ab} Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05)

NS = Not significant (P>0.05)

Table 5 Effects of utilization of cavalcade as substitution of concentrate diet on economical return of experimental growing sheep.

Parameter	T1:	T2: Ruzi+	T3:	T4: Ruzi+	P-Value	
	Ruzi	Concentrate 1%BW	Ruzi:Cavalcade 50:50 %w/w	Cavalcade 1%BW	TRT	Sex
Total feed cost (Baht/sheep)	74.29±1.95 ^D	205.06±2.03 ^A	92.01±2.02 ^C	105.40±1.95 ^B	<0.01	NS
Feed cost per gain (Baht/kg)	63.07±12.24	58.13±12.74	84.45±12.69	60.77±12.24	NS	NS

^{AB} Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05)

NS = Not significant (P>0.05)

สรุปผลการศึกษา

การเสริมถั่วคาวาลเคดในปริมาณที่ต่างกัน เพื่อทดแทนการใช้อาหารชั้นในแกะลูกผสมพันธุ์ชานด้า อินเนส พบว่า การใช้ถั่วคาวาลเคดเสริมในปริมาณมาก (หญ้าที่ตัด : ถั่วคาวาลเคดสด 50 : 50 % โดยน้ำหนัก) ทำให้ปริมาณการกินได้และการเจริญเติบโตของแกะลดลง ต้นทุนต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวแกะสูงขึ้น ในขณะที่การใช้ถั่วคาวาลเคดเสริมในระดับต่ำ (หญ้าที่ตัดเสริมถั่วคาวาลเคด 1% ของน้ำหนักตัว) ทำให้ปริมาณการกินได้และการเจริญเติบโตของแกะเพิ่มขึ้น ต้นทุนต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวแกะต่ำลง ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการเสริมอาหารชั้นระดับ 1% ของน้ำหนักตัว ดังนั้น การเสริมถั่วคาวาลเคดที่ระดับ 1% ของน้ำหนักตัว สามารถเป็นทางเลือกของแหล่งโปรตีนในการทดแทนการใช้อาหารชั้น และช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงแกะได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยจากโครงการสนับสนุนงานวิจัย ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน และ ฟาร์มแพะแกะ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่เอื้อเพื่อสถานที่สำหรับทำงานวิจัยมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- Anonymous. (2011). **Clinical Chemistry Reference Intervals Veterinary Medical**. Retrieved from: https://www.vetmed.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk491/files/local_resources/pdfs/lab_pdfs/UC_Davis_VMTH_Chem_Reference_Intervals.pdf.
- AOAC (1990). **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Arlington, VA. : Association of Official Analytical Chemist.
- García-Ferrer, L., Bolaños-Aguilar E. D., Lagunes-Espinoza, L. C., Ramos-Juárez, J., & Osorio-Arce M. M. (2016) Concentration of phenolic compounds in tropical forage fabaceae at different regrowth time. **Agrociencia**. 50(4), 429-440.
- Goering, H. K. & Van Soest, P. J. (1970). **Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications)**. Agriculture Handbook No. 379. Washington DC. : U.S. Government Printing Office.
- Hare, M.D. (1995). **Potential for forage and forage seed production in Northeast Thailand**. Ubon-Ratchathani: Faculty of Agriculture, Ubon-Ratchathani University.
- Lewis, D. (1957). Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. **Journal of Agricultural Science**. 48(4), 438-446.
- Mertens, D. R. (1995). **Defining Effective Fiber and fiber Recommendations for Dairy cows**. U.S.Dairy Forage Research Center. Retrieved from: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/50901500/RS95_pdfs/fu2.pdf.
- National Research Council. (2007). **Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids**. Washington DC. : The National Academies Press.
- Cheva-Isarakul, B., Anghong, W., Cheva-Isarakul, B., & Promma, S. (2001). phalangngān sutthi khōng ‘āhān pǣt chanit thī pramœ̄n doī withī wat parimā̄t kǣt lǣ pH nai rū mē̄n nū̄a khō̄ dai rap ‘āhān tāng chanit kan. [Net energy of 8 feedstuffs evaluated by Gas Test and ruminal pH of cows consuming different rations]. In **Proceedings of the 39th Kasetsart University Annual Conference: Animals, Veterinary Medicine**. (pp.104-112). Bangkok: Kasetsart University.
- Department of Livestock Development. (2002). **yarūsī**. [Ruzi grass]. Bangkok: The Agricultural Co-Operative Federation of Thailand Printing Press, Ltd.
- Department of Livestock Development. (2004). **khunkhā thāng phōtchana khōng thuākhawān khēt hæng**. [Nutritional value of dried cavalcaedes]. Retrieved from: http://nutrition.dld.go.th/Nutrition_Knowledge/ARTICLE/ArtileW.htm.
- Department of Livestock Development. (2021). **khōmūn chāmnuān kasettrakō̄n phū liāng sat lǣ pasu sat pī sō̄ngphanhā̄rō̄jhoksipsī** [Number of farmers and animal populations 2021]. Retrieved from: <https://opendata.nesdc.go.th/dataset/d7681470-0120-47ab-8315-5cd28b9539c8/resource/1b116b37-ce19-415d-ae04-dd734add184f/download/-2564.pdf>.
- Harakord, W. (2009). **kān sœ̄m thuākhawān khēt nai ‘āhān phǣ nū̄a raya lang charœ̄n tœ̄ptō**. [Supplementation of Cavalcade (*Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade) in Growing Meat Goat Diet]. Master’s thesis. Suranaree University.

- Jindaniradool, A. (2013). **kānchai phūt 'āhān sat khunnaphāp dī tō kān charoen toēpto chotchōēi nai phæ nūa lūkphasom 'ængkōnnū biān.** [Good Quality Forage Utilization on compensatory Growth of Anglo-Nubian Crossbred Goats]. Master's thesis. Kasetsart University.
- Mungman, J. (2007). **phon khōng kānchai thuākhāwān khēt [Centrosema pascuorum cv . Cavalcade] hæng ruām kap fāng khāo rū sang khāophot pen læng 'āhān yāp nai sūt 'āhān phasom samret tō parimān kānkin dai kān yōi dai krabuānkān mak nai krapho rū mēn kānhai phonphalit læ 'ongprakop namnom nai khō hai nom** [Effects of levels of cavalcade (*Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade) hay with rice straw or corn cobs as roughage sourced in total mixed ration on intake digestibility, rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows]. Master's thesis. Khon Kaen University.
- Phonbumrung, T., Chitbantao, T., Ritnamkhum, S., & Ritruetchai, V. (1999). **kānchai thuākhāwān khēt hæng pen 'āhān yāp liāng khōnom.** [The use of dried cavalcade as a roughage for dairy cattle]. Department of Livestock Development. Retrieved from: http://nutrition.dld.go.th/Nutrition_Knowledge/ARTICLE/Pro34.htm.
- Namsele, R., Khuamangkorn, P., Pholsen, P., & Martosot, S. (2003). **kānsuksā khunnaphāp phūt mak thī 'āyu kān mak tāng tāng kan khōng yāru sī thuāthā phrasatai loha yā phæng kolā læ thuākhāwān khēt** [The Study on Silage Quality of Ruzi (*Brachairia ruziziensis*), *Thapra Stylo* (*Stylosanthes guainensis* CIAT 184), Pangola (*Digitaria erantha*) and Cavalcade (*Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade) at Different Stages of Fermentation]. In **Animal Nutrition Division Annual Research Report 2003.** (126-140). Bangkok: Department of Livestock Development.
- Pholsen, S., Rodchum, P., Sommart, K., Ta-un, M., & Higgs, D.E.B. (2014) **phonphalit læ khunnaphāp khōng phūt 'āhān sat thī dai chāk yā 'āhān sat sām chanit læ withī phalit bæp 'insī thī mī læ mai mī thuā plūkphasom.** [Dry matter yield and quality of forages derived from three grass species with and without legumes using organic production methods]. **Khon Kaen Agriculture Journal.** 42(1), 65-80.
- Pootaeng-on, Y., Kimsri, N., Sooksom, S., Tangchaitam, S., & Na Chiangmai, P. (2015) Condensed Tannins in Some Tropical Legumes Residue. **Silpakorn University Science and Technology Journal.** 9(1), 51-60.
- Snitwong, C., Jongjaipak, P., & Pholsen, P. (2003). **khunkhā thāng phōtchana khōng thuākhāwān khēt læ radap kān soēm thuākhāwān khēt nai khō nūa.** [The Nutritive Value of Cavalcade Hay and Supplementation levels of Cavalcade Hay for Beef Cattle]. In **Animal Nutrition Division Annual Research Report 2003.** (264-276). Bangkok: Department of Livestock Development.
- Vearasilp, T. (1997). **phōtchana sāt sat khīeo 'uāng.** [Ruminant Nutrition]. Chiang Mai: Trio advertising & media Co.,Ltd.
- Wanapat, M. (1990). **phōtchana sāt sat khīeo 'uāng.** [Ruminant Nutrition]. Bangkok. Funny publishing.

วันรับบทความ (Received date) : 21 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 29 ส.ค. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 7 ต.ค. 65

ผลของจุลินทรีย์ *Lactobacillus ingluviei* C37 รูปแบบเซลล์ตายในอาหาร ต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน

The Efficacy of Dietary Dead Cell *Lactobacillus ingluviei* C37 on Carcass Characteristics, Meat Quality and Gut Health in Broilers Subjected to Heat Stress

สิทธิพงษ์ รักษาม¹ เมริสา ศิริโสภาพงษ์¹ ชญาณันันท์ ปักกิ่ง¹ และ สุติศา เข้มพะกา^{1*}
Sittthipong Rakngam¹, Merisa Sirisopapong¹, Chayanan Pukkung¹ and Sutisa Khempaka^{1*}

บทคัดย่อ

ความเครียดจากความร้อนเป็นอีกปัญหาหนึ่งที่สำคัญซึ่งส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมสัตว์ปีกทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ *L. ingluviei* C37 รูปแบบเซลล์ตาย (DC-LIC37) ต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อน ใช้ไก่เนื้อเพศผู้สายพันธุ์รอส 308 (อายุ 1 วัน) จำนวน 360 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 1) กลุ่มควบคุมเลี้ยงภายใต้สภาวะที่อยู่อย่างสบาย อุณหภูมิ $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ และได้รับอาหารพื้นฐาน (control) ขณะที่กลุ่ม 2-6 เลี้ยงภายใต้ภาวะที่ได้รับความเครียดจากความร้อนแบบเรื้อรัง อุณหภูมิ $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ วันละ 5 ชั่วโมง ตั้งแต่อายุ 15 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลองและได้รับอาหารกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งดังนี้ 2) กลุ่มควบคุมลบได้รับอาหารพื้นฐานที่ปราศจากสารเสริม (NC) 3) กลุ่มควบคุมบวกได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม Zinc bacitracin ที่ระดับ 0.05 ก./กก. อาหาร (PC) 4-6) กลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม DC-LIC37 ระดับ 1×10^7 1×10^8 และ 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า DC-LIC37 สามารถปรับปรุงน้ำหนักมีชีวิต ซาก เนื้ออก หัวใจ ม้ามและตับของไก่เนื้อในภาวะความเครียดจากความร้อนได้ นอกจากนี้ DC-LIC37 ยังช่วยลดผลกระทบจากการเกิดลิปิดออกซิเดชัน (TBARS) เพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ในเนื้อสะโพก ปรับปรุงสัญญาณวิทยาของลำไส้ และปรับเปลี่ยนประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ ผลการทดลองบ่งชี้ว่าการเสริม DC-LIC37 ในอาหารที่ระดับ 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร สามารถปรับปรุงลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และสุขภาพลำไส้ในไก่เนื้อที่เลี้ยงภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อนได้

คำสำคัญ: *L. ingluviei* C37 รูปแบบเซลล์ตาย ความเครียดความร้อน สุขภาพลำไส้ ไก่เนื้อ

Abstract

Heat stress (HS) is a serious problem affecting the worldwide poultry industry, especially in hot and humid countries like Thailand. The aim of this work was to evaluate the efficacy of dead cell *L. ingluviei* C37 (DC-LIC37) on carcass characteristics, meat quality and gut health (gut morphology and cecal microbial population) in broilers under heat stress. Three hundred and sixty male broilers Ross 308 (1-d-old) were allocated into 6 groups with 6 replications each in a completely randomized design (CRD). 1) the control group was raised

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

¹ School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Mueang, Nakhon-Ratchasima 30000

* Corresponding author, E-mail: Khampaka@sut.ac.th

under thermoneutral zone conditions at $21 \pm 1^\circ\text{C}$ (TNZ) and received basal diets (control). In contrast, the 15-day-old groups 2-6 were exposed to chronic HS at $32 \pm 1^\circ\text{C}$ for 5 h daily, until the end of the experiment and received one of the following 5 diets: 2) the negative control group received basal diet without any supplementation (NC); 3) the positive control group received basal diet + Zinc bacitracin 0.05 g/kg diet (PC); 4-6) the treatment groups received basal diet + DC-LIC37 at levels 1×10^7 , 1×10^8 , and 1×10^9 CFU/kg diet, respectively. The results revealed that DC-LIC37 can improve live, carcass, breast, liver, spleen, and heart weight in the HS condition. In addition, feeding DC-LIC37 in broilers subjected to HS can also mitigate the negative effect on lipid oxidation (decreased TBARS), activate the antioxidant activity (increased DPPH) in the thigh meat, and improve gut morphology and cecal microbial population in HS groups. The results indicated that DC-LIC37 supplementation at level of 1×10^9 CFU/kg diet has the potential to improve carcass characteristics, meat quality and gut health in broilers under HS.

Keywords: dead cell *L. ingluviei* C37, heat stress, broilers, gut health

คำนำ

ปัจจุบันทั่วโลกกำลังประสบกับปัญหาภาวะโลกร้อนและการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศอย่างรุนแรงซึ่งภาวะดังกล่าวนี้ส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียดจากความร้อนและสร้างความเสียหายต่อระบบอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกเป็นวงกว้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตไก่เนื้อในภูมิภาคเขตร้อนขึ้นอย่างประเทศไทย (Renaudeau et al., 2012) ความเครียดจากความร้อนก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีผลรบกวนระบบภูมิคุ้มกันเซลล์กล้ามเนื้อและสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยและใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการโดยประสิทธิภาพลดลง สมรรถนะการเจริญเติบโตลดลง ลักษณะและองค์ประกอบซากเกิดความผิดปกติ (Mujahid et al., 2007; Quinteiro-Filho et al., 2010) รวมถึงคุณภาพเนื้อและการเน่าเสียอย่างรวดเร็วจากการเกิดลิวปีดออกซิเดชัน (Cramer et al., 2018) ซึ่งที่ผ่านมามีการเข้ายาปฏิชีวนะในระดับที่ต่ำกว่าการรักษาเพื่อเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตและรักษาสุขภาพทางเดินอาหาร (Rahimi & Khaksefidi, 2006) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ในปริมาณมากและระยะเวลาที่นานจะทำให้เกิดการตกค้างในเนื้อและผลิตภัณฑ์และยังทำให้เชื้อจุลินทรีย์เกิดการดื้อยา (Shazali et al., 2014; Odore et al., 2015) นำไปสู่การประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะของสหภาพยุโรปและอีกหลาย ๆ ประเทศตั้งแต่ปี ค.ศ. 2006 (Van Boeckel et al., 2015)

จุลินทรีย์โพรไบโอติก (live cell probiotics) จึงเป็นสารเสริมอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหารและกระตุ้นการเจริญเติบโตในภาวะความเครียดจากความร้อนได้ (Jahromi et al., 2016; Sugiharto et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตามการใช้โพรไบโอติกมีข้อจำกัดและกำลังเป็นประเด็นถกเถียงในการส่งถ่ายยีนดื้อยา (Shazali et al., 2014) รวมถึงข้อจำกัดเรื่องความคงตัวระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาหลังกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ ในปัจจุบันมีการพัฒนาใช้ในรูปแบบของโพลีโอบีโอติก (postbiotics) เพื่อลดความกังวลและข้อจำกัดดังกล่าว เช่น การใช้ในรูปแบบของเซลล์ไม่มีชีวิตหรือเซลล์ตาย (dead cell probiotics) โดยการให้ความร้อน ซึ่งความร้อนจะทำลายผนังเซลล์และมีการปลดปล่อยองค์ประกอบของเซลล์ออกมา อาทิเช่น Exopolysaccharide (EPS), Lipoteichoic acids, Peptidoglycans, Surface layer proteins รวมถึงสารเมแทบอไลต์ต่าง ๆ องค์ประกอบเหล่านี้มีคุณสมบัติ

ลดการอักเสบ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน เสริมสร้างความแข็งแรงและปรับปรุงสุขภาพลำไส้ได้ไม่แตกต่างกับเซลล์มีชีวิต (Adams, 2010; Piqué et al., 2019; Zhu et al., 2020)

จุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. ingluviei* C37 เป็นจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากทางเดินอาหารของไก่โคราช ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญของโพรไบโอติก เช่น ความสามารถในการทนกรดและเกลือแร่ในทางเดินอาหาร ความไวต่อยาปฏิชีวนะ ความสามารถในการยึดเกาะผนังลำไส้ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค อีกทั้งยังมีคุณสมบัติจำเพาะบางประการ เช่น คุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอล การใช้ *L. ingluviei* C37 แบบเซลล์ตายในเซลล์แมคโครฟาจของหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) ที่ได้จากผนังเซลล์ของ *E. coli* ซึ่งผลการศึกษาพบว่า *L. ingluviei* C37 ที่คัดแยกได้ สามารถลดการหลั่งสารที่กระตุ้นกระบวนการอักเสบ (TNF α และ IL-6) และกระตุ้นการหลั่งสารที่ลดการอักเสบ (IL-10) ได้ (Tsukagoshi et al., 2020) อีกทั้งยังสามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความแข็งแรง ลดการอักเสบและบรรเทาความเสียหายของผนังลำไส้ในไก่เมื่อที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ได้อีกด้วย (Sirisopapong et al., 2021) อย่างไรก็ตามการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในรูปแบบเซลล์ตายในการลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดจากความร้อนยังไม่มีการศึกษา ประกอบกับประเด็นคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อและสุขภาพทางลำไส้ก็เป็นประเด็นน่าสนใจที่สะท้อนผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ *L. ingluviei* C37 รูปแบบเซลล์ตาย (DC-LIC37) ต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อน

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ DC-LIC37 โดยขยายต้นเชื้อลงในอาหาร Lactobacillus MRS Broth ในอัตราส่วน 0.5 ml ต่ออาหาร 400 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C กวนด้วยความเร็ว 200 rpm และวัดค่า OD₆₀₀ ทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนค่า OD₆₀₀ ได้ 2 ซึ่งจะมีจำนวนมวลเซลล์ขั้นต่ำที่ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10⁸ CFU/ml (ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที และเติม PBS เพื่อล้างและรักษาสภาพเซลล์ จำนวน 3 รอบ แล้วนำส่วนที่มีเฉพาะตัวเซลล์ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง

การทดลองได้ผ่านการพิจารณา อนุมัติ และปฏิบัติตามกฎระเบียบที่คณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (U1-02000-2558) ใช้ไก่เนื้อเพศผู้สายพันธุ์อรอส 308 อายุ 1 วัน จำนวน 360 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ไก่แต่ละกลุ่มถูกเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิบนพื้นแกลบ กรงขนาด 0.8 × 1 × 1 เมตร ทำการกักให้ความอบอุ่นแก่ลูกไก่เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยอายุ 1-10 วันแรกจะทำการควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 32 ± 1°C จากนั้นค่อย ๆ ลดอุณหภูมิจนถึง 21 ± 1°C ที่ 14 วัน เมื่ออายุครบ 15 วัน กลุ่มที่ 1 เลี้ยงภายใต้สภาวะที่อยู่สบายที่อุณหภูมิ 21 ± 1°C และได้รับอาหารพื้นฐาน ขณะที่กลุ่ม 2 3 4 5 และ 6 เลี้ยงภายใต้ภาวะที่ได้รับบาดเจ็บจากความร้อนแบบเรื้อรัง (chronic heat stress) ด้วยเครื่องให้ความร้อน อุณหภูมิ 32 ± 1°C วันละ 5 ชั่วโมง (11.00-16.00 น.) จนสิ้นสุดการทดลองและได้รับอาหารพื้นฐานและสารเสริมกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งดังนี้ กลุ่มที่ 2 ปราศจากสารเสริม กลุ่มที่ 3 เสริมยาปฏิชีวนะ Zinc bacitracin ที่ระดับ 0.05 g./กก. อาหาร กลุ่มที่ 4-6 เสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10⁷ 1×10⁸ และ 1×10⁹ ซีเอฟยู/กก. อาหาร ตามลำดับ ไก่แต่ละกลุ่มได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ โดยอาหารมีปริมาณ

โภชนาการครบถ้วนตรงตามความต้องการของร่างกาย ตามคำแนะนำของ NRC (1994) ร่วมกับมาตรฐานสายพันธุ์ Ross (2019) แบ่งออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้ 1) ระยะไก่เล็ก ระยะไก่รุ่น และระยะไก่ขุน (Table 1)

การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เมื่ออายุครบ 21 วัน สุ่มไก่ฆ่าละ 2 ตัว ทำสลบด้วยการดมคลอโรฟอร์มและเชือดเอาเลือดออก จากนั้นทำการเก็บสิ่งย่อยในซีกัมใส่ในโตรเจนเหลว เพื่อวิเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Real-time PCR ตามวิธีการของ Navidshad et al. (2012) โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (Table 2) และเก็บลำไส้เล็กทั้ง 3 ส่วน (duodenum, jejunum, ileum) ใส่ฟอร์มาลิน 10% เพื่อวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ ตามวิธีการของ Humam et al. (2019) เมื่ออายุครบ 42 วัน สุ่มไก่ฆ่าละ 2 ตัว ทำการชั่งน้ำหนัก เชือดเอาเลือดออก ถอนขน ตัดส่วนคอและขาออก ก่อนวัดคุณภาพซาก ชั่งน้ำหนักส่วนต่าง ๆ ประกอบด้วย หัวใจ ม้าม ตับ กึ้น ไขมันช่องท้องและต่อมเบอซา จากนั้นนำซากที่ตัดแต่งไปแช่ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดคุณภาพเนื้อออก (pH, L*, b*, a*) และตัดแต่งชิ้นส่วน ออก น่อง สะโพก ปีกและบันทึกน้ำหนัก เก็บเนื้อส่วนสะโพก สำหรับวิเคราะห์ TBARS และ DPPH ตามวิธีการของ Cramer et al. (2018) ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS software 16.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Tukey's HSD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วย Orthogonal contrasts กำหนดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

Table 1 Ingredient and nutrient composition of basal diets.

Item	Starter (1-10 d)	Grower (11-21 d)	Finisher (22-42 d)
Ingredients (%)			
Corn	56.28	58.10	62.30
Soybean meal	30.40	28.75	25.10
Corn gluten meal	6.21	5.30	3.70
Palm oil	1.80	3.16	4.25
Limestone	1.49	1.34	1.24
Monocalcium phosphate	1.62	1.45	1.31
Salt	0.50	0.49	0.50
DL-methionine	0.31	0.27	0.27
L-lysine	0.47	0.37	0.46
L-threonine	0.20	0.14	0.13
L-arginine	0.22	0.13	0.24
Vitamin-mineral premix	0.50	0.50	0.50
Calculated nutrients			
Metabolizable energy (kcal ME/kg)	3,000	3,100	3,200
Protein (%)	23.0	21.5	19.5
Fat (%)	4.31	5.69	6.86
Fiber (%)	3.37	3.29	3.12
Methionine + cysteine (%)	0.95	0.87	0.80
Lysine (%)	1.28	1.15	1.13
Calcium (%)	0.96	0.87	0.79
Available phosphorus (%)	0.48	0.44	0.40

Table 2 The primer sequences of cecum targeting bacteria.

Target microbes	Primer sequence 5' - 3'	Product size (bp)
Lactic acid bacteria	F-GCAGCAGTAGGGAATCTTCCA R-GCATTYCACCGCTACACATG	200
<i>Bifidobacterium</i>	F-GGGTGGTAATGCCGGATG R-TAAGCCATGGACTTTCACACC	278
<i>Enterobacterium</i>	F-CATTGACGTTACCGCAGAAGAAGC R-CTCTACGAGACTCAAGCTTGC	195
<i>Escherichia coli</i>	F-GTGTGATATCTACCGCTTCGC R-AGAACGCTTTGTGGTTAATCAGGA	82

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อลักษณะซากของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อลักษณะซากของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองแบบ Orthogonal contrasts พบว่าไก่กลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อนมีน้ำหนักมีชีวิตและน้ำหนักซากเย็นหลังจากเก็บรักษาที่ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่ำกว่ากลุ่มที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่อยู่อย่างสบาย นอกจากนี้ยังมีสัดส่วนน้ำหนักหัวใจ ม้าม และเนื้อส่วนอกที่ลดลงและสัดส่วนน้ำหนักปีกที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามไก่กลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อนและเสริมด้วย DC-LIC37 มีน้ำหนักมีชีวิต ตีกว่ากลุ่มควบคุมบวก (เสริมยาปฏิชีวนะ) และกลุ่มควบคุมลบ (ปราศจากสารเสริม) นอกจากนี้ยังมีผลให้ สัดส่วนน้ำหนักปีกลดลง สัดส่วนน้ำหนักตับและเนื้อส่วนอกเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) การเสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^7 และ 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร ส่งผลให้สัดส่วนน้ำหนักตับและเนื้ออก มากกว่ากลุ่มควบคุมบวก กลุ่มควบคุมลบและการเสริมที่ระดับ 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. ยังส่งผลให้สัดส่วนน้ำหนัก ปีกและอกเทียบเท่ากับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

เมื่อไก่ได้รับความเครียดจากความร้อนอุณหภูมิของร่างกายจะเพิ่มขึ้น ซึ่งสัตว์จะมีกลไกในการรักษา อุณหภูมิด้วยการหอบหายใจ ลดการกินอาหารเพื่อลดความร้อนจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของโภชนะ และกินน้ำมากขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าการเลี้ยงในสภาวะที่ อยู่อย่างสบาย (Lara & Rostagno, 2013) การทดลองนี้พบว่าในสภาวะอากาศร้อนมีผลทำให้น้ำหนักหัวใจ ม้ามและเนื้อส่วนอกลดลง และน้ำหนักปีกเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามน้ำหนักเครื่องในที่ลดลงยังไม่สามารถอธิบาย เหตุผลได้อย่างแน่ชัด แต่คาดว่าน่าเป็นผลมาจากการปรับตัวที่มีผลมาจากการกินอาหารที่ลดลงและฮอร์โมน คอติซอลที่มีผลยับยั้งการพัฒนาของอวัยวะน้ำเหลืองที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Quinteiro-Filho et al., 2010) น้ำหนักปีกที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากการที่สัตว์พยายามกระพือปีกเพื่อระบายความร้อน และน้ำหนัก อกที่ลดลงอาจเป็นเพราะเนื้อส่วนอกประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อที่หดตัวเร็วและต้องใช้ไกลูโคส (fast glycolytic fibers) ทำให้ต้องอาศัยพลังงานไกลโคเจนที่มาจากอาหารมาใช้ในการพัฒนาที่มากกว่ากล้ามเนื้อ ส่วนอื่น ๆ ร่วมกับปริมาณการกินได้ที่ลดลง ส่งผลให้พลังงานไม่เพียงพอและลดการสร้างเนื้อส่วนอก (Weng et al., 2022) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Zeferino et al. (2016) ที่รายงานว่าสภาวะอากาศร้อนมีผล ทำให้น้ำหนักตับ หัวใจและเนื้อส่วนอกลดลง และน้ำหนักปีกเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักสะโพกและน่อง

และการรายงานของ Sohail et al. (2013) ที่พบว่าภาวะความเครียดจากความร้อนมีผลให้น้ำหนักม้ามลดลงเช่นกัน การเสริม DC-LIC37 ในภาวะความเครียดจากความร้อนส่งผลให้ไก่มีน้ำหนักมีชีวิตมากขึ้น อาจเป็นผลมาจากคุณสมบัติของผนังเซลล์ DC-LIC37 ที่ช่วยลดการอักเสบจากอนุมูลอิสระและเพิ่มความแข็งแรงของผนังลำไส้ ส่งผลให้ลำไส้มีสุขภาพดี ทำให้การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ของโภชนาดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Sirisopapong et al. (2021) ที่รายงานว่า การเสริม *L. ingluviei* C37 สามารถเพิ่มความแข็งแรงของผนังลำไส้และลดการอักเสบในไก่เนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ น้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม (ตับ) และเนื้อส่วนนอกเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เสริม DC-LIC37 เป็นผลมาจากน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Ahmed et al. (2019) รายงานว่าการเสริมโพรไบโอติก PROBAC plus ในสภาวะอากาศร้อนมีผลในการเพิ่มน้ำหนักซาก หัวใจ ม้ามและตับ น้ำหนักปีกที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากการกระตุ้นการตอบสนองผ่านกลไก Hypothalamic-pituitary-adrenal axis ที่ลดลง (Mohammed et al., 2018)

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อคุณภาพเนื้อของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อคุณภาพเนื้อของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน (Table 4) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองแบบ Orthogonal contrasts พบว่าไก่กลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อนมีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเนื้อส่วนสะโพกลดลง (ค่าการเกิดลิปิดออกซิเดชัน TBARS เพิ่มขึ้น และค่า DPPH ลดลง) ($p < 0.05$) การเสริม DC-LIC37 สามารถเพิ่มคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของไก่กลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อนได้ดีขึ้น (ค่า TBARS ลดลง และค่า DPPH เพิ่มขึ้น) ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มควบคุมลบ โดยการเสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^7 - 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร ส่งผลให้ค่า TBARS และ DPPH เทียบเท่ากับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้เนื้อส่วนนอกของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริม DC-LIC37 ยังมีค่าความสว่าง (L^*) ลดลง และค่าความแดง (a^*) สูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$)

เมื่อไก่ได้รับความเครียดจากความร้อน (ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง) เซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายจะต้องการพลังงานเพิ่มขึ้น โดยร่างกายจะมีกลไกการปรับตัวในการสร้างพลังงานให้เพียงพอกับความต้องการผ่านกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนและออกซิเดชันของลิปิดเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจะเกิดการรั่วไหลของโปรตอนและก่อให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้กระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนไม่มีประสิทธิภาพและก่อให้เกิดอนุมูลอิสระมากเกินไปกว่าความสามารถของร่างกายจะกำจัดได้ (Akbarian et al., 2016) และเหนี่ยวนำให้เกิดลิปิดออกซิเดชันในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ส่งผลให้ปริมาณ MDA ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของ TBARS เพิ่มมากขึ้น (Azad et al., 2010) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังมีผลให้เกิดการออกซิเดชันของเส้นใยโปรตีนในกล้ามเนื้อ และลด proteolytic susceptibility เป็นผลให้เนื้อมีความชื้นและเ็นน้ำ (Zaboli et al., 2019) แต่การเสริม DC-LIC37 สามารถเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ลดการเกิดลิปิดออกซิเดชันและโปรตีนออกซิเดชันลดลงเป็นผลให้ค่าความสว่างของเนื้อลดลงและความแดงเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Cramer et al. (2018) ที่ทำการเสริม *Bacillus subtilis* ในไก่ที่ถูกกระตุ้นด้วยความร้อนสามารถเพิ่มการต้านอนุมูลอิสระ ลดการเกิดลิปิดออกซิเดชันและลดความสว่างของเนื้อได้นอกจากนี้ Kim et al., (2016) รายงานว่าการเสริมโพรไบโอติก สามารถช่วยลดการเกิดลิปิดออกซิเดชันในเนื้อระหว่างการเก็บรักษาได้เช่นกัน

Table 3 The effect of dietary DC-LIC37 on carcass characteristics in broilers subjected to heat stress.

Parameters	Control	NC	PC	DC-LIC37			SEM	p-Value	Orthogonal contrasts			
				Level 1	Level 2	Level 3			1	2	3	4
Live weight (g)	3305.04 ^a	3106.65 ^c	3108.38 ^c	3179.07 ^{bc}	3137.51 ^{bc}	3250.12 ^{ab}	15.21	0.0001	0.0001	0.002	0.02	0.02
Cold carcass weight (g)	2464.41 ^a	2353.97 ^b	2348.63 ^b	2399.99 ^{ab}	2388.21 ^{ab}	2409.01 ^{ab}	11.06	0.03	0.004	0.03	NS	NS
Visceral organs (% of live weight)												
Heart	0.48 ^a	0.4 ^c	0.43 ^{ab}	0.43 ^{ab}	0.42 ^c	0.44 ^{ab}	0.006	0.01	0.001	0.003	NS	NS
Spleen	0.10 ^a	0.08 ^b	0.09 ^{ab}	0.1 ^{ab}	0.08 ^{ab}	0.01 ^{ab}	0.003	0.01	0.02	NS	NS	NS
Liver	1.56 ^{ab}	1.47 ^b	1.54 ^{ab}	1.65 ^a	1.58 ^{ab}	1.62 ^a	0.01	0.003	NS	NS	NS	0.0001
Gizzard	1.07	1.08	1.13	1.11	1.13	1.11	0.01	0.54	NS	NS	NS	NS
Bursa of fabricius	0.06	0.05	0.06	0.06	0.07	0.06	0.002	0.22	NS	NS	NS	NS
Abdominal fat	1.27	1.28	1.22	1.33	1.21	1.20	0.02	0.46	NS	NS	NS	NS
Body composition (% of cold carcass weight)												
Thigh	16.90	17.82	17.35	17.25	17.46	17.83	0.11	0.18	NS	NS	NS	NS
Drumstick	13.73	13.90	13.90	13.96	13.98	14.04	0.06	0.78	NS	NS	NS	NS
Wing	9.64 ^a	10.28 ^b	9.92 ^{ab}	9.90 ^{ab}	9.88 ^{ab}	9.81 ^a	0.05	0.01	0.01	NS	NS	0.01
Breast	36.32 ^a	32.86 ^b	34.58 ^{ab}	35.77 ^a	34.69 ^{ab}	35.06 ^a	0.24	0.0001	0.002	0.045	NS	0.0001

^{a-c} Means with different superscripts in the same row indicate significant difference ($p < 0.05$). Control = Thermoneutral zone condition (TNZ) + basal diet, NC = Heat stress (HS) + basal diet, PC = HS + basal diet + zinc bacitracin 0.05 g/kg diet, Level 1 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^7 CFU/kg diet, Level 2 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^8 CFU/kg diet, Level 3 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^9 CFU/kg diet. SEM = standard error of means. NS = non-significant difference. Orthogonal contrasts: 1 = TNZ vs HS, 2 = Control vs DC-LIC37, 3 = PC vs DC-LIC37, 4 = NC vs DC-LIC37.

Table 4 The effect of dietary DC-LIC37 on meat quality in broilers subjected to heat stress.

Parameters	Control	NC	PC	DC-LIC37			SEM	p- Value	Orthogonal contrasts			
				Level 1	Level 2	Level 3			1	2	3	4
pH 24 h	5.78	5.75	5.77	5.73	5.74	5.73	0.02	0.77	NS	NS	NS	NS
L*	51.14	52.69	51.04	50.08	51.12	51.43	0.31	0.29	NS	NS	NS	0.04
a*	-1.21	-1.57	-1.21	-1.32	-1.09	-1.12	0.07	0.27	NS	NS	NS	0.03
b*	5.15	4.03	5.22	5.1	4.77	4.66	0.18	0.40	NS	NS	NS	NS
TBARS (nmol/ml)	0.5 ^a	0.94 ^b	0.92 ^b	0.55 ^a	0.51 ^a	0.54 ^a	0.05	0.001	0.04	NS	0.001	0.0001
DPPH (%)	80.76 ^a	55.13 ^b	55.98 ^{ab}	68.35 ^{ab}	71.74 ^{ab}	79.16 ^{ab}	2.80	0.01	0.01	NS	0.02	0.02

^{a-b} Means with different superscripts in the same row indicate significant difference ($p < 0.05$). Control = Thermoneutral zone condition (TNZ) + basal diet, NC = Heat stress (HS) + basal diet, PC = HS + basal diet + zinc bacitracin 0.05 g/kg diet, Level 1 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^7 CFU/kg diet, Level 2 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^8 CFU/kg diet, Level 3 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^9 CFU/kg diet. SEM = standard error of means. NS = non-significant difference. Orthogonal contrast: 1 = TNZ vs HS, 2 = Control vs DC-LIC37, 3 = PC vs DC-LIC37, 4 = NC vs DC-LIC37.

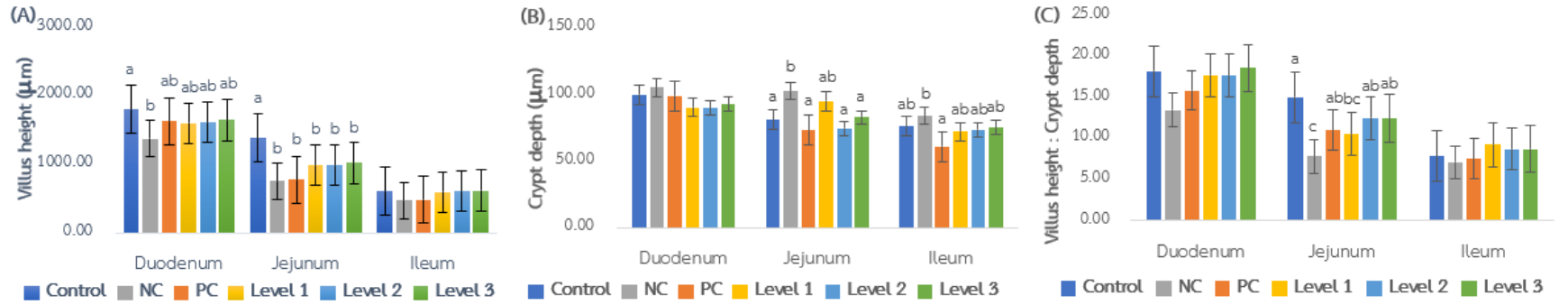


Figure 1 The effect of dietary DC-LIC37 on gut morphology in broilers subjected to heat stress (A-C).
^{a-b} Means in different letters on standard error bars indicate significant difference ($p < 0.05$). Control = Thermoneutral zone condition (TNZ) + basal diet, NC = Heat stress (HS) + basal diet, PC = HS + basal diet + zinc bacitracin 0.05 g/kg diet, Level 1 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^7 CFU/kg diet, Level 2 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^8 CFU/kg diet, Level 3 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^9 CFU/kg diet.

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อลักษณะสัญญาณวิทยาของลำไส้ไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อลักษณะสัญญาณวิทยาของลำไส้ไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน (Figure 1A-1C) พบว่าการเสริม DC-LIC37 สามารถปรับปรุงลักษณะทางสัญญาณวิทยาของลำไส้ไก่เนื้อที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อนได้ โดยการเสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^7 - 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร สามารถเพิ่มความสูงของวิลโลที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น ลดความลึกของเซลล์คิริปต์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางและส่วนท้าย รวมถึงเพิ่มสัดส่วนความสูงของวิลโลต่อความลึกเซลล์คิริปต์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้การเสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^8 - 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร ยังสามารถลดความลึกของเซลล์คิริปต์ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลางได้เทียบเท่ากับกลุ่มควบคุมและกลุ่มควบคุมบวก

ตามปกติเมื่อไก่เกิดภาวะความเครียดจากความร้อนจะพยายามระบายความร้อนออกจากร่างกายโดยเพิ่มการไหลเวียนเลือดไปยังบริเวณผิวหนัง ลดการไหลเวียนเลือดไปที่บริเวณลำไส้ และกระตุ้นให้มีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol) จากต่อมหมวกไตเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีผลให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกายและมีผลไปทำลายเยื่อเมือกเซลล์ผนังลำไส้และก่อให้เกิดการอักเสบ (Quinteiro-Filho et al., 2012) ส่งผลให้ในการย่อยได้และการดูดซึมโภชนาการโดยประสิทธิภาพลง (Rostagno, 2020) DC-LIC37 เป็นจุลินทรีย์ที่ถูกทำให้ตายด้วยความร้อน ซึ่งความร้อนจะทำลายผนังเซลล์และกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยองค์ประกอบของผนังเซลล์ เช่น Peptidoglycans, Lipoteichoic acids และ Surface-layer protein (Piqué et al., 2019) ซึ่งมีคุณสมบัติในการจับกับผนังลำไส้ กระตุ้นให้มีการสร้างเยื่อเมือกและยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์หรือสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ (Konstantinov et al., 2008; Wu et al., 2015) โดย *L. ingluviei* C37 รูปแบบเซลล์ตายในเซลล์แมโครฟาจของหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย LPS สามารถลดการหลั่งสารที่กระตุ้นกระบวนการอักเสบ (TNF α และ IL-6) และกระตุ้นการหลั่งสารที่ลดการอักเสบ (IL-10) ได้ (Tsukagoshi et al., 2020) และอาจเป็นผลให้สัญญาณวิทยาของลำไส้ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระในภาวะความเครียดจากความร้อนที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Danladi et al. (2022) ที่รายงานว่า การเสริม *L. plantarum* RI11 และ RG14 รูปแบบเซลล์ตายสามารถเพิ่มความสูงของวิลโล ลดความลึกของเซลล์คิริปต์และเพิ่มสัดส่วนความสูงของวิลโลต่อความลึกเซลล์คิริปต์ได้ และการทดลองของ Humam et al. (2019) ที่รายงานว่า การเสริม *L. plantarum* RI11 ในสภาวะความร้อนสามารถเพิ่มความสูงของวิลโล ลดความลึกของเซลล์คิริปต์และเพิ่มสัดส่วนความสูงของวิลโลต่อความลึกเซลล์คิริปต์ในลำไส้ได้เช่นกัน

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในซีกัมไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน

ผลของการเสริม DC-LIC37 ในอาหารต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในซีกัมของไก่เนื้อที่ได้รับความเครียดจากความร้อน (Figure 2) พบว่าสภาวะอากาศร้อนมีผลทำให้จุลินทรีย์ก่อโรค *Enterobacterium* และ *E. coli* เพิ่มขึ้น โดยการเสริม DC-LIC37 ในสภาวะอากาศร้อนสามารถลดจำนวนประชากรกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านี้ได้ การเสริม DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^7 - 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหาร สามารถลดจุลินทรีย์ก่อโรค ได้เทียบเท่ากับกลุ่มควบคุมและกลุ่มควบคุมบวกที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะแต่อย่างไรก็ตาม DC-LIC37 ไม่มีผลในการในการปรับเปลี่ยนจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ Lactic acid bacteria และ *Bifidobacterium*

การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะอากาศร้อนอาจเนื่องมาจากกลไก Hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) ซึ่งเป็นกลไกการควบคุมและปรับตัวตอบสนองต่อการเกิดความเครียดจากความร้อน เมื่อไก่อยู่ในภาวะความเครียดจากความร้อน สมองส่วน Hypothalamus จะพยายามรักษาอุณหภูมิร่างกาย โดยลดการกินอาหารเพื่อลดความร้อนจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของโภชนา และเพิ่มการกินน้ำมากขึ้น ทำให้อาหารเกิดการไหลผ่านในท่อทางเดินอาหารเร็วขึ้นและสิ่งย่อยมีความหนืดมากขึ้น ส่งผลให้สภาพแวดล้อมในลำไส้เกิดการเปลี่ยนแปลงและมีผลรบกวนสมดุลของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุม Gut brain axis (Cao et al., 2021; Kers et al., 2018; Metzler-Zebeli et al., 2019) การเสริม DC-LIC37 สามารถเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ก่อโรคได้นั้น อาจเป็นผลมาจาก DC-LIC37 มีการปลดปล่อยองค์ประกอบของผนังเซลล์และสารต่าง ๆ เช่น Surface-layer protein และ EPS (Nguyen et al., 2020; Piqué et al., 2019) โดย EPS สามารถแย่งจับกับผนังลำไส้และยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อก่อโรค รวมถึงจับกับผนังเซลล์ของเชื้อก่อโรคแบบหลวม ๆ และขับออก (Fanning et al., 2012) กลไกดังกล่าวอาจเป็นผลให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคกลุ่ม *Enterobacterium* และ *E. coli* ในซีกัมไก่ที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อนและเสริมด้วย DC-LIC37 มีจำนวนลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Liu et al. (2017) ที่พบว่า ESP สามารถลดการจับกับและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ได้

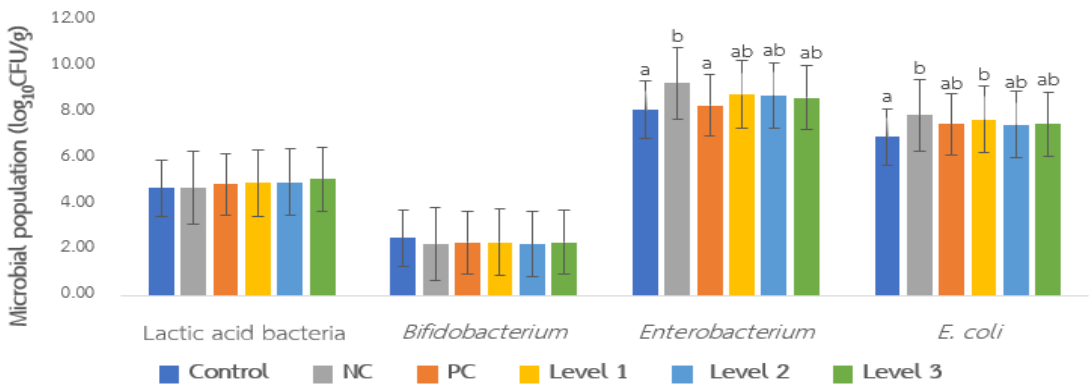


Figure 2 The effect of dietary DC-LIC37 on cecal microbial population in broilers subjected to heat stress.

^{a-b} Means in different letters on standard error bars indicate significant difference ($p < 0.05$). Control = Thermoneutral zone condition (TNZ) + basal diet, NC = Heat stress (HS) + basal diet, PC = HS + basal diet + zinc bacitracin 0.05 g/kg diet, Level 1 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^7 CFU/kg diet, Level 2 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^8 CFU/kg diet, Level 3 = HS + basal diet + DC-LIC37 1×10^9 CFU/kg diet.

สรุปผลการศึกษา

การเสริมจุลินทรีย์ DC-LIC37 ที่ระดับ 1×10^9 ซีเอฟยู/กก. อาหารในไก่เนื้อที่เลี้ยงภายใต้ภาวะความเครียดจากความร้อน มีผลในการปรับปรุงน้ำหนักมีชีวิต ซากหลังแช่เย็น เนื้ออก ปีก หัวใจ ม้าม และตับได้ นอกจากนี้ DC-LIC37 ยังช่วยลดผลกระทบจากการเกิดลิปิดออกซิเดชัน เพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเนื้อ ปรับปรุงสัญญาณวิทยาของลำไส้ และปรับเปลี่ยนประชากรจุลินทรีย์ก่อโรคลำไส้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มอบทุนกิตติบัตรและทำให้มีโอกาสศึกษาต่อในระดับปริญญาโท การอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือจากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และความช่วยเหลือจากสมาชิกห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์กระเพาะเดี่ยวทุก ๆ ท่าน

เอกสารอ้างอิง

- Adams, C. A. (2010). The probiotic paradox: Live and dead cells are biological response modifiers. **Nutrition Research Reviews**. 23(1), 37–46.
- Ahmed, E., Abdelrahman, M., & Gahreeb, K. (2019). Effect of probiotic on growth performance, carcass traits, and clinical health parameters of broilers reared under heat stress in upper Egypt. **SVU-International Journal of Veterinary Sciences**. 2(2), 27–44.
- Akbarian, A., et al. (2016). Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. 7(1), 1–14.
- Azad, M. A. K., Kikusato, M., Sudo, S., Amo, T., & Toyomizu, M. (2010). Time course of ROS production in skeletal muscle mitochondria from chronic heat-exposed broiler chicken. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**. 157(3), 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.07.011>
- Cao, C., Chowdhury, V. S., Cline, M. A., & Gilbert, E. R. (2021). The microbiota-gut-brain axis during heat stress in chickens: A review. **Frontiers in Physiology**. 12(October), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.752265>
- Cramer, T. A., et al. (2018). Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on meat quality characteristics of breast muscle from broilers exposed to chronic heat stress. **Poultry Science**. 97(9), 3358–3368. <https://doi.org/10.3382/ps/pey176>
- Danladi, Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., & Tamrin, N. A. (2022). Effects of probiotics and paraprobiotics as replacements for antibiotics on growth performance, carcass characteristics, small intestine histomorphology, immune status and hepatic growth gene expression in broiler chickens. **Animals**. 12(197), 1-18.
- Fanning, S., et al. (2012). Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 109(6), 2108–2113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115621109>
- Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2019). Effects of feeding different postbiotics produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, carcass yield, intestinal morphology, gut microbiota composition, immune status, and growth gene expression in broilers under heat stress. **Animals**. 9(644), 1-20.

- Jahromi, M. F., et al. (2016). Dietary supplementation of a mixture of *Lactobacillus* strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions. **International Journal of Biometeorology**. 60(7), 1099–1110. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1103-x>
- Kers, J. G., et al. (2018). Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. **Frontiers in Microbiology**, 9(2), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00235>
- Kim, H. W., Yan, F. F., Hu, J. Y., Cheng, H. W., & Kim, Y. H. B. (2016). Effects of probiotics feeding on meat quality of chicken breast during postmortem storage. **Poultry Science**. 95(6), 1457–1464. <https://doi.org/10.3382/ps/pew055>
- Konstantinov, S. R., et al. (2008). S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 105(49), 19474–19479. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810305105>
- Lara, L. J., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. **Animals**. 3(2), 356–369. <https://doi.org/10.3390/ani3020356>
- Liu, Z., et al. (2017). Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. **Journal of Dairy Science**. 100(9), 6895–6905. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11944>
- Metzler-Zebeli, B. U., et al. (2019). Feed restriction modifies intestinal microbiota-host mucosal networking in chickens divergent in residual feed intake. **American Society for Microbiology**. 4(1). <https://doi.org/10.1128/msystems.00261-18>
- Mohammed, A. A., Jacobs, J. A., Murugesan, G. R., & Cheng, H. W. (2018). Animal well-being and behavior: Effect of dietary synbiotic supplement on behavioral patterns and growth performance of broiler chickens reared under heat stress. **Poultry Science**. 97(4), 1101–1108. <https://doi.org/10.3382/ps/pex421>
- Mujahid, A., Akiba, Y., & Toyomizu, M. (2007). Acute heat stress induces oxidative stress and decreases adaptation in young white leghorn cockerels by downregulation of avian uncoupling protein. **Poultry Science**. 86(2), 364–371. <https://doi.org/10.1093/ps/86.2.364>
- Navidshad, B., Liang, J. B., & Jahromi, M. F. (2012). Correlation coefficients between different methods of expressing bacterial quantification using real time PCR. **International Journal of Molecular Sciences**. 13(2), 2119–2132. <https://doi.org/10.3390/ijms13022119>
- Nguyen, P. T., et al. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications. **AIMS Microbiology**. 6(4), 451–469. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2020027>
- NRC. 1994. **Nutrient requirements of poultry**. 9th Edition. National Academy Press, Washington D.C
- Odore, R., et al. (2015). Cytotoxic effects of oxytetracycline residues in the bones of broiler chickens following therapeutic oral administration of a water formulation. **Poultry Science**. 94(8), 1979–1985. <https://doi.org/10.3382/ps/pev141>
- Piqué, N., Berlanga, M., & Miñana-Galbis, D. (2019). Health benefits of heat-killed (Tyndallized) probiotics: An overview. **International Journal of Molecular Sciences**. 20(10), 1–30. <https://doi.org/10.3390/ijms20102534>
- Quinteiro-Filho, W. M., et al. (2012). Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with *Salmonella Enteritidis*. **Avian Pathology**. 41(5), 421–427. <https://doi.org/10.1080/03079457.2012.709315>
- Quinteiro-Filho, W. M., et al. (2010). Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. **Poultry Science**. 89(9), 1905–1914. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00812>
- Rahimi, S., & Khaksefidi, A. (2006). A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus 2B) and an

- antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. **Iranian Journal of Veterinary Research**. 7(3), 23–28.
- Renaudeau, D., et al. (2012). Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. **Animal**. 6(5), 707–728. <https://doi.org/10.1017/S1751731111002448>
- ROSS. 2019. **Nutritional specifications**. An Aviagen Brand.
- Rostagno, M. H. (2020). Effects of heat stress on the gut health of poultry. **Journal of Animal Science**. 98(4), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa090>
- Shazali, N., Foo, H. L., Loh, T. C., Choe, D. W., & Abdul Rahim, R. (2014). Prevalence of antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from the faeces of broiler chicken in Malaysia. **Gut Pathogens**. 6(1). <https://doi.org/10.1186/1757-4749-6-1>
- Sirisopapong, M., Okratok, S., Pukkung, C., & Khempaka, S. (2021). *kān soēm læk tobāsīntat ‘īnkalūwī’i sī sām sīp chēt chuāi lot khwāmkhriāt thāng phūmkhumkan læk phoēm kān sadaēng’ōk khōng yīn thī kīēokhōng kap khwām khāengrāēng khōng lamsai nai kai nūathī thūk kratun duāi laipophōlīsækkhārai [Lactobacillus ingluviei C37 supplementation alleviates immunological stress and improves intestinal barrier gene expression in lipopolysaccharide challenged broiler chickens]*. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 42(2), 929.
- Sohail, M. U., et al. (2013). Effect of supplementation of mannan oligosaccharide and probiotic on growth performance, relative weights of viscera, and population of selected intestinal bacteria in cyclic heat-stressed broilers. **Journal of Applied Poultry Research**. 22(3), 485–491. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00682>
- Sugiharto, S., Yudiarti, T., Isroli, I., Widiastuti, E., & Kusumanti, E. (2017). Dietary supplementation of probiotics in poultry exposed to heat stress - A review. **Annals of Animal Science**. 17(3), 591–604. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0062>
- Tsukagoshi, M., et al. (2020). *Lactobacillus ingluviei* C37 from chicken inhibits inflammation in LPS-stimulated mouse macrophages. **Animal Science Journal**. 91(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/asj.13436>
- Van Boeckel, T. P., et al. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Weng, K., et al. (2022). Fiber characteristics and meat quality of different muscular tissues from slow - and fast-growing broilers. **Poultry Science**. 101(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101537>
- Wu, Z., Pan, D., Guo, Y., Sun, Y., & Zeng, X. (2015). Peptidoglycan diversity and anti-inflammatory capacity in *Lactobacillus* strains. **Carbohydrate Polymers**. 128, 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.026>
- Zaboli, G., Huang, X., Feng, X., & Ahn, D. U. (2019). How can heat stress affect chicken meat quality? - A review. **Poultry Science**. 98(3), 1551–1556. <https://doi.org/10.3382/ps/pey399>
- Zeferino, C. P. et al. (2016). Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamin C and E under constant heat stress. **The Animal consortium**. 10(1), 163–171. <http://doi.org/10.1017/S1751731115001998>
- Zhu, C., et al. (2020). Effect of heat-inactivated compound probiotics on growth performance, plasma biochemical indices, and cecal microbiome in Yellow-Feathered broilers. **Frontiers in Microbiology**. 11(October), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.585623>

วันรับบทความ (Received date) : 20 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 11 ส.ค. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 15 ส.ค. 65

การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมอีรี (*Samia ricini*) หรือดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (j108 x Nhaglai) ในอาหารปลาทอง (*Carassius auratus*) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ความเข้มข้น และดัชนีสุขภาพ

Replacement of Fishmeal by Eri Silkworm (*Samia ricini*) or Thai Crossbred (j108 x Nhaglai) Silkworm in Goldfish (*Carassius auratus*) Diet on Growth Performance, Pigmentation, and Health Status Index

อรณี ศรีนวล¹, วรวิทย์ มณีพิทักษ์สันติ^{1,2*}, วรณพร ทะพิงค์แก^{1,2}, สุธิรา พลเจริญ³, ทิพรธณี เสนะวงศ์³, เสาวณีย์ อภิญญานูวัฒน์³, สงกรานต์ จันทะรัง³, สุজনีย์ พรโสภณ⁴, นกสินธุ์ สมมิตร¹ และ อภิชาติ ศรีภัย¹
Orranee Srinual¹, Worawit Maneepitaksanti^{1,2*}, Wanaporn Tapingkae^{1,2}, Suthira Ponjaruen³, Tipanee Senawong³, Saowanee Apinyanuwat³, Songkran Jantharang³, Sudjane Pornsopin⁴, Nopphasin Sommit¹ and Apichart Seepai¹

บทคัดย่อ

ดักแด้ไหมอีรี (ESM) และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม j108 x Nhaglai (CSM) ได้รับการประเมินเพื่อใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาทอง ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ความเข้มข้น และดัชนีสุขภาพ โดยทำการทดสอบการใช้ ESM และ CSM ในอาหารปลาทอง (*Carassius auratus*) เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ในปลาทองจำนวน 300 ตัว (5.00 ± 1.43 กรัม) แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มต่อการทดลอง โดยให้อาหาร 10 ชนิด : 0% (กลุ่มควบคุม) และสูตรอาหารแทนที่ปลาป่น (FM) ด้วย ESM และ CSM ในอัตราส่วน 25%, 50%, 75% และ 100% อาหาร ซึ่งอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วงระหว่าง 25 ± 1.8 องศาเซลเซียส ในตู้ปลาจำนวน 30 ตู้ (ขนาด 1.5 ลบ.ม.) ภายใต้การจัดการระบบหมุนเวียนน้ำ จากผลการทดลองพบว่า น้ำหนักสุดท้ายของปลาที่มีค่าสูงที่สุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร ESM (75%) นอกจากนี้ปลาที่ได้รับ CSM แทนที่ FM ที่ระดับ 25% ในสูตรอาหาร มีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อีกทั้งปลาที่เลี้ยงด้วย ESM 25% และ 50% มีค่าความเข้มข้นสีเหลือง (b^*) ของสีผิวสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในทางตรงกันข้ามค่าความสว่าง (L^*), ความเข้มข้นสีแดง (a^*), b^* ของสีผิว และดัชนีสุขภาพในกลุ่มที่ได้รับ CSM ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้น ผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า ESM และ CSM สามารถแทนที่ FM ได้มากถึง 50% ในอาหารปลาทอง นอกจากนี้ ESM ยังช่วยเพิ่มความเข้มข้นสีเหลืองของผิวปลาทองได้อีกด้วย

คำสำคัญ: ดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม ปลาทอง สมรรถภาพการเจริญเติบโต ความเข้มข้น

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

² ศูนย์วิจัยนวัตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³ กรมหม่อนไหม จ.กรุงเทพมหานคร 10900

⁴ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดแพร่ จ.แพร่ 54170

¹ Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

² Innovative Agriculture Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

³ The Queen Sirikit Department of Sericulture, Bangkok 10900

⁴ Phrae Inland Aquaculture Research and Development Center, Phrae, 54170

* Corresponding author: worawitmm.4453@gmail.com

Abstract

Eri silkworm (ESM) and Thai crossbreed silkworm j108 x Nhanglai (CSM) were evaluated to investigate the effect of replacement fish meal (FM) in goldfish diets on growth performance, pigmentation, and health status. The ESM and CSM were tested in a 12-week experiment on goldfish (*Carassius auratus*). Three hundred (5.00 ± 1.43 g) goldfish were divided into five groups and were fed ten diets: 0% (control), and fish meal (FM) replaced by ESM and CSM at rates of 25%, 50%, 75% and 100%. Water temperature ranged between 25 ± 1.8 °C. Thirty indoor rectangular fish tanks (1.5 m^3) connected to a recirculating system were used. As a result, the highest final weight was in the fishes fed with ESM feed (75%). In addition, the replacement of CSM for FM at 25% had significantly highest final weight and body weight gain ($P < 0.05$). Moreover, the fish fed with ESM 25% and 50% had higher yellow color intensity (b^*) than the control group ($P < 0.05$). On the contrary, there were no significant differences in the brightness (L^*), red intensity (a^*), b^* of skin color and health status index in the CSM group ($P > 0.05$). Therefore, these results clearly indicate that up to 50% of FM in goldfish diet can be replaced by ESM and CSM. Moreover, ESM can be useful for yellow color skin enhancement in goldfish.

Keywords: Eri silkworm, Thai crossbreed silkworm, goldfish, growth performance, pigmentation

คำนำ

ไหมอีรี่ (Eri silkworm) มีถิ่นกำเนิดและเลี้ยงกันมากในประเทศอินเดียรวมทั้งอีกหลายประเทศในทวีปเอเชีย ซึ่งผู้เลี้ยงจะให้กินใบละหุ่งและใบมันสำปะหลังเป็นอาหาร ในประเทศไทยสามารถเลี้ยงไหมอีรี่ด้วยใบมันสำปะหลังที่ปลูกอยู่ในหลายจังหวัด ซึ่งมีพื้นที่เป็นแสนไร่ การเลี้ยงไหมอีรี่จึงเป็นอาชีพทางเลือกใหม่ของเกษตรกรชาวไร่มันสำปะหลัง ที่สามารถทำเป็นอาชีพเสริมสร้างรายได้ให้กับครอบครัวและสามารถผลิตหนอนไหมและดักแด้ที่นำไปใช้บริโภคเป็นอาหารของคนและอาหารสัตว์ ส่วนเส้นไหมที่ได้จากการปั่นและสาวเส้นใยจากรังไหมนำมาใช้ในการทอผ้า ดักแด้ไหมอีรี่คิดเป็นสัดส่วนมากถึง 60% ของรังไหม นิยมบริโภคเป็นอาหารคนและใช้เป็นอาหารสัตว์ซึ่งไม่ก่อให้เกิดสารพิษที่เป็นอันตราย (Longvah et al., 2011)

ในปัจจุบันไหมกินใบหม่อนพันธุ์ไทยลูกผสม j108 x นางลาย เกษตรกรนิยมเลี้ยงทั่วประเทศเนื่องจากให้ผลผลิตสูง เลี้ยงง่าย และทนต่อสภาพภูมิอากาศในประเทศไทย และสามารถเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี ดักแด้ไหมถือเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพและราคาถูก โดยทั่วไปดักแด้ประกอบไปด้วยโปรตีนประมาณ 50-70% นอกจากนี้ยังมีปริมาณไขมันที่สูงประมาณ 30% (Meicai & Gaoqiang, 2001; Rumpold & Schlüter, 2013) และยังเป็นไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Kotake-Nara et al., 2002) โดยไขมันนั้นจะประกอบด้วย neutral lipid 71.85% และ phospholipid 28.15% (Wanchooploao et al., 2009) ด้วยคุณค่าทางโภชนาการของดักแด้ไหมดังกล่าว ทำให้เป็นที่สนใจของนักโภชนาการศาสตร์สัตว์น้ำจึงได้มีการนำดักแด้ไหมมาทดแทนปลาป่น (fish meal) ที่เป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหารปลาและทดแทนน้ำมันปลา (fish oil) ที่มีกรดไขมันที่จำเป็นต่อปลา เพื่อลดราคาต้นทุนค่าอาหารและเป็นการใช้ประโยชน์จากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร (by-product) (Henry et al., 2015)

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ มีการใช้ดักแด้ไหมกินใบหม่อน *Bombyx mori* เพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารปลาหลายชนิด เช่น กลุ่มปลาไน (common carp) ปลาทะเพียน (Cyprinids) ปลานิล (Nile tilapia) ปลายี่สกเทศ (Rohu) ปลาจืดอินเดีย (*Heteropneustes fossilis* Bloch) ปลาสลิติ ปลากระพงญี่ปุ่น (*Lateolabrax japonicus*) ปลาเรนโบว์เทราท์ ปลาแซลมอน (*Oncorhynchus keto*) ปลาดูเดียว (*Paralichthys olivaceus*) เป็นต้น (Henry et al., 2015) แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาระดับที่เหมาะสมในการทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมมีความแตกต่างในปลาแต่ละชนิด จากรายงานการศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมในปลาไน ปลายี่สก และปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่าดักแด้ไหมสามารถทดแทนปลาป่นในอาหารได้สูงถึง 100% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ พบว่าน้ำมันในดักแด้สามารถดึงดูดการกินของปลาไน และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้ (Begum et al., 1994; Jeyachandran & Paulraj, 1976; Hossain et al., 1997; Dheke & Gubhaju, 2013) อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาคุณสมบัติของดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (j108 x นางลายสระบุรี) และการทดลองนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวยงาม แต่ยังคงมีการศึกษาในจำนวนน้อยมาก

ธุรกิจปลาสวยงามของประเทศไทยมีการขยายตัวเป็นอย่างมาก โดยปลาสวยงามที่ผลิตในประเทศไทยได้รับความนิยมสูงในตลาดต่างประเทศ ได้แก่ ปลากัด ปลาหางนกยูง ปลาทอง ปลาหมอสี ปลาปอมปาดัวร์ เป็นต้น จากข้อมูลการค้าในกลุ่มธุรกิจปลาสวยงามของกองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ ในปี พ.ศ. 2565 ธุรกิจเกี่ยวกับปลาสวยงามสร้างรายได้ให้กับประเทศไทยประมาณ 700 ล้านบาท โดยมีส่วนแบ่งในตลาดโลก 7.38% ซึ่งตลาดส่งออกสำคัญของประเทศไทย คือ ประเทศสหรัฐอเมริกา สิงคโปร์ กลุ่มสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น ปลาทองจัดเป็นสัตว์สวยงามเศรษฐกิจที่มีปริมาณการส่งออกอยู่ใน 10 อันดับแรกของประเทศไทย และยังเป็นปลาสวยงามที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีสีสันและรูปร่างสวยงาม สีสันของปลาทองจึงเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ปลามีมูลค่าสูงขึ้น สีสันตามธรรมชาติของปลานั้นเกิดมาจากการสะสมเม็ดสี (pigment) ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งปลาไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่กินเข้าไป (Putra et al., 2020) ทั้งนี้จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ดักแด้ไหมมีความสามารถในการสะสมสารสีแคโรทีนอยด์ในร่างกาย โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่มีสีเหลือง (Chieco et al., 2019) นอกจากนี้ การเลี้ยงปลาทองในปัจจุบัน พบว่าจำเป็นต้องใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบหลัก เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่สมบูรณ์ในการผลิตอาหาร และจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้ปริมาณปลาที่นำมาผลิตปลาป่นขาดแคลน ส่งผลให้ราคาปลาป่นมีราคาสูง ทำให้ต้นทุนการผลิตอาหารปลามีราคาสูงตามไปด้วย ประกอบกับการใช้สารสีสังเคราะห์เพื่อกระตุ้นสีผิวให้เป็นที่ต้องการของตลาด ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อตัวปลาได้ (Rana et al., 2009) ดังนั้นการหาวัตถุดิบทางเลือกที่สามารถใช้แทนปลาป่น อีกทั้งยังสามารถเพิ่มสีผิวของปลาทอง และส่งเสริมด้านสุขภาพของปลาสวยงามจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการศึกษา ดักแด้ไหมที่มีโปรตีนสูง และมีการสะสมสารสีแคโรทีนอยด์ในร่างกาย อาจเป็นวัตถุดิบทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับเป็นแหล่งโปรตีน และสารสีจากธรรมชาติที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต เม็ดสีบริเวณผิวหนัง และปรับปรุงดัชนีสุขภาพของปลาทองได้ในเวลาเดียวกันจึงเป็นการศึกษาที่น่าสนใจต่อการใช้วัตถุดิบทางเลือกในการผลิตอาหารปลาสวยงามเพื่อยกระดับสินค้าประมงของประเทศไทย

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและสถานที่ทดลอง

ดำเนินการเตรียมปลาทอง (*Carassius auratus*) ขนาด 5-6 กรัมต่อตัว เลี้ยงปลาทองในตู้กระจก ขนาด 160 ลิตร ตู้ละ 10 ตัว ให้อาหารพื้นฐานเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนเริ่มการทดลอง เพื่อให้ปลาคชินกับสภาพแวดล้อมของการทดลอง โดยทำการทดลองเลี้ยงปลาในหน่วยทดลองสัตว์น้ำ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ บริเวณพื้นที่ของศูนย์วิจัยสัตวศาสตร์และฟิสิกส์เกษตรแม่เหียะ ดังแสดงใน Figure 1 โดยแหล่งน้ำที่ใช้ทดลองเป็นน้ำประปาที่ผ่านกำจัดคลอรีน การพักน้ำก่อนนำมาใช้ มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ คุณสมบัติของน้ำตลอดทั้งการทดลองมีค่าปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) เฉลี่ย 5.97 มิลลิกรัมต่อลิตร อุณหภูมิเฉลี่ย 26.8 องศาเซลเซียส ปริมาณแอมโมเนียรวมเฉลี่ย 0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมถึงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) และค่าความกระด้าง (Hardness) โดยเฉลี่ยดังนี้ 7.87, 201.18 และ 28.00 ตามลำดับ



Figure 1 The animal trial and experimental fish tank.

การเตรียมอาหารสัตว์ทดลอง และการออกแบบการทดลอง

นำดักแด้ใหม่ทั้ง 2 ชนิดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดแล้วเก็บไว้ในที่ปลอดความชื้น อาหารทดลองสำหรับปลาทองดัดแปลงจากสูตรอาหารของ (Tola et al., 2015) โดยนำดักแด้ใหม่อีรี และดักแด้ใหม่พันธุ์ไทยลูกผสมปน นำไปทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารตามอัตราส่วนใน Table 1 ผสมวัตถุดิบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ด อบให้แห้งด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียส นำอาหารทดลองมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี อาหารที่เตรียมเสร็จแล้วเก็บใส่ถุงพลาสติกและแช่ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ปลาทองจำนวน 300 ตัวประกอบด้วย 5 กลุ่มการทดลอง ต่อ 1 วัตถุดิบ (ดักแด้ใหม่อีรี และดักแด้ใหม่พันธุ์ไทยลูกผสม) กลุ่มการทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว แต่ละชุดทดลองแทนที่แหล่งโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารปลาทองด้วยดักแด้ใหม่อีรี และดักแด้ใหม่พันธุ์ไทยลูกผสม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้

การแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ใหม่อีรี

- กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุม (ESM0)
- กลุ่มที่ 2 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ใหม่อีรี 25% ในอาหาร (ESM25)
- กลุ่มที่ 3 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ใหม่อีรี 50% ในอาหาร (ESM50)
- กลุ่มที่ 4 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ใหม่อีรี 75% ในอาหาร (ESM75)
- กลุ่มที่ 5 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ใหม่อีรี 100% ในอาหาร (ESM100)

การแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม

กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุม (CSM0)

กลุ่มที่ 2 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม 25% ในอาหาร (CSM25)

กลุ่มที่ 3 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม 50% ในอาหาร (CSM50)

กลุ่มที่ 4 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม 75% ในอาหาร (CSM75)

กลุ่มที่ 5 การทดแทนปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม 100% ในอาหาร (CSM100)

Table 1 Formulation of the experimental diets fed to silkworm for goldfish.

Ingredient (100%)	0%	25%	50%	75%	100%
FM ¹	15.00	11.25	7.50	3.75	0.00
ESM / CSM ¹	0.00	3.75	7.50	11.25	15.00
Cassava	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Soybean meal	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
Wheat	19.60	19.60	19.60	19.60	19.60
Rice bran	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Vitamin and mineral	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
total	100	100	100	100	100

¹ FM; Fish meal, ESM; Eri silkworm meal, CSM; Thai crossbred (j108 x Nhangtai) silkworm meal.

การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล

ดำเนินการชั่งน้ำหนัก และวัดขนาดตัวปลาในแต่ละสัปดาห์ ตามวิธีการของ Jahanbakhshi et al. (2021) ดังแสดงใน Figure 2 จากนั้นทำการเก็บข้อมูล โดยบันทึกน้ำหนักปลาเริ่มต้น (Initial body weight: W_1) และน้ำหนักสุดท้าย (Final body weight: W_2) เพื่อประเมินอัตราการเจริญเติบโต (Body weight gain) และ อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate)

$$\text{Weight gain} = W_2 - W_1$$

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = 100 [\text{Ln } W_2(\text{g}) - \text{Ln } W_1(\text{g})]/T$$

หมายเหตุ: W_1 : น้ำหนักตัวเริ่มต้น; W_2 : น้ำหนักตัวสุดท้าย; T: ระยะเวลาทดลอง (วัน)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองดำเนินการสุ่มปลาทอง จำนวน 2 ตัว/ตู้ เพื่อเก็บตับเพื่อประเมินค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index) เก็บตัวอย่างอวัยวะภายในและไขมันในช่องท้อง โดยชั่งน้ำหนักและแยกส่วนของไขมันในช่องท้องออก เพื่อประเมินค่าสัดส่วนอวัยวะภายใน (Viscera somatic index) และไขมันในช่องท้อง (Visceral fat)

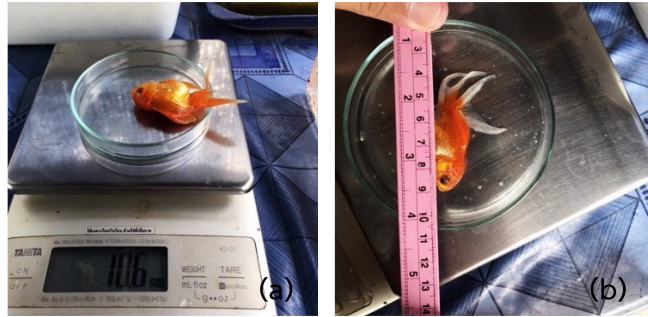


Figure 2 The weight-length measurement of the goldfish. Weighing measure (a) and length measure (b).

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของ ดักแด้ไหมอีรี่ และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (ดักแด้ไหมพันธุ์นาสวรรค์ x ทับทิมสยาม; j108 x Nhaglai) ดังแสดงใน Table 2 พบว่าดักแด้ไหมอีรี่มีโปรตีนโดยรวม 66.18% และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม มีโปรตีนโดยรวม 56.16% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหม (Silkworm pupae meal) ของ Karthick Raja et al. (2019) พบดักแด้หนอนไหมมีโปรตีนอยู่ในช่วง 50–70% ในขณะที่ปลาป่นมีโปรตีนอยู่ที่ 60-77% และเมื่อนำดักแด้ทั้ง 2 ชนิดมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในอาหารปลาทอง ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลาทองในแต่ละสูตรการทดลองได้แสดงดัง Table 3 ทั้งนี้ระดับของโปรตีนในสูตรอาหารที่ปรากฏขึ้นอยู่กับผลการวิเคราะห์โปรตีนของดักแด้ไหมทั้ง 2 ชนิด โดยอาหารที่แทนที่ด้วยดักแด้ไหมอีรี่ซึ่งมีโปรตีนสูง จะมีระดับโปรตีนในสูตรอาหาร 24-25% ซึ่งมากกว่าอาหารสูตรที่แทนที่ด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม พบค่าโปรตีนในสูตรอาหารที่ 22-23%

Table 2 The chemical composition of dietary replacement of Eri silkworm (*Samia ricini*) and Thai crossbreed (j108 x Nhaglai) silkworm meal.

Silkworm meal	Ash	Crude protein	Crude fiber	Ether extract	Gross energy
ESM	6.54	66.18	8.56	21.29	5,741
CSM	5.76	56.16	6.08	26.74	6,168

Table 3 The chemical composition of dietary replacement of fishmeal by Eri silkworm (*Samia ricini*) and Thai crossbreed (j108 x Nhapglai) silkworm for goldfish.

Dietary	Dry matter	Ash	Crude protein	Crude fiber	Ether extract
Eri silkworm meal (ESM)					
ESM 0	91.47	6.71	25.5	4.10	7.77
ESM 25	91.54	6.21	25.7	4.51	7.67
ESM 50	90.15	5.49	25.3	6.68	9.14
ESM 75	86.55	4.76	24.3	6.13	8.72
ESM 100	86.4	4.16	24.3	5.93	8.58
Thai crossbreed silkworm meal (CSM)					
CSM 0	84.83	6.06	23.7	5.11	7.55
CSM 25	85.87	6.07	23.2	5.07	6.82
CSM 50	82.25	5.65	22.8	5.12	6.37
CSM 75	84.07	5.55	22.4	4.49	5.25
CSM 100	83.48	5.36	22.4	4.74	5.37

FM; Fish meal, ESM; Eri silkworm meal, CSM; Thai crossbreed (j108 x Nhapglai) silkworm meal.

จากการศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของปลาทอง (Table 4) พบว่าการแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมอีรี่ (ESM) ที่ระดับ 75% ส่งผลทำให้น้ำหนักตัวสุดท้ายของปลาทองมีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่การแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมอีรี่ไม่ส่งผลต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาทอง ($P > 0.05$) แต่ตรงกันข้ามกับการแทนที่แหล่งโปรตีนด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (CSM) ในสูตรอาหารปลาทองที่ระดับ 100% ส่งผลทำให้น้ำหนักตัวสุดท้าย และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของปลามีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ทั้งนี้การแทนที่ด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสมที่ระดับ 25% ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Table 4 Effect of Eri silkworm (*Samia ricini*) and Thai crossbreed (j108 x Nhapglai) silkworm on growth performance in goldfish diet.

Growth performance	0%	25%	50%	75%	100%	SEM	P-value
Eri silkworm (ESM)							
Initial weight (g)	6.06	5.83	5.91	5.49	5.60	0.168	0.270
Final weight (g)	11.37 ^{ab}	9.95 ^b	9.95 ^b	11.59 ^a	10.13 ^b	0.254	0.048
BW gain	5.31	4.13	5.04	6.10	4.53	0.252	0.096
SGR	0.69	0.59	0.78	0.82	0.66	0.034	0.195
Thai crossbreed silkworm meal (CSM)							
Initial weight (g)	5.97	6.41	6.43	6.43	5.50	0.166	0.311
Final weight (g)	10.60 ^b	12.11 ^a	11.51 ^{ab}	10.30 ^b	8.84 ^c	0.331	0.001

BW gain	4.63 ^{bc}	5.69 ^a	5.08 ^{ab}	3.86 ^{cd}	3.34 ^d	0.249	0.001
SGR	0.63	0.70	0.64	0.52	0.52	0.025	0.079

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$). SEM; standard error of mean, BW; Body weight gain, SGR; Specific growth rate.

เมื่อดำเนินการศึกษาความเข้มสีผิวของปลาทอง ดังแสดงใน Table 5 พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยดักแด้ไหมอีรี่ที่ระดับ 50% และ 75% ส่งผลทำให้ผิวของปลามีทองมีค่าความเข้มสีเหลือง (b^*) สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ทั้งนี้ไม่พบผลกระทบจากการแทนที่แหล่งโปรตีนด้วยดักแด้ไหมอีรี่ต่อค่าความสว่าง (L^*), ความเข้มสีแดง (a^*) ของผิวปลาทอง เช่นเดียวกับการใช้ดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสมแทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารปลาทองไม่ส่งผลกระทบต่อค่าความเข้มสีผิวของปลาทอง ($P > 0.05$)

Table 5 Effect of Eri silkworm (*Samia ricini*) and Thai crossbreed (j108 x Nhaglai) silkworm on pigmentation in goldfish diet.

Pigmentation	0%	25%	50%	75%	100%	SEM	P-value
Eri silkworm (ESM)							
L^*	53.67	56.19	55.12	52.35	50.86	0.829	0.262
a^*	18.68	16.55	16.43	17.29	16.05	0.465	0.415
b^*	26.60 ^b	27.10 ^b	33.62 ^a	33.50 ^a	30.16 ^{ab}	0.982	0.048
Thai crossbreed silkworm meal (CSM)							
L^*	56.54	54.36	56.46	56.40	56.35	0.670	0.827
a^*	16.60	16.14	16.40	18.60	18.38	0.406	0.154
b^*	32.63	30.89	30.34	31.59	31.21	0.884	0.948

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$). SEM; standard error of mean.

อีกทั้ง Table 6 แสดงผลการแทนที่แหล่งโปรตีนจากปลาป่นด้วยดักแด้ไหมอีรี่ และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (j108 x Nhaglai) ในอาหารปลาทองต่อค่าดัชนีสุขภาพ พบว่าการแทนที่ด้วยดักแด้ไหมอีรี่ที่ระดับ 25% และ 50% ส่งผลทำให้ค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI) มีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ลดลงในกลุ่มที่ได้รับดักแด้ไหมอีรี่ที่ระดับ 75% และ 100% แต่ทั้งนี้การแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสมในสูตรอาหารไม่ส่งผลกระทบต่อค่าดัชนีตับ สัดส่วนอวัยวะภายใน และไขมันในช่องท้องของปลาทอง ($P > 0.05$)

Table 6 Effect of Eri silkworm (*Samia ricini*) and Thai crossbreed (j108 x Nhalai) silkworm on health status in goldfish diet.

Health status	0%	25%	50%	75%	100%	SEM	P-value
Eri silkworm (ESM)							
Hepatosomatic index (HSI)	0.29 ^b	0.49 ^a	0.46 ^a	0.29 ^b	0.44 ^{ab}	0.029	0.034
Visceral somatic index (VSI)	7.52	9.42	8.77	7.12	8.52	0.373	0.301
Visceral fat index (VFI)	2.28	2.74	3.04	2.25	1.98	0.166	0.269
Thai crossbreed silkworm meal (CSM)							
Hepatosomatic index (HSI)	0.19	0.34	0.25	0.22	0.30	0.020	0.115
Visceral somatic index (VSI)	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.003	0.483
Visceral fat index (VFI)	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.002	0.080

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$). SEM; standard error of mean,

ปลาต้องการโปรตีนจากอาหารเพื่อการเจริญเติบโตประมาณ 28-55% ของอาหาร (dry diet) ความต้องการดังกล่าวจะลดลงเมื่อปลาโตขึ้น ปลาทองต้องการโปรตีน 25-40% ในสูตรอาหาร (Hasan, 2001; Sales & Janssens, 2003) จากการศึกษาพบว่าระดับโปรตีนของดักแด้ไหมดักแด้ไหมอีรี่ และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (ดักแด้ไหมพันธุ์นาสวรรค์ x ทับทิมสยาม) มีโปรตีนโดยรวมเท่ากับ 66.18% และ 56.16% ตามลำดับ ซึ่งเทียบเท่ากับปลาป่น โดยทั่วไป ปลาป่นถือว่าเป็นวัตถุดิบโปรตีนคุณภาพสูง เนื่องจากมีระดับโปรตีนสูงถึง 66% ในขณะที่กากถั่วเหลืองมีโปรตีนเพียง 44% (Tacon et al., 2009) ปลาป่นนอกจากมีโปรตีนสูงยังมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนและกรดไขมันที่ครบถ้วนที่จำเป็นต่อปลา ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและสุขภาพที่ดีของปลา นอกจากนี้ ปลาป่นยังมีรสชาติและกลิ่นที่ดีที่ดึงดูดการกินอาหารของปลา แต่เนื่องด้วยปริมาณการจับปลาจากธรรมชาติเพื่อผลิตปลาป่นลดลงอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ราคาของปลาป่นเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่คุณภาพลดต่ำลง จึงเกิดแนวคิดการหาวัตถุดิบจากพืชที่มีราคาถูกมาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น เช่น กากถั่วเหลือง ซึ่งมีโปรตีนประมาณ 44% อย่างไรก็ตามการใช้ถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำยังมีข้อจำกัด เพราะในถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนา (Anti-nutritinal factors) ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารและการเจริญเติบโต อีกทั้งถั่วเหลืองไม่มีรสชาติ และกลิ่นที่ดึงดูดการกินอาหารของปลา (Palatability) (Rumpold & Schlüter, 2013; Tacon et al., 2009)

ทั้งนี้จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี เช่น ระดับโปรตีน (Crude protein) และองค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acid profile) ในดักแด้ไหมพบว่ามีความใกล้เคียงกับปลาป่นมาก (Sheikh et al., 2018) ซึ่งนอกจากองค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ lysine (Lys), methionine (Met) และ leucine (Leu) เป็นต้น ดักแด้ไหมยังประกอบด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ในปริมาณสูง (Karthick Raja et al., 2019) ในดักแด้ไหมบางชนิด เช่น ดักแด้ไหมกินใบหม่อน (*Bombyx mori*) และ yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่สะสมในร่างกายตรงตามความต้องการกรดอะมิโนของปลา (Alegbeleye et al., 2012; (Hasan, 2001) จากการศึกษาในระดับของกรดอะมิโนในดักแด้ไหม *Lepidoptera* พบว่ามีระดับของ Met ที่สูง นอกจากนี้การศึกษาระดับปริมาณและองค์ประกอบกรด

ไขมันในดักแด้ไหมอิตาลี พบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากดักแด้ไหมอิตาลีประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวประมาณ 33% และกรดไขมันไม่อิ่มตัวประมาณ 67% และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีปริมาณมากที่สุด คือ alpha-linolenic acid (C18:3) (Sheikh et al., 2018; Chieco et al., 2019) เป็นกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคที่เกิดจากการอักเสบ และโรคที่เกิดจากความผิดปกติของระบบประสาท (Rangacharyulu et al., 2003) ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้จึงส่งผลทำให้ปลาทองมีสมรรถภาพการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

นอกจากนั้นการใช้ดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50% และ 75% ส่งผลทำให้สีผิวของปลาทองมีค่าความเข้มสีเหลืองเพิ่มสูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากดักแด้ไหมนอกจากจะอุดมไปด้วยโปรตีน กรดอะมิโน และกรดไขมันแล้วยังสามารถสะสมสารสีกลุ่มของแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ที่มีลักษณะสีส้มแดงในร่างกาย (Chieco et al., 2019) ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่กินใบหม่อนสด (*Morus alba* L.) เป็นอาหารจะพบการสะสมในปริมาณมาก ซึ่งสารสีดังกล่าวนอกจากจะช่วยกระตุ้นการสะสมเม็ดสีเหลือง-ส้ม ของปลาทองแล้วนั้นยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถลดค่าดัชนีสุขภาพที่ร้ายแรง ซึ่งเกิดขึ้นจากความเครียด หรือการได้รับสารพิษของสัตว์ได้ (Chieco et al., 2019; Karthick Raja et al., 2019) ดังนั้นการใช้ดักแด้ไหมเพื่อทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาทองจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สำคัญนอกจากจะปลอดภัยกว่าปลาป่น ยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่สามารถใช้ประโยชน์ได้มากกว่าปลาป่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งดักแด้ไหมอิตาลี ซึ่งสามารถกระตุ้นการสะสมเม็ดสีเหลืองที่ผิวของปลาทองให้เพิ่มมากขึ้น ทำให้สีของปลาทองเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาการทดแทนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลาทอง (*Carassius auratus*) ด้วยดักแด้ไหมอิตาลี (*Samia ricini*; ESM) และดักแด้ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม (j108 x Nhaglai; CSM) ผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า ESM และ CSM สามารถแทนที่ FM ได้มากกว่า 50% ในสูตรอาหารปลาทอง โดยการแทนที่ปลาป่นด้วยดักแด้ไหมหนอใหม่ทั้ง 2 ชนิด สามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวสุดท้ายของปลาทอง ความเข้มสีเหลืองของผิวปลาทอง และค่าดัชนีสุขภาพของปลาทองได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้เฉพาะปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกรมหม่อนไหม (The Queen Sirikit Department of Sericulture) สังกัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ทั้งนี้ขอขอบคุณนักวิชาการจากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เชียงใหม่ สำหรับความร่วมมือและการสนับสนุน วัตถุประสงค์ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Alegbeleye, W. O., Obasa, S. O., Olude, O. O., Otubu, K., & Jimoh, W. (2012). Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *Aquaculture Research*. 43(3), 412-420.

- Begum, N. N., Chakraborty, S. C., Zaher, M., Abdul, M. M., & Gupta, M. V. (1994). Replacement of fishmeal by low-cost animal protein as a quality fish feed ingredient for indian major carp, *labeo rohita*, fingerlings. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 64(2), 191-197.
- Chieco, C., Morrone, L., Bertazza, G., Cappellozza, S., Saviane, A., Gai, F., Di Virgilio, N., & Rossi, F. (2019). The effect of strain and rearing medium on the chemical composition, fatty acid profile and carotenoid content in silkworm (*Bombyx mori*) pupae. **Animals**. 9(3), 103-116.
- Dheke, S., & Gubhaju, S. R. (2013). Growth response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on substitution of shrimp meal by different protein sources. **Nepalese Journal of Zoology**. 1(1), 24-29.
- Hasan, M. (2001). Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. In **The 3rd Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture**. (pp. 193-219). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., & Fountoulaki, E. (2015). Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. **Animal Feed Science and Technology**. 203, 1-22.
- Hossain, M., Nahar, N., & Kamal, M. (1997). Nutrient digestibility coefficients of some plant and animal proteins for rohu (*Labeo rohita*). **Aquaculture**. 151(1-4), 37-45.
- Jahanbakhshi, A., Pourmozaffar, S., Adeshina, I., Mahmoudi, R., Erfanifar, E., & Ajdari, A. (2021). Selenium nanoparticle and selenomethionine as feed additives: Effects on growth performance, hepatic enzymes' activity, mucosal immune parameters, liver histology, and appetite-related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus*). **Fish Physiology and Biochemistry**. 47(2), 639-652.
- Jeyachandran, P., & Paulraj, S. (1976). Experiments with artificial feeds on *Cyprinus carpio* fingerlings. **Journal of Inland Fisheries Society of India**. 8(1976), 33-37.
- Karthick Raja, P., Aanand, S., Stephen Sampathkumar, J., & Padmavathy, P. (2019). Silkworm pupae meal as alternative source of protein in fish feed. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. 7(4), 78-85.
- Kotake-Nara, E., Yamamoto, K., Nozawa, M., Miyashita, K., & Murakami, T. (2002). Lipid profiles and oxidative stability of silkworm pupal oil. **Journal of Oleo Science**. 51(11), 681-690.
- Longvah, T., Mangthya, K., & Ramulu, P. (2011). Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. **Food chemistry**. 128(2), 400-403.
- Meicai, W., & Gaoqiang, L. (2001). The research and exploitation of insect protein. **Journal of Central-south Forestry College**. 21(2), 86-90.
- Putra, D. F., Qadri, A., El-Rahimi, S. A., & Othman, N. (2020). Effects of astaxanthin on the skin color of green swordtail, *Xyphophorus helleri*. **E3S Web of Conferences**. 151, 01065-01069.
- Rana, K. J., Siriwardena, S., & Hasan, M. R. (2009). **Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production**. Stirling: University of Stirling.
- Rangacharyulu, P., Giri, S., Paul, B., Yashoda, K., Rao, R. J., Mahendrakar, N., Mohanty, S., & Mukhopadhyay, P. (2003). Utilization of fermented silkworm pupae silage in feed for carps. **Bioresource Technology**. 86(1), 29-32.
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 17, 1-11.
- Sales, J., & Janssens, G. P. (2003). Nutrient requirements of ornamental fish. **Aquatic Living Resources**. 16(6), 533-540.
- Sheikh, I., Banday, M., Baba, I., Adil, S., Nissa, S. S., Zaffer, B., & Bulbul, K. (2018). Utilization of silkworm pupae meal as an alternative source of protein in the diet of livestock and poultry: a review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. 6(4), 1010-1016.
- Tacon, A. G., Metian, M., & Hasan, M. R. (2009). **Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: sources and composition**. Rome: Fisheries and Aquaculture Management Div.

- Tola, S., Bureau, D. P., Hooft, J. M., Beamish, F. W., Sulyok, M., Krska, R., Encarnaçao, P., & Petkam, R. (2015). Effects of wheat naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on growth performance and selected health indices of red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). *Toxins*. 7(6), 1929-1944.
- Wanchooplao, N., Jintasataporn, O., Tabthipwon, P., & Areechon, N. (2009). Utilization of protein hydrolysates from Eri silkworm pupae (*Philosamia ricini*) in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). In *The Proceedings of 47th Kasetsart University Annual Conference*. (pp. 1-47). Bangkok: Kasetsart University.

วันรับบทความ (Received date) : 21 มี.ย. 65
วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 9 ส.ค. 65
วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 4 ต.ค. 65

ผลของวัสดุเกาะที่แตกต่างกันต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำ

[*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)]

The Effect of Different Substrates on Larvae Settlement in Black Sea

Cucumber [*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)]แควલી วิบูลย์กิจ¹ และ ปิยะดา ทวีชศรี^{1*}Kaewalee Viboonkit¹ and Piyada Tavitchasri^{1*}

บทคัดย่อ

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำ (*Holothuria leucospilota*) ด้วยวัสดุเกาะที่เหมาะสมสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายได้ วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เป็นการศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำระยะ pentactula บนวัสดุเกาะ 3 ประเภท ได้แก่ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการเพาะพันธุ์ตัวอ่อนระยะ auricularia จากพ่อแม่พันธุ์ธรรมชาติ ทดลองโดยการอนุบาลตัวอ่อน auricularia ในถังที่มีวัสดุเกาะแต่ละประเภทและให้ไดอะตอมเป็นอาหาร เมื่อตัวอ่อนระยะ pentactula ลงเกาะทั้งหมดจะทำการสุ่มนับจำนวนเพื่อหาอัตราการลงเกาะและตรวจสอบระยะเวลาการลงเกาะ ผลการศึกษาการลงเกาะบนวัสดุชนิดแข็ง คือ ทราวยทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม พบว่าตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะบนเศษปะการังได้ดีที่สุด ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการลงเกาะ 11.31 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาการลงเกาะ 27.00 ± 0.82 วัน ส่วนการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายฟองอ่อน และสาหร่ายเห็ดหูหนู พบว่าตัวอ่อนมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลได้ดีที่สุด ($P < 0.01$) เท่ากับ 17.50 ± 1.43 เปอร์เซ็นต์ และ 23.33 ± 0.58 วัน ตามลำดับ สำหรับการลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, shading net และ monofilament nylon พบว่ามีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบน plastic sheet ดีที่สุด ($P < 0.01$) เท่ากับ 53.00 ± 4.38 เปอร์เซ็นต์ และ 22.50 ± 0.58 วัน ตามลำดับ การทดลองแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนปลิงดำสามารถลงเกาะได้บนวัสดุทั้ง 3 ประเภท และมีแนวโน้มลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์โดยเฉพาะ plastic sheet ได้ดีกว่าวัสดุประเภทอื่น

คำสำคัญ: ปลิงดำ การอนุบาล วัสดุเกาะ อัตราการลงเกาะ ระยะเวลาการลงเกาะ

Abstract

Survival rate of black sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) larvae can be increased by nursing with appropriate substrate. The objective of this experiment was to examine the settlement rate and settlement period of black sea cucumber larvae at pentactula stage with various substrates. The settlement of the larvae was performed on 3 types of substrates, including hard materials, seaweeds and artificial materials. The group of substrates was allotted to the treatments in a completely randomized design. Auricularia larvae were bred from wild broodstock, applied in each treatment of substrates and fed with

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร อ.ปะทิว จ.ชุมพร 86160

¹ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus, Pathio, Chumphon, 86160

* Corresponding author, e-mail address: ktpiyada@yahoo.com

the diatoms. The settlement rate and settlement period were collected. The result revealed that in the group of hard materials, the coral rubble had been used as settlement surface better than sea sand, clay and mixed materials ($P < 0.01$). The settlement rate and settlement period of the black sea cucumber larvae on the coral rubble were 11.31 ± 0.36 percentage and 27.00 ± 0.82 days, respectively. The rate and period of settlement on five species of seaweed, *Ulva rigida*, *Caulerpa taxifolia*, *Halimeda* sp., *Caulerpa lentillifera* and *Padina* sp. showed the best settlement of larvae on *Ulva rigida* ($P < 0.01$). The settlement rate and settlement period on *Ulva rigida* were 17.50 ± 1.43 percentage and 23.33 ± 0.58 days, respectively. For the study of the settlement rate and settlement period on 4 types of artificial materials: plastic sheet, plastic film, shading net, and monofilament nylon, it was found that black sea cucumber larvae had the best settling rate (53.00 ± 4.37 percentage) and settling period (22.50 ± 0.58 days) onto the plastic sheet ($P < 0.01$). The results showed that the larvae of black sea cucumber were able to settle on all 3 different substrates. Overall, the data suggested that artificial materials, especially the plastic sheet, were found to be more effective than other substrates at increasing larval settlement.

Keywords: black sea cucumber, nursery, substrate, settlement rate, settlement period

คำนำ

ปลิงดำหรือปลิงทะเลสีดำ [*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)] เป็นปลิงทะเลหนึ่งใน 92 ชนิด ที่มีการแพร่กระจายในน่านน้ำไทย (Putchakarn et al., 2017) และยังเป็นหนึ่งใน 12 ชนิด ที่นำมาบริโภคและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ (Munprasit, 2008) ปลิงทะเลเป็นอาหารบำรุงกำลังและมีคุณสมบัติทางยา ช่วยรักษาสมดุลงของสาร prostaglandin ซึ่งมีส่วนในกระบวนการทำให้กล้ามเนื้ออักเสบ (Hung, 2008) ผังงลำตัวประกอบด้วย collagen และ acidic polysaccharides (Panagos et al., 2014) ที่มีโครงสร้างเป็น fucosylated chondroitin sulfates (Kariya et al., 1990) และ sulfated fucans (Kariya et al., 2004) ปัจจุบันการทำประมงปลิงทะเลทั่วโลก รวมถึงน่านน้ำเขตร้อนและประเทศไทย อยู่ในสถานะที่เกินศักยภาพการผลิต (overfishing) ประชากรปลิงทะเลในธรรมชาติมีปริมาณลดลงและบางชนิดอยู่ในสถานะใกล้สูญพันธุ์ (Abdel-Razek et al., 2005; Kinch et al., 2008) ประเทศไทยมีปลิงทะเลที่อยู่ในสถานภาพถูกคุกคามตาม IUCN จำนวน 43 ชนิด (Putchakarn et al., 2017) นักวิชาการที่เกี่ยวข้องกำลังพยายามหาวิธีการเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว (Purcell, 2004; Toral-Granda et al., 2008) การเพาะขยายพันธุ์และส่งเสริมการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เป็นอีกหนึ่งแนวทางที่สามารถลดหรือชะลอการเสื่อมโทรมของสายพันธุ์ปลิงทะเลในเขตร้อนได้ (Agudo, 2006; Ivy & Giraspy, 2006; Mercier et al., 2000) ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลิงทะเลในประเทศไทยยังอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาวิจัยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลิงขาว (*Holothuria scabra*) โดยกรมประมงมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ มาอย่างต่อเนื่อง แต่พบว่าการอนุบาลลูกปลิงทะเลระยะ doliolaria จนถึงระยะวัยรุ่น (juvenile) ยังมีอัตราการรอดตายต่ำมาก เนื่องจากเป็นระยะที่มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการดำรงชีวิตจากการล่องลอยในมวลน้ำมาลงเกาะกับพื้นผิววัสดุ (Chaichotranunt et al., 2021)

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล โดยเฉพาะชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณหน้าดินซึ่งรวมถึงปลิงทะเล จะมีระยะวัยอ่อนเป็นแพลงก์ตอน (planktonic form) ก่อนที่จะลงเกาะกับพื้นทะเลและเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนเป็นตัวเต็มวัย (Li et al., 2010) ระยะลงเกาะเป็นช่วงเวลาวิกฤติในวัฏจักรชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในทะเลเป็นจำนวนมาก (Lainig, 1995) การลงเกาะบนพื้นผิวที่เหมาะสมจะเป็นตัวกำหนดความอยู่รอดในระยะยาวของระยะวัยรุ่นและตัวเต็มวัย (Pearce & Scheibling, 1990) ตัวอ่อนของสัตว์ทะเลบางชนิดอาจชะลอการพัฒนาจนกว่าจะพบพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการอาศัย (Mladenov, 1985) ซึ่งเป็นผลให้ระยะเวลาการลงเกาะยาวนานขึ้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการลงเกาะของตัวอ่อน ได้แก่ ปัจจัยทางกายภาพ เคมี และพฤติกรรม (Devakie & Ali, 2002; Zhao et al., 2003; Kang et al., 2004; Su et al., 2007; Yu et al., 2008; Li et al., 2010) สำหรับการเพาะเลี้ยงปลิงทะเล *Stichopus japonicus* และ *Holothuria scabra* พบว่าการลงเกาะที่ประสบความสำเร็จเกิดจากการเคลือบผิววัสดุด้วยไดอะตอมกลุ่มยึดเกาะ (benthic diatom) แบบที่เรียกที่เกาะตัวเป็นแผ่นฟิล์ม (biofilm) และสารสกัดจากสาหร่าย (Ito & Kitamura, 1997) ซึ่งอาจมีตัวชี้แนะทางเคมีที่ช่วยเหนี่ยวนำและเอื้อต่อการลงเกาะของตัวอ่อน (Li et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าไดอะตอมกลุ่มยึดเกาะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนเม่นทะเล *Pseudocrototus depressus* (Rahim et al., 2004) หอยเป่าฮื้อ *Haliotis discus hannai* (Kawamura & Kikuchi, 1992) และปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* (Ito & Kitamura, 1997) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการลงเกาะของปลิงทะเลยังมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเมื่อเปรียบเทียบกับเอคโคไคโนเดิร์มกลุ่มอื่นๆ ภายใต้งี้ออนโซสภาพแวดล้อมของโรงเพาะฟัก การเลือกพื้นผิวที่เหมาะสมจะทำให้การลงเกาะของตัวอ่อนประสบความสำเร็จ มีอัตราการลงเกาะสูง มีพัฒนาการที่ดีทำให้ระยะเวลาการลงเกาะเร็วขึ้น ถือเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการผลิตลูกพันธุ์เชิงอุตสาหกรรม (Smiley et al., 1991; Battaglene et al., 1999; Li et al., 2010)

การศึกษาค้นคว้ามีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกวัสดุเกาะที่มีความเหมาะสมสำหรับการลงเกาะของปลิงดำ โดยคำนึงถึงอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะเป็นสำคัญ การลงเกาะที่ประสบความสำเร็จเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญต่ออัตราการรอดตาย โดยทำการคัดเลือกวัสดุเกาะที่สอดคล้องกับวัสดุในแหล่งอาศัยตามธรรมชาติและการประยุกต์ใช้วัสดุสังเคราะห์ แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอ่อนปลิงดำและวัสดุเกาะ

การเตรียมตัวอ่อนระยะ auricularia

เตรียมตัวอ่อนระยะ auricularia โดยการรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลิงดำจากบริเวณชายฝั่งอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ในช่วงเวลาน้ำลง คัดเลือกเฉพาะปลิงดำที่มีขนาดน้ำหนักประมาณ 250 กรัม และมีความยาวลำตัวประมาณ 20 เซนติเมตร นำมาพักเป็นเวลา 1 คืน เนื่องจากไม่สามารถระบุเพศปลิงทะเลได้จากลักษณะภายนอก การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์และแม่พันธุ์จึงเป็นแบบสุ่ม จำนวนรวม 10 ตัว เพาะพันธุ์โดยการกระตุ้นให้พ่อแม่พันธุ์ปล่อยอสุจิและไข่ออกมาผสมกันในน้ำทะเล วิธีการกระตุ้นเป็นการช็อคด้วยอุณหภูมิต่ำ ตามวิธีของ Laxminarayana (2005) รวบรวมไข่ที่ได้รับการผสมแล้วด้วยวิธีการกักน้ำและกรองผ่านถุงกรองขนาดช่องตา 150 ไมครอน จากนั้นนำไปพักในถังพลาสติกทรงกลมขนาดบรรจุ 200 ลิตร ระดับความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน และให้อากาศตลอดเวลา ในระหว่างพักไข่ทำการตรวจสอบการพัฒนาของตัวอ่อนจนกระทั่ง

ฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะ auricularia ระยะเวลาการฟักประมาณ 45-48 ชั่วโมง ขนาดความยาวของตัวอ่อนระหว่าง 400-450 ไมครอน ตรวจสอบความหนาแน่นและสัณฐานจำนวนของตัวอ่อน auricularia นำไปอนุบาลตามวัสดุเกาะที่กำหนดต่อไป

การเตรียมวัสดุเกาะ

วัสดุเกาะทุกชนิดจะนำมาล้างทำความสะอาด เพื่อกำจัดสิ่งมีชีวิตที่อาจเกาะติดมากับวัสดุดังกล่าว โดยวัสดุเกาะชนิดแข็ง 4 ชนิด ได้แก่ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม (ทรายผสมเศษปะการังและโคลน) ทำความสะอาดตามวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการปล่อยน้ำทะเลให้ไหลผ่านวัสดุดังกล่าวนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์ วัสดุชนิดแข็งเหล่านี้เมื่อนำไปใส่ลงในถังอนุบาลจะมีความหนาแน่นจากพื้นก้นถึง 5 เซนติเมตร โดยมีพื้นที่ผิวหรือพื้นที่หน้าตัด 28.5 ตารางเมตร วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเล 5 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) สาหร่ายขนนก (*Caulerpa taxifolia*) สาหร่ายใบมะกรูด (*Halimeda* sp.) สาหร่ายพวงอุ้ง (*Caulerpa lentillifera*) และสาหร่ายเห็ดหูหนู (*Padina* sp.) ทำความสะอาดตามวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการแช่ในน้ำจืดเป็นเวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นนำไปแช่ในเมธานอลความเข้มข้น 10% นาน 5 นาที และนำไปแช่ในน้ำจืดอีก 10 นาที ขนาดของสาหร่ายที่ใช้แต่ละชั้นจะมีพื้นที่ผิวประมาณ 0.14 ตารางเมตร และมีพื้นที่ผิวรวมในแต่ละหน่วยการทดลอง 150.00 ตารางเมตร วัสดุสังเคราะห์ คือ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net จะนำมาแช่ในน้ำทะเลเพื่อให้ปราศจากพิษเนื่องจากเป็นวัสดุสังเคราะห์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ ตามวิธีการของ Li et al. (2010) โดยการนำไปแช่ในด่างทับทิม (potassium permanganate) ความเข้มข้น 20 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 นาที ล้างด้วยน้ำจืด และตากให้แห้งก่อนนำไปใช้ โดย plastic sheet จะมีขนาด (กว้างxยาว) เท่ากับ 10x15 เซนติเมตร plastic film มีขนาด 10x15 เซนติเมตร monofilament nylon ขนาด 20x30 เซนติเมตร และ shading net (สีเขียว) ขนาด 10x15 เซนติเมตร วัสดุสังเคราะห์ทุกชนิดมีพื้นที่ผิวด้านละ 1.50 ตารางเมตร วัสดุสังเคราะห์แต่ละชนิดจะนำมาประกอบเป็นช่อ ช่อละ 10 ชิ้น (แต่ละช่อมีพื้นที่ผิว 30.00 ตารางเมตร) แต่ละหน่วยการทดลองใส่วัสดุเกาะจำนวน 5 ช่อ (แต่ละหน่วยการทดลองมีพื้นที่ผิว 150.00 ตารางเมตร) วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเลและวัสดุสังเคราะห์ทุกชนิดเมื่อทำความสะอาดแล้ว จะนำมาแช่น้ำทะเลในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร พร้อมใส่อาหารสำหรับเลี้ยงตัวอ่อนปลิงดำ ก่อนจะเข้าระยะ pentactula ประมาณ 3-5 วัน เพื่อให้เกิด biofilm แล้วนำไปใส่ในถังทดลอง ส่วนวัสดุชนิดแข็งจะใส่สาหร่ายทะเลบดละเอียดในระหว่างการทดลอง

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำ

ทำการอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำในถังพลาสติกทรงกลมปริมาตร 200 ลิตร ในน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 150 ลิตร แต่ละหน่วยการทดลองจะอนุบาลตัวอ่อน auricularia ที่ความหนาแน่น 200 ตัว ต่อหน้า 1 ลิตร (30,000 ตัวต่อถัง) ในถังทดลองจะใส่วัสดุเกาะตามชุดการทดลองที่กำหนด และเริ่มใส่วัสดุเกาะเมื่อตัวอ่อนปลิงดำพัฒนาเข้าสู่ระยะ late doliolaria การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำสำหรับการทดลองครั้งนี้ใช้วัสดุ 3 ประเภท ได้แก่ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนวัสดุชนิดแข็ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีวัสดุเกาะ (ปูพื้น) ชนิดแข็งเป็นสิ่งทดลอง แบ่งเป็น 4 ชนิด ได้แก่ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม ทำการทดลองแต่ละชนิด 4 ซ้ำ รวม 16 หน่วยทดลอง การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนสาหร่ายทะเล วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีชนิดของสาหร่ายทะเล

เป็นวัสดุเกาะ 5 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงอุ้ง และ สาหร่ายเห็ดหูหนู แต่ละชนิดทำการทดลอง 3 ซ้ำ รวม 15 หน่วยทดลอง การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อน ปลิงดำบนวัสดุสังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีวัสดุสังเคราะห์เป็นสิ่งทดลอง 4 ชนิด ได้แก่ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net แต่ละชนิดทำการทดลอง 4 ซ้ำ รวม 16 หน่วยทดลอง อาหารที่ให้ในช่วงก่อนการลงเกาะเป็นแพลงก์ตอนผสมระหว่าง *Chaetoceros calcitrans* และ *Isochrysis galbana* ในอัตราส่วนผสมระหว่าง 1:1 ความเข้มข้นของอาหารที่ให้ประมาณ 20,000-25,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Laxminarayana, 2005) ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 06.00 น. และ 18.00 น. มีการคลุมถังอนุบาลด้วยผ้าใบสีดำให้มืดตลอดเวลาเพื่อลดความเครียดของตัวอ่อน ทำการอนุบาลจนกระทั่งตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะทั้งหมด โดยตรวจสอบจากการที่ตัวอ่อนไม่ปรากฏในมวลน้ำ ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

จำนวนและอัตราการลงเกาะ

เมื่อตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะทั้งหมด ทำการสุ่มนับจำนวนปลิงดำระยะ pentactula ที่อยู่บนวัสดุเกาะแต่ละชนิดโดย วัสดุเกาะชนิดแข็งสุ่มเก็บตัวอย่างจากพื้นที่หน้าตัดของถังที่มีขนาด 28.50 ตารางเมตร ทำการสุ่มนับจำนวน 5 จุด จุดละ 1.00 ตารางเมตร รวมพื้นที่สุ่มทั้งสิ้น 5.00 ตารางเมตร วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเลจะทำการสุ่มนับจำนวนจากสาหร่ายทะเลจำนวน 10 ชิ้น คิดเป็นพื้นที่ทั้งสิ้น 14.00 ตารางเมตร และวัสดุสังเคราะห์ จะสุ่มนับจากวัสดุสังเคราะห์จำนวน 15 ชิ้น แต่ละชิ้นมีพื้นที่ 0.05 ตารางเมตร จากนั้นนำค่าที่สุ่มนับมาคำนวณหาจำนวนตัวอ่อน pentactula ทั้งหมดที่ลงเกาะในแต่ละหน่วยการทดลอง และนำมาคำนวณหาอัตราการลงเกาะ (settlement rate)

$$\text{อัตราการลงเกาะ (\%)} = \frac{\text{จำนวน pentactula ที่ลงเกาะ} \times 100}{\text{จำนวน auricularia เมื่อเริ่มทดลอง}}$$

ระยะเวลาการลงเกาะ

เนื่องจากตัวอ่อนระยะ auricularia ถึงระยะ doliolaria อยู่ในลักษณะที่เป็นแพลงก์ตอนลอยลอยอยู่ในมวลน้ำ ทั้งยังมีลักษณะลำตัวใส และมีขนาดเล็กต้องส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นการตรวจสอบการลงเกาะของตัวอ่อนในที่นี้จะตัดแปลงจากวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการสุ่มเก็บน้ำในแต่ละหน่วยทดลองปริมาตร 120 มิลลิลิตร มาตรวจสอบและนับจำนวนตัวอ่อน ตรวจสอบจำนวน 3 ซ้ำ ถ้าพบตัวอ่อนในน้ำแสดงว่าตัวอ่อนยังลงเกาะไม่หมด แต่ถ้าไม่พบตัวอ่อนแสดงว่าตัวอ่อนลงเกาะหมดแล้ว การตรวจสอบระยะเวลาการลงเกาะจะนับเริ่มตั้งแต่ปล่อยตัวอ่อน auricularia ลงอนุบาลจนถึงวันที่ตัวอ่อนลงเกาะทั้งหมด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ตามวิธีการของ Sukamolson (2017)

“การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินงานต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หนังสือรับรองเลขที่ ACUC-KMITL-RES/2022/011”

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะของตัวอ่อนปลิงดำ

ตัวอ่อนของปลิงดำในช่วงที่ทำการศึกษแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเวลา auricularia, doliolaria และ pentactula ซึ่งจะมีลักษณะและขนาดแตกต่างกัน ผลการตรวจสอบลักษณะตัวอ่อนเพื่อระบุระยะ ดังแสดงใน Figure 1

ระยะ Auricularia (Figure 1a): เป็นตัวอ่อนระยะแรกฟัก มีขนาดอยู่ในช่วง 240-650 ไมครอน หรือเฉลี่ย 363.33 ± 85.55 ไมครอน โดยระยะ early auricularia นั้น โครงสร้างหลักของร่างกายประกอบด้วย ciliary bands, hyaline spheres, buccal cavity, esophagus, intestine, cloaca และ anus เมื่อ auricularia พัฒนาคืบคลานแล้ว จะปรากฏส่วนของ somatocoel (ทางด้านซ้ายและขวา) axohydrocoel และ sphincter (ระหว่างหลอดอาหารและลำไส้) และมีโครงสร้างอื่นเหมือนกับระยะ early auricularia ในขณะที่ระยะ late auricularia จะมีโครงสร้างทั้ง hyaline spheres, esophagus, intestine, somatocoel และ axohydrocoel เห็นได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ในขณะที่ส่วนของ ciliary bands และ buccal cavity ลดรูปลง

ระยะ doliolaria (Figure 1b, 1c): ระยะ doliolaria ที่สมบูรณ์จะมีโครงสร้างประกอบด้วย hyaline spheres, primary tentacle (ส่วนของหนวดที่เริ่มพัฒนา), ciliary bands และ somatocoel ในระยะ doliolaria นี้ ตัวอ่อนจะมีลักษณะเป็นทรงรีตรงกลางโป่งคล้ายถึงเปียร์ ส่วนของ hyaline sphere ขยายขนาดจนเห็นได้ชัดเจน ลำตัวมีสีขาวย่นถึงน้ำตาลออกเหลือง ในช่วงแรกของระยะนี้ส่วนของหนวดจะยังอยู่ภายในลำตัว และยื่นออกมาภายนอกให้เห็นเมื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะ pentactula

ระยะ pentactula (Figure 1d): ระยะนี้เป็นตัวอ่อนระยะสุดท้าย การดำรงชีวิตจะเปลี่ยนจากการล่องลอยอยู่ในมวลน้ำในลักษณะของแพลงก์ตอนมาเป็นยึดเกาะกับพื้น ดังนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะนี้หนวดจะยื่นออกมาภายนอกให้เห็นได้ชัดเจน โดยในระยะ early pentactula จะมีหนวดยื่นออกมา 5 เส้น ciliary bands ยังสามารถมองเห็นได้ ซึ่งระยะนี้จะยังไม่ลงเกาะสมบูรณ์ การลงเกาะของตัวอ่อนระยะนี้จะเห็นได้ชัดเมื่อส่วนของ ambulacral podia เริ่มปรากฏทางด้านท้อง ในขณะที่ด้านหลังยังคงมองเห็น hyaline sphere ได้อย่างชัดเจน ตัวอ่อนระยะนี้สังเกตได้ยากที่สุด เนื่องจากมีลำตัวค่อนข้างใสอาจมีสีขาวย่นบ้าง ประกอบกับการลงเกาะกับวัสดุเมื่อยังมีขนาดเล็กมาก ทำให้การนับจำนวนจึงต้องใช้ความละเอียดสูง

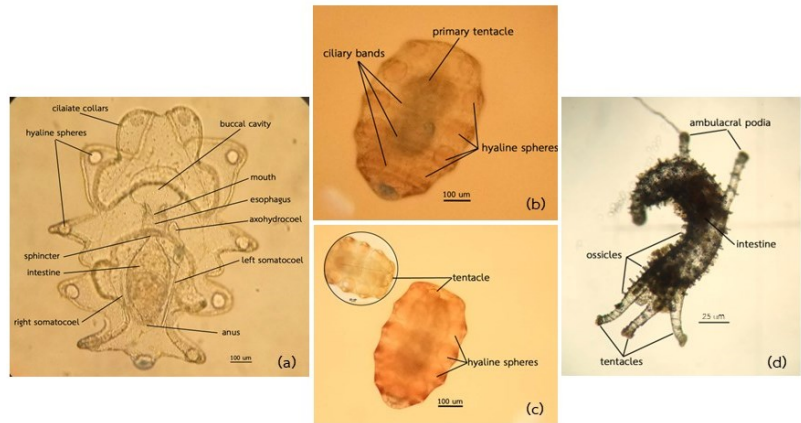


Figure 1 The development of *Holothuria leucospilota* larvae: auricularia stage (a), doliolaria stage (b) & (c), and pentactula stage (d).

การศึกษาการลงเกาะบนวัสดุชนิดแข็ง

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำตั้งแต่ระยะ auricularia จนถึงระยะ pentactula โดยอาศัยวัสดุเกาะชนิดแข็ง (hard substrate) 4 ชนิด ได้แก่ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ไม่ปรากฏตัวอ่อนระยะ doliolaria ในมวลน้ำ) มีจำนวนตัวอ่อนระยะ pentactula ที่ลงเกาะบนวัสดุ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม เท่ากับ $1,188.85 \pm 75.83$, $3,391.50 \pm 106.54$, 788.03 ± 70.95 และ $2,811.53 \pm 180.09$ ตัว ตามลำดับ ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 1 โดยพบว่าวัสดุชนิดแข็งมีผลต่ออัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะ ($P < 0.01$) ของตัวอ่อนปลิงดำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเศษปะการังที่มีอัตราการลงเกาะสูงที่สุด ($11.31 \pm 0.36\%$) และมีระยะเวลาการลงเกาะเร็วที่สุด (27.00 ± 0.82 วัน) ในขณะที่โคลนมีอัตราการลงเกาะต่ำที่สุด ($2.63 \pm 0.24\%$) และมีระยะเวลาการลงเกาะช้าที่สุด (30.75 ± 0.96 วัน)

อย่างไรก็ตามอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนวัสดุทั้ง 4 ชนิด ในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าการทดลองของ Mercier et al. (2000) ที่ทำการศึกษาลงเกาะของปลิงขาว (*Holothuria scabra*) บนวัสดุทราย เศษปะการัง และทรายผสมเศษปะการังซึ่งพบว่าอัตราการลงเกาะเฉลี่ยน้อยกว่า 1.5% ในขณะที่ตัวอ่อนของปลิงทะเล *Cucumaria frondosa* ชอบลงเกาะบนกรวดและหิน (Hamel & Mercier, 1996) เศษปะการังมีพื้นที่ผิวมากในการเกิด biofilm ที่เป็นอาหารสำหรับตัวอ่อนระยะ pentactula ในช่วงระยะลงเกาะใหม่ๆ จึงอาจดึงดูดการลงเกาะได้ดีกว่าโคลนที่มีพื้นที่ผิวน้อย โดยทั่วไปตัวอ่อนปลิงทะเลระยะ pentactula และระยะวัยรุ่นมักเกาะบนวัสดุพื้นผิวระนาบหรือสาหร่ายที่มี biofilm มากกว่าพื้นผิวที่อ่อนนุ่มหรือมีความซับซ้อน (Battaglione et al., 1999; Mercier et al., 2000; Toral-Granda et al., 2008) จากการศึกษาความจำเพาะของพื้นทะเลที่เป็นแหล่งอาศัยพบว่าปลิงดำ (*H. leucospilota*) มักพบอาศัยบริเวณพื้นทะเลที่เป็นหินมากกว่าทรายและตะกอนโคลน (Tanita & Yamada, 2019) การศึกษาขนาดอนุภาคตะกอนพบว่าอนุภาคขนาด 1 มิลลิเมตร (ทรายหยาบ) ทำให้ปลิง *Holothuria tubulosa* ระยะวัยรุ่น (ถัดจาก pentactula) มีการเจริญเติบโตดีที่สุด (Tolon et al., 2015) โคลนทะเลเล็กลายเป็นแหล่งอาหารสำหรับปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* ระยะหลังการลงเกาะ (Li et al., 2010) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าวัสดุแข็งที่มีขนาดอนุภาคที่ละเอียดลง อาจเหมาะสมกับปลิงทะเลที่มีอายุเพิ่มขึ้นซึ่งมีการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการกิน

Table 1 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on four substrates of hard materials.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
Sea sand	6.57±0.25 ^c	30.25±1.26 ^a
Coral rubble	11.31±0.36 ^a	27.00±0.82 ^b
Clay	2.63±0.24 ^d	30.75±0.96 ^a
Mixed materials	9.37±0.60 ^b	28.50±1.29 ^{ab}

Note: The means with different superscripts in same column are significant different (P<0.01).

การศึกษาการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล

การลงเกาะของตัวอ่อน pentactula บนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงองุ่น และสาหร่ายเห็ดหูหนู มีจำนวนเฉลี่ย 5,250.00±428.57, 1,250.00±269.64, 2,928.57±376.27, 3,642.86±467.03 และ 1,571.43±123.72 ตัว ตามลำดับ ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 2 ซึ่งพบว่าชนิดของสาหร่ายทะเลที่แตกต่างกันมีผลต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงทะเล (P<0.01) โดยตัวอ่อนระยะ pentactula มีอัตราการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลสูงที่สุด (17.50±1.43%) และมีระยะเวลาการลงเกาะสั้นที่สุด (23.33±0.58 วัน) สอดคล้องกับ Yamana et al. (2006) ที่พบว่าตัวอ่อนของปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* พบหนาแน่นสูงในเขตน้ำขึ้นน้ำลงที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Ulva* spp. และ *Sargassum* spp. ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ thallus ของสาหร่ายทะเลมีลักษณะเป็นแผ่นแบนกว้างมีพื้นที่ผิวมาก (Hofmann et al., 2010) เหมาะสมต่อการเกิด biofilm ที่เป็นส่วนหนึ่งของสิ่งมีชีวิตอิงอาศัย (epiphyte) ของสาหร่ายและหญ้าทะเล เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา อาร์เคีย ไดอะตอม ไวรัส และโปรโตซัว (Singh & Reddy, 2014; Zhang et al., 2020) นอกจากนี้แล้ว ยังได้รับอิทธิพลจากการหลั่งสารและการสะสมแร่ธาตุบนพื้นผิวของสาหร่าย (Selvarajan et al., 2019)

Table 2 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on substrates from five seaweed species.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
<i>Ulva rigida</i>	17.50±1.43 ^a	23.33±0.58 ^b
<i>Caulerpa taxifolia</i>	4.17±0.90 ^c	24.67±1.53 ^{ab}
<i>Halimeda</i> sp.	9.76±1.25 ^b	27.33±1.53 ^a
<i>Caulerpa lentillifera</i>	12.14±1.56 ^b	26.00±1.00 ^{ab}
<i>Padina</i> sp.	5.24±0.41 ^c	24.00±1.00 ^b

Note: The means with different superscripts in same column are significant different (P<0.01).

สิ่งมีชีวิตอิงอาศัยที่เป็น biofilm เหล่านี้จะกลายเป็นอาหารสำหรับตัวอ่อน pentactula เมื่อลงเกาะ ซึ่งหากมีปริมาณมากก็สามารถดึงดูดให้มีอัตราการลงเกาะสูง โครงสร้าง thallus ของสาหร่ายทะเลส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอิงอาศัยอย่างซับซ้อนคล้ายกับหญ้าทะเล การศึกษาการลงเกาะของปลิงทะเล *Holothuria scabra* บนหญ้าทะเล *Thalassia hemprichii* ทั้งที่มีและไม่มี biofilm พบว่ามีอัตราการลงเกาะสูง 4.8-10.5% (Mercier et al., 2000) ซึ่งต่ำกว่าการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลและสาหร่ายพวงองุ่น แต่เป็นค่าที่ใกล้เคียงกับการลงเกาะของปลิงดำบนสาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด และสาหร่ายเห็ดหูหนู อย่างไรก็ตามปลิงทะเลมีความเกี่ยวข้องกับแหล่งหญ้าทะเลในรูปแบบที่ซับซ้อน (Floren et al., 2021a) การศึกษาในแหล่งหญ้าทะเลฝั่งทะเลอันดามันของประเทศไทยพบว่าหญ้าทะเล *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* และ *Halophila ovalis* เป็นแหล่งอาหารของปลิงทะเล *Holothuria scabra*, *Holothuria atra* และ *Holothuria leucospilota* สูงถึง 61-70% ของอาหารทั้งหมดที่กิน (Floren et al., 2021b)

การศึกษาการลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์

การลงเกาะของตัวอ่อน pentactula บนวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net มีจำนวนเฉลี่ย 15,900.00±1,311.49, 10,700.00±115.47, 8,550.00±525.99 และ 12,400.00±365.15 ตัว ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 3 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าชนิดของวัสดุสังเคราะห์มีผลต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำ ($P<0.01$) โดยอัตราการลงเกาะของ pentactula บน plastic sheet มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด (53.00±4.37%) และมีระยะเวลาการลงเกาะเร็วที่สุด (22.50±0.58 วัน) สอดคล้องกับการลงเกาะของปลิงทะเลชนิด *Apostichopus japonicus* ที่มีการลงเกาะบน plastic sheet แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ plastic film และ monofilament nylon (Li et al., 2010) วัสดุสังเคราะห์ที่เลือกใช้ผลิตมาจากพลาสติก เนื่องจากพบว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลชอบลงเกาะบนชิ้นส่วนพลาสติกมากกว่าไม้และคอนกรีต เพราะสูญเสียพลังงานในการเคลื่อนที่น้อย มีพัฒนาการที่ดี และทำให้ตัวอ่อนมีการกระจายตัวอย่างกว้างขวาง (Pinochet et al., 2020) การใช้วัสดุเทียมสามารถเหนี่ยวนำให้ตัวอ่อนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังลงเกาะก่อนที่จะเลือกพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตต่อไป (Rodriguez et al., 1993)

Table 3 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on four types of artificial substrates.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
Plastic sheet	53.00±4.37 ^a	22.50±0.58 ^b
Plastic film	35.67±0.39 ^c	22.75±0.50 ^b
Monofilament nylon	28.50±1.75 ^d	24.75±0.96 ^a
Shading net	41.33±1.22 ^b	23.00±0.82 ^b

Note: The means with different superscripts in same column are significant different ($P<0.01$).

ระยะลงเกาะเป็นช่วงเวลาวิกฤติในวัฏจักรชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในทะเลเป็นจำนวนมาก (Laing, 1995) ขั้นตอนนี้เป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของการเพาะเลี้ยง งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนปลิงทะเลระยะ pentactula และระยะวัยรุ่นมักเกาะบนวัสดุพื้นผิวระนาบหรือสาหร่ายที่มี biofilm มากกว่าพื้นผิวที่อ่อนนุ่มหรือมีความซับซ้อน โดยพบได้ทั้งการเลี้ยงในโรงเพาะและในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ (Battaglene et al., 1999; Mercier et al., 2000; Toral-Granda et al., 2008) สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าตัวอ่อนปลิงดำมีแนวโน้มลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์และสาหร่ายทะเลได้ดีกว่าบนวัสดุที่เป็นทราย โคลน เศษปะการัง และวัสดุผสม

เมื่อเปรียบเทียบการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำระหว่างวัสดุแข็งและวัสดุสังเคราะห์ พบว่าวัสดุสังเคราะห์ (อัตราการลงเกาะ 28.50-53.00% และระยะเวลาการลงเกาะ 22.50-24.75 วัน) มีแนวโน้มส่งเสริมการลงเกาะได้ดีกว่าการใช้วัสดุแข็ง (อัตราการลงเกาะ 6.57-11.31% และระยะเวลาการลงเกาะ 27.00-30.75 วัน) ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการดำรงชีวิตในแต่ละช่วงวัย โดยวัสดุสังเคราะห์อาจเหมาะสมกับการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำในช่วงแรก (ระยะลงเกาะ) ส่วนวัสดุที่เป็นวัสดุแข็งจำพวกทราย โคลน เศษปะการัง และวัสดุผสม อาจเหมาะสมกับการดำรงชีวิตในช่วงระยะหลังการลงเกาะ ซึ่งโดยทั่วไปปลิงทะเลจะละทิ้งพื้นผิวที่เคลือบด้วย biofilm หรือโคอะตอมภายในระยะเวลา 3 เดือน และปลิงทะเลวัยรุ่นจะเคลื่อนย้ายไปยังพื้นผิวที่เป็นตะกอนอ่อนนุ่มหรือพื้นผิวที่มีลักษณะผสม เพื่อปรับเปลี่ยนไปกินอาหารที่มีลักษณะเป็นอนุภาค (Yaqing et al., 2000; Purcell, 2004) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงอาหารเพื่อการเจริญเติบโต (Slater et al., 2010) และยังอาจเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมกรากเลี้ยงผู้ล่า (Mercier et al., 2000; Hamel et al., 2001; Dance et al., 2003) แหล่งอาศัยหลังระยะการลงเกาะจึงอาจเกี่ยวข้องกับโครงสร้างพื้นผิวที่มีความซับซ้อนมากขึ้น เช่น แหล่งสาหร่ายทะเล รากของพรรณไม้ป่าชายเลน ก้อนหิน และเศษซากปะการัง (Yamana et al., 2006) อย่างไรก็ตามระยะที่เริ่มมีการเปลี่ยนหรือเคลื่อนย้ายออกจากวัสดุเกาะจะแตกต่างกันในปลิงทะเลแต่ละชนิด และยังพบว่าการบังคับให้มีการเคลื่อนย้ายในช่วงแรกจะส่งผลกระทบต่อการรอดตายและการเจริญเติบโต (Purcell, 2004; Purcell & Simutoga, 2008)

การศึกษาการลงเกาะของวัสดุทั้ง 3 ประเภท ในครั้งนี้ คือ วัสดุแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ มีการเคลือบผิวของวัสดุให้มีลักษณะเป็น biofilm โดยมีเป้าหมายเพื่อให้มีอาหารสำหรับตัวอ่อนปลิงทะเลเมื่อลงเกาะบนวัสดุดังกล่าว เนื่องจาก biofilm ที่เคลือบผิวของวัสดุจะมีทั้งแบคทีเรียและโคอะตอม ซึ่งมีบทบาทสำคัญหรือเป็นสิ่งกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงทะเล (Zhao et al., 2003; Stott et al., 2004; Li et al., 2010) ตัวอ่อน *Apostichopus japonicas* มีการลงเกาะบน plastic sheet ที่มี biofilm สูงกว่าวัสดุที่ไม่มี biofilm (Li et al., 2010) และยังพบปลิงทะเลชนิด *Australostichopus mollis* ระยะวัยรุ่นอาศัยอยู่อย่างหนาแน่นบนเปลือกหอยที่มีแบคทีเรียและสาหร่าย (Slater et al., 2010)

ผลจากการศึกษาพบว่าตัวอ่อนปลิงดำสามารถลงเกาะได้ดีที่สุดบน plastic sheet เนื่องจากมีพื้นผิวที่กว้าง เรียบ และสม่ำเสมอ ทำให้ง่ายต่อการลงเกาะของตัวอ่อน ประกอบกับลักษณะดังกล่าวยังเอื้อต่อการเกิด biofilm ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการรอดตายของตัวอ่อนก่อนที่จะปรับเปลี่ยนพฤติกรรมไปกินอินทรีย์วัตถุที่ปะปนอยู่บริเวณพื้นทะเล (Purcell, 2004) ผลของอัตราการลงเกาะที่สูงและระยะเวลาการลงเกาะที่เร็วทำให้การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำโดยใช้ plastic sheet เป็นวัสดุเกาะเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้สามารถผลิตลูกพันธุ์ปลิงดำได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

สรุปผลการศึกษา

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงตำระยะ auricularia ถึงระยะ pentactula ด้วยวัสดุเกาะต่างกัน 3 ประเภท คือ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ พบว่าตัวอ่อนปลิงตำสามารถลงเกาะได้บนวัสดุทั้ง 3 ประเภท สำหรับประเภทของวัสดุชนิดแข็ง ตัวอ่อนปลิงตำลงเกาะบนเศษปะการังได้ดีกว่าทรายทะเลโคลน และวัสดุผสม ส่วนการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงอุ้น และสาหร่ายเห็ดหูหนู ตัวอ่อนปลิงตำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลได้ดีที่สุดในส่วนของการศึกษาด้วยวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, shading net และ monofilament nylon พบอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงตำบน plastic sheet ดีที่สุด การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงตำในวัสดุเกาะที่ต่างกันในครั้งนี้พบว่าตัวอ่อนปลิงตำลงเกาะได้ดีที่สุดบนวัสดุสังเคราะห์กลุ่ม plastic sheet

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Razek, F. A., Abdel-Rahman, S. H., El-Shimy, N. A., & Omar, H. A. (2005). Reproductive biology of the tropical sea cucumber *Holothuria atra* (Echinodermata: Holothuroidea) in the Red Sea coast of Egypt. **Egyptian Journal of Aquatic Research**. 31(2), 383-402.
- Agudo, N. S. (2006). **Sandfish Hatchery Techniques**. New Caledonia: The Australian Centre for International Agricultural Research, Secretariat of the Pacific Community and World Fish Center.
- Battaglione, S. C., Seymour, J. E., & Ramofafia, C. (1999). Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers, *Holothuria scabra*. **Aquaculture**. 178, 293-322.
- Chaichotranunt, S., Liammai, S. & Promrach, W. (2021). Study on nursing of sandfish *Holothuria scabra* Jaeger, 1833 from doliolaria stage to juvenile stage with different diets. **Technical Paper No. 1/2021**. Bangkok: Department of Fisheries.
- Dance, S. K., Lane, I., & Bell, J. D. (2003). Variation in short-term survival of cultured sandfish (*Holothuria scabra*) released in mangrove-seagrass and coral reef flat habitats in Solomon Islands. **Aquaculture**. 220, 495-505.
- Devakie, M. N., & Ali, A. B. (2002). Effective use of plastic sheet as substrate in enhancing tropical oyster (*Crassostrea iredalei* Faustino) larvae settlement in the hatchery. **Aquaculture**. 212, 277-287.
- Floren, A. S., Hayashizaki, K., Puchakarn, S., Tuntiprapas, P., & Prathep, A. (2021a). A review of factors influencing the seagrass-sea cucumber association in tropical seagrass meadows. **Frontiers in Marine Science**. 8. Doi:10.3389/fmars.2021.696134.
- Floren, A. S., Hayashizaki, K., Tuntiprapas, P., & Prathep, A. (2021b). Contributions of seagrasses and other sources to sea cucumber diets in a tropical seagrass ecosystem. **Chiang Mai Journal of Science**. 48, 1259-1270.
- Hamel, J. F., & Mercier, A. (1996). Early development, settlement, growth, and spatial distribution of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 53(2), 253-271.
- Hamel, J. F., Conand, C., Pawson, D. L., & Mercier, A. (2001). The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): its biology and exploitation as beche-de-mer. **Advances in Marine Biology**. 41, 129-223.
- Hofmann, L. C., Nettleton, J. C., Neefus, C. D., & Mathieson, A. C. (2010). Cryptic diversity of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in the Great Bay Estuarine System (Atlantic USA): introduced and indigenous distromatic species. **European Journal of Phycology**. 45(3), 230-239.

- Hung, N. Q. (2008). Sea cucumber fisheries, utilization, and trade in Vietnam. In **Report of the Regional Study on Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Southeast Asia 2007-2008**. (pp. 113-126). Thailand: Southeast Asian Development Center.
- Ito, S., & Kitamura, H. (1997). Induction of larval metamorphosis in the sea cucumber *Stichopus japonicus* by periphytic diatoms. **Hydrobiologica**. 358, 281–284.
- Ivy, G., & Giraspy, D. A. B. (2006). Development of large-scale hatchery production techniques for the commercially important sea cucumber *Holothuria scabra* var. *versicolor* (Conand, 1986) in Queensland, Australia. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**. 24, 28-33.
- Kang, K. H., Kim, B. H., & Kim, J. M. (2004). Induction of larval settlement and metamorphosis of the abalone, *Haliotis discus hannai* larvae using bromomethane and potassium chloride. **Aquaculture**. 230, 249–259.
- Kariya, Y., Mulloy, B., Imai, K., Tominaga, A., Kaneko, T., Asari, A., Suzuki, K., Masuda, H., Kyogashima, M. & Ishii, T. (2004). Isolation and partial characterization of fucan sulfates from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus* and their ability to inhibit osteoclastogenesis. **Carbohydrate Research**. 339, 1339-1346.
- Kariya, Y., Watabe, S., Hashimoto, K., & Yoshida, K. (1990). Occurrence of chondroitin sulfate E in glycosaminoglycan isolated from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. **The Journal of Biology Chemistry**. 265(9), 5081–5085.
- Kawamura, T., & Kikuchi, S. (1992). Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae. **Suisanzoshoku**. 40, 403–409.
- Kinch, J., Purcell, S., Uthicke, S., & Friedman, K. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in the Western Central Pacific. In **Sea Cucumbers: A Global Review of Fisheries and Trade**, V. Toral-Granda, A. Lovatelli, & M. Vasconcellos (eds.). FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 516. Italy: FAO.
- Laing, I. (1995). Effect of food supply on oyster spatfall. **Aquaculture**. 131, 315–324.
- Laxminarayana, A. (2005). Induced spawning and larval rearing of the sea cucumbers, *Bohadschia marmorata* and *Holothuria atra* in Mauritius. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**. 22, 48-52.
- Li, L., Li, Q., & Kong, L. (2010). The effect of different substrates on larvae settlement in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka. **Journal of the World Aquaculture Society**. 41(1), 123-130. doi:10.1111/j.1749-7345.2009.00341.x.
- Mercier, A, Battaglene, S.C., & Hamel, J.F. (2000). Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 249(1), 89–110.
- Mladenov, P. V. (1985). Development and metamorphosis of the brittle star, *Ophiocoma pumila*: evolutionary and ecological implications. **The Biological Bulletin**. 168, 285–295.
- Munprasit, R. (2008). Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Thailand. In **Report of the Regional Study on Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Southeast Asia 2007-2008**. (pp. 95-112). Thailand: The Secretariat Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Panagos, C. G., Thomson, D.S., Moss, C., Hughes, A.D., Kelly, M.S., Liu, Y., Chai, W., Venkatasamy, R., Spina, D., Page, C.P., Hogwood, J., Woods, R.J., Mulloy, B., Bavington, C.D., & Uhrin, D. (2014). Fucosylated chondroitin sulfates from the body wall of the sea cucumber *Holothuria forskali*. **The Journal of Biology Chemistry**. 289(41), 28284–28298.
- Pearce, C. M., & Scheibling, R. E. (1990). Induction of settlement and metamorphosis in the sand dollar *Echinarachnius parma*: evidence for an adult-associated factor. **Marine Biology**. 107, 363–369.

- Pinochet, J., Urbina, M. A., & Lagosa, M. E. (2020). Marine invertebrate larvae love plastics: Habitat selection and settlement on artificial substrates. *Environmental Pollution*. 257. doi:10.1016/j.envpol.2019.113571.
- Purcell, S. W. (2004). Rapid growth and bioturbation activity of the sea cucumber *Holothuria scabra* in earthen ponds. In *Proceedings of Australasian Aquaculture 2004*. (p. 244). Solomon Islands: ICLARM Coastal Aquaculture Centre.
- Purcell, S. W., & Simutoga, M. (2008). Spatio-temporal and size-dependent variation in the success of releasing cultured sea cucumbers in the wild. *Reviews in Fisheries Science*. 16(1-3), 204–214.
- Putchakarn, S., Mucharin, A., Komkham, P., & Pangsuk, B. (2017). *Checklist of Echinoderms in Thailand*. ONEP Biodiversity Series Vol. 23. Thailand: Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning.
- Rahim, S. A. K. A., Li, J. Y., & Kitamura, H. (2004). Larval metamorphosis of the sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocidaris crassispina* in response to microbial films. *Marine Biology*. 144, 71–78. doi:10.1007/s00227-003-1171-z
- Rodríguez, S. R., Ojeda, F. P., & Inestrosa, N. C. (1993). Settlement of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*. 97(2), 193-207.
- Selvarajan, R., Sibanda, T., Venkatachalam, S., Ogola, H. J. O., Obieze, C. C., & Msagati, T. A. (2019). Distribution, interaction and functional profiles of epiphytic bacterial communities from the rocky intertidal seaweeds, South Africa. *Scientific Reports*. 9(19835). doi:10.1038/s41598-019-56269-2.
- Singh, R. P., & Reddy, C. R. K. (2014). Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*. 88(2), 213–230.
- Slater, J., Cartonb, A. G., & Jeffs, A. G. (2010). Highly localized distribution patterns of juvenile sea cucumber *Australostichopus mollis*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 44(4), 201-216.
- Smiley, S., Mceuen, F., Chaffee, S. & Krishen. S. (1991). Echinodermata: Holothuroidea. In *Reproduction of Marine Invertebrates Echinoderms and Lophophorats*. (pp. 613-750). USA: Boxwood Press.
- Stott, A. E., Takeuchi, T., & Koike, Y. (2004). Testing various substances that have been bound to plastic plates with agar to induce larval settlement and metamorphosis of abalone *Haliotis discus discus* (Reeve). *Aquaculture*. 231, 547–557.
- Su, Z. X., Huang, L. M., Yan, Y., & Li, H. (2007). The effect of different substrates on pearl oyster *Pinctada martensii* (Dunker) larvae settlement. *Aquaculture*. 271(1-4), 377–383.
- Sukamolson, S. (2017). Priori and Posteriori Comparisons for a Research Study. *Academic Journal of Buriram Rajabhat University*. 9(2), 51-70.
- Tanita, I. & Yamada, H. (2019). Distribution of sea cucumbers in relation to sediment characteristics in coral reef lagoons and adjacent waters around Ishigaki Island, southern Japan. *Marine Ecology*. 40(5). Doi:10.1111/maec.12564.
- Tolon, T., Emiroğlu, D., Günay, D., & Saygı, H. (2015). Effect of sediment grain size on growth performance of juvenile sea cucumber (*Holothuria tubulosa*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 15, 55-59. doi:10.4194/1303-2712-v15_2_43.
- Toral-Granda, V., Lovatelli, A. & Vasconcellos, M. (2008). *Sea Cucumbers: A Global Review of Fisheries and Trade*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 516. Italy: FAO.
- Yamana, Y., Hamano, T., & Miki, K. (2006). Distribution of the Japanese sea cucumber *Apostichopus japonicus* in the intertidal zone of Hirao Bay, eastern Yamaguchi Prefecture, Japan—Suitable environmental factors for juvenile habitats. *Journal of National Fisheries University*. 54, 111–120.

- Yaqing, C., Changqing, Y., & Xin, S. (2000). Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) pond polyculture in Dalian, Liaoning Province, China. In **Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management (ASCAM) Conference**. (pp. 269-272). China: Dalian.
- Yu, X. J., He, W. H., Gu, J. D., He, M. X. & Yan, Y. (2008). The effect of chemical cues on settlement of pearl oyster *Pinctada fucata martensii* (Dunker) larvae. **Aquaculture**. 277, 83–91.
- Zhang, Q., Kühl, M., & Brodersen, K. E. (2020). Effects of epiphytic biofilm activity on the photosynthetic activity, pH and inorganic carbon microenvironment of seagrass leaves (*Zostera marina* L.). **Frontiers in Marine Science**. 9. doi:10.3389/fmars.2022.835381.
- Zhao, B., Zhang, S., & Qian, P. Y. (2003). Larval settlement of the silver- or goldlip pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson) in response to natural biofilms and chemical cues. **Aquaculture**. 220, 883–901.

วันรับบทความ (Received date) : 20 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 9 ก.ย. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 4 ต.ค. 65

ผลของการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง (ประดู่หางดำ) ต่อ
สมรรถภาพการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน
สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีน

Effects of Coffee Silverskin Supplementation in Thai Native Crossbred
Chicken (Pradu-Hangdum) Diets on Growth Performance, Antioxidant Status
in Breast Meat, Microbial Population in Cecum, Intestinal Morphology, and
Gene Expression

มงคล ยะไชย^{1,3}, อรณี ศรีนวล², พิมพ์ คำทวี², มนตรี ปัญญาทอง^{2,3}, ชมพูนุช หล้าแสงกุล^{2,3}, นเรศ ปินตาเลิศ⁴
และ วรณพร ทะพิงค์แก^{2,3*}

Mongkol Yachai^{1,3}, Orranee Srinual², Pimporn Khamtavee², Montri Punyatong^{2,3},
Chompunut Lumsangkul^{2,3}, Naret Pintalerd⁴ and Wanaporn Tapingkae^{2,3*}

บทคัดย่อ

ในกระบวนการการแปรรูปกาแฟเกิดผลพลอยได้จำนวนมาก โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee silver skin; CSS) ถือเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟที่มีปริมาณมากและมีคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่สูง การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง (ประดู่หางดำ) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในไส้ตัน สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนทั้งหมดในตับและลำไส้เล็ก ทดลองโดยใช้ไก่พื้นเมืองเพศผู้ จำนวน 600 ตัว อายุ 1 สัปดาห์ สุ่มให้อาหาร 6 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริม CSS ที่ระดับ 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะในระดับกระตุ้นการเจริญเติบโต (AGPs) โดยแบ่งแต่ละกลุ่มการทดลองออกเป็น 10 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) ไก่จะได้รับอาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการดำเนินงานพบว่า การเสริม CSS ที่ระดับ 2.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร สามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก และปรับปรุงสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้สามารถช่วยลดต้นทุนค่าอาหาร 4.09 บาท/กิโลกรัมน้ำหนักตัวเพิ่ม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) และลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* ในไส้ตันของไก่พื้นเมืองได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) มากไปกว่านั้น ยังเพิ่มการแสดงออกของยีนต้านอนุมูลอิสระ และยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในตับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะ ($P < 0.05$) โดยสรุปจาก

¹ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

² ภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³ ศูนย์วิจัยนวัตกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

⁴ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมที่สูง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹ Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai Province, 50290

² Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

³ Innovative Agriculture Research Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

⁴ Highland Research and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

* Corresponding author: wanaporn.t@cmu.ac.th; orranee_sr@cmu.ac.th

ผลการวิจัยพบว่า การเสริม CSS ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตของไก่พื้นเมือง และสามารถใช้ทดแทน AGPs ในสูตรอาหารของไก่พื้นเมือง

คำสำคัญ: เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ไก่ลูกผสมพื้นเมือง ประดู่หางดำ สารเสริมในอาหารสัตว์

Abstract

Coffee processing results in a large number of by-products. The coffee silver skin (CSS) accumulates in large amounts as a by-product of the roasting process. It has higher nutritional and functional properties. The objective of this study was to investigate the efficacy of CSS supplementation in crossbred Thai indigenous chicken (Pradu-Hang dam) diet on growth performance, antioxidant status in breast meat, microbial population in the cecum, intestinal morphology, and gene expression. Six hundred one-week-old male broilers were randomly allocated to 6 experimental groups with 10 replicates (10 chick/rep.): the control group, the CSS groups with 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 g/kg feed and the antibiotic growth promoters (AGPs) group. The broilers in each group were fed a diet for 12 weeks. The result showed that the supplementation of CSS at 2.0 g/kg significantly increased growth performance, the content of antioxidants in breast meat and improved intestinal morphology, when compared to the control group ($P < 0.05$). Moreover, the cost of feed was significantly reduced ($P < 0.01$) to 4.09 Baht/body weight gain. In addition, there was a decrease in *Salmonella* sp. and *E. coli* populations in the cecum of Thai native chicken, when compared to the control group ($P < 0.05$). Furthermore, the inclusion of CSS increased the antioxidant genes and growth promoter gene in the liver compared to the AGPs group ($P < 0.05$). In conclusion, the results indicated that the CSS supplementation had a beneficial effect on the productivity performance of Thai native chickens and can be used as a substitute for AGPs in Thai native chicken diets.

Keywords: coffee silverskin, native crossbred chicken, Pradu-Hangdam, feed additive

คำนำ

ความต้านทานโรค การปรับตัวต่อสภาพภูมิอากาศ รวมถึงคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อ ถือเป็นลักษณะเด่นของไก่พื้นเมือง (Thai native chicken) ซึ่งจุดเด่นของเนื้อไก่พื้นเมือง คือ เนื้อมีความแน่นและมีระดับโปรตีนสูง อีกทั้งมีระดับไขมัน คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และกรดไขมันชนิดอิ่มตัวต่ำ (Jaturasitha, Srikanchai, Kreuzer, & Wicke, 2008) การเลี้ยงไก่พื้นเมือง ถือเป็นอาชีพทางเลือกหนึ่งในชุมชนเกษตรกรรม แต่สิ่งที่เป็นปัญหา คือ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าไก่สายพันธุ์การค้า จึงจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานกว่า ส่งผลให้จำนวนไก่พื้นเมืองในปัจจุบัน ไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค และมีราคาสูงกว่าไก่สายพันธุ์การค้า 2 ถึง 3 เท่า (Laopaiboon et al., 2010) นอกจากสายพันธุ์ที่เป็นปัจจัยสำคัญ การจัดการด้านอาหารก็ถือเป็นส่วนหนึ่ง ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต หากมีการปรับปรุงให้ดีขึ้นพร้อมกับจำนวนการผลิตที่เพิ่มขึ้น ผลที่ตามมาคือ การเพิ่มขึ้นของรายได้ของเกษตรกร โอกาส และอาชีพ

ทางเลือกสำหรับชุมชนที่ต้องการพึ่งพาตนเอง อีกทั้งยังสร้างความมั่นคงด้านอาหารสำหรับประเทศไทยและเสริมสร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชนในอนาคต

ปี พ.ศ. 2558 – 2564 ประเทศไทยมีความต้องการใช้เมล็ดกาแฟในประเทศเฉลี่ย 81,417 ตันต่อปี โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2564 ไทยส่งออกกาแฟ 24,572 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,419 ล้านบาท โดยตลาดส่งออกหลัก ได้แก่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เมียนมา กัมพูชา ฟิลิปปินส์ และจีน (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, 2564) ในภาคเหนือของประเทศไทย ถือเป็นแหล่งปลูกและแปรรูปกาแฟที่มากที่สุดในประเทศ โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และน่าน โดยในปี พ.ศ. 2564 จังหวัดเชียงรายเพียงจังหวัดเดียวสามารถผลิตกาแฟได้สูงถึง 1,907 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2564) ในกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ เกิดผลพลอยได้ที่น่าสนใจ คือ “เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (coffee silverskin)” ซึ่งถือเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกาแฟ ที่รอการส่งเสริมและพัฒนาทางด้านชีวมวลในอนาคต (Narita & Inouye, 2014) โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเต็มไปด้วยเยื่อใย โปรตีน และเถ้า อีกทั้งยังมีปริมาณไขมันต่ำ (Pourfarzad et al., 2013) นักวิทยาศาสตร์จึงพยายามศึกษาถึงคุณลักษณะการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และพรีไบโอติก (prebiotic) (Borrelli et al., 2004) เนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีองค์ประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic composition) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชัน (antioxidation) และการกลายพันธุ์ (antimutagen) ซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบนวัตกรรมวัตถุดิบอาหารที่ให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ (innovative functional food ingredient) ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการศึกษาการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในเนื้ออก ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน สันฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนในไก่ลูกผสมพื้นเมือง โดยพิจารณาปัจจัยอาหารวัตถุดิบท้องถิ่นเป็นสำคัญ เพื่อเพิ่มความสามารถในการพัฒนาสายพันธุ์ ส่งผลต่อความต้องการของตลาดอย่างยั่งยืน

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ไก่ลูกผสมพื้นเมืองประดู่หางดำ เพศผู้ จากภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 600 ตัว อายุ 1 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยสุ่มให้ไก่ได้รับอาหารทดลอง 6 กลุ่ม กลุ่มละ 10 คอก คอกละ 10 ตัว ซึ่งอาหารสัตว์ทดลองกำหนดให้มีคุณค่าทางโภชนาตามความต้องการของไก่เนื้อ (NRC, 1994) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 กลุ่มอาหารพื้นฐาน (CON)

กลุ่มทดลองที่ 2 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS0.5)

กลุ่มทดลองที่ 3 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS1.0)

กลุ่มทดลองที่ 4 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS2.0)

กลุ่มทดลองที่ 5 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 4.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS4.0)

กลุ่มทดลองที่ 6 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมยาปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (AGPs)

ไก่ทดลองได้รับน้ำและอาหารแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ดำเนินการบันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่กินทุกวัน (Average Daily Feed Intake, ADFI) และบันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ เพื่อประเมินสมรรถภาพการเจริญเติบโต จากการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average Daily Gain, ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed Conversion Ratio, FCR) และต้นทุนค่าอาหาร (Feed Cost per Gain, FCG) รวมทั้งบันทึกสุขภาพโดยรวมและอัตราการตายของไก่ในช่วงทดลอง โดยการทดลองนี้ทำการทดลองเลี้ยงสัตว์ภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงสัตว์ทดลองและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MACUC008A/2564)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ (Carcass characteristics and meat quality)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการถอดอาหารไก่ 12 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มไก่จำนวนคอกละ 1 ตัว หรือ 10 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง เพื่อดำเนินการการุณยฆาต และชำแหละซาก ตามวิธี Jaturasitha et al. (2008) เพื่อชั่งน้ำหนัก และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ซาก (Dressing percentage) และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอวัยวะภายใน (Internal organ percentage)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก (Dressing percentage)} = \frac{\text{น้ำหนักซาก} \times 100}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอวัยวะภายใน (Internal organ percentage)} = \frac{\text{น้ำหนักของอวัยวะภายใน} \times 100}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

จากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอกของไก่ เพื่อวิเคราะห์คุณภาพเนื้อทางห้องปฏิบัติการ โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกล้ามเนื้อหน้าอก ด้วย pH meter และวัดค่าสีเนื้อไก่ได้แก่ ความสว่าง (lightness: L*) สีแดง (redness: a*) และสีเหลือง (yellowness: b*) รวมถึงค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มที่อาศัยอยู่ในไส้ตัน (Microbial counts in cecum)

ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน เพื่อนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria (LAB) และเชื้อก่อโรค ได้แก่ เชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* โดยตัวอย่างของเหลวในไส้ตันจะถูกเจือจางใน 0.85% sterile saline จากนั้นทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำเพาะ (selective agar media) ตามวิธีของ Giannenas et al. (2010)

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก (Intestinal morphology)

ทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็ก 3 ส่วน ได้แก่ เล็กส่วนต้น (duodenum) ส่วนกลาง (jejunum) และส่วนปลาย (ileum) ตามวิธีของ Srinual et al. (2020) นำตัวอย่างเข้าเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Automatic tissue processor) ทำการฝังเนื้อเยื่อด้วยเครื่องเตรียมบล็อกชิ้นเนื้อ (Tissue embedding) และนำมาตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Microtome) แล้วทำการย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลิน (Hematoxylin) และอีโอซิน (Eosin) จากนั้นบันทึกภาพสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 10 เท่า ร่วมกับกล้องดิจิทัล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ได้แก่ ความสูงของวิลโล (villus height, VH) ความกว้างของวิลโล (villus width, VW) ความลึกของเซลล์คริปท์ (crypt depth, CD) ความหนาของชั้นกล้ามเนื้อ (muscularis mucosae thickness) ด้วยโปรแกรม Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co, Fujian, China)

โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ดังนี้ การวัดความสูงของวิลโล โดยวัดจากปลายของวิลโลถึงฐานของวิลโล แต่ไม่รวมส่วนของเซลล์คริปท์ สำหรับความกว้างของวิลโล วัดจาก 1 ส่วนใน 3 ส่วน จำนวน 10 วิลโลต่อตัวอย่าง (1 ตัวอย่างเท่ากับ 1 ซ้ำต่อกลุ่มการทดลอง) ส่วนการวัดความลึกของเซลล์คริปท์วัดจากเยื่อรองรับฐาน (Basement membrane) ถึงส่วนปลายของเซลล์คริปท์ (Crypt mouth) จากนั้นคำนวณอัตราส่วนระหว่างความสูงของวิลโลต่อความลึกของเซลล์คริปท์ (villus height per crypt depth ratio, VH:CD) สำหรับชั้นกล้ามเนื้อ muscularis mucosae มีลักษณะบาง ๆ อยู่ถัดจากชั้น lamina propria เป็นกล้ามเนื้อเรียบที่เห็นได้ชัดเจน วัดจากส่วนบนฐานเซลล์คริปท์ถึงส่วนล่างของกล้ามเนื้อ ดังแสดงใน Figure 1

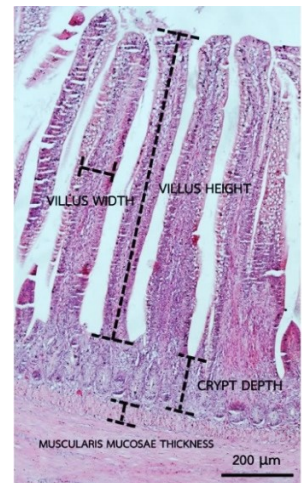


Figure 1 Histological examination of small intestinal section. Magnification was 10 × objective lens. Scale bars represent 200 μm.

การศึกษาการแสดงออกของยีนทั้งหมดในตับ (Gene expression)

สกัด total RNA จากตับด้วยชุดสกัด PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen) ตามวิธีการของผู้ผลิต จากนั้นละลายตะกอน RNA ด้วย RNase-free water นำไปตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ RNA แล้วนำ RNA ที่มีค่าของปริมาณและคุณภาพที่ยอมรับได้ (อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตรต่อค่า

การดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร จะต้องมีค่าอยู่ในช่วง 1.8-2.0) มาสังเคราะห์ cDNA ด้วยเทคนิค Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยควบคุมสภาวะของปฏิกิริยาตามวิธีการ PCR โดยชุดสังเคราะห์ iScript™ cDNA Synthesis Kit (BIO-RAD, USA)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเป้าหมาย จากกลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการต้านอนุมูลอิสระ มาศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR และใช้ยีนที่มีการแสดงออกอย่างสม่ำเสมอในทุกเซลล์ (housekeeping gene) Beta-actin (β -actin) เป็นยีนอ้างอิง โดยใช้ปฏิกิริยา PCR ตามชุดวิธีการ SensiFAST™ SYBR® No-ROX (Bioline, London, UK) วิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนด้วยวิธี $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001) โดยคำนวณสัดส่วนระดับการแสดงออกของยีนจากสมการ ดังนี้

$$\Delta\Delta CT = (CT, \text{target} - CT, \text{control}) \text{ time X} - (CT, \text{target} - CT, \text{control}) \text{ time 0}$$

$$\text{สัดส่วนการแสดงออกของยีน} = 2^{-\Delta\Delta CT}$$

เมื่อ CT, target = ค่า CT ของยีนเป้าหมาย; CT, control = ค่า CT ของยีนอ้างอิง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Table 1) พบว่า ไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีน้ำหนักตัวสุดท้าย (final weight) และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (weight gain) สูงที่สุด และมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อศึกษาต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตเนื้อ พบว่า กลุ่มที่เสริม CSS ในสูตรอาหารมีต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสามารถลดต้นทุนได้สูงที่สุดถึงประมาณ 10 บาทต่อกิโลกรัม กิโลกรัม น้ำหนักตัวเพิ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srijan et al. (2014) พบว่าการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่เนื้อ ส่งผลทำให้ไก่เนื้อมีประสิทธิภาพการผลิตดีขึ้น และสามารถลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ 4.09 บาท เมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐาน และจากหลากหลายการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่ที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบหลักใน CSS ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Jang et al., 2004; Lee et al., 2003; Starčević et al., 2015; Windisch et al., 2008) สอดคล้องกับการเสริมสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบอื่นในอาหารไก่เนื้อ เช่น การเสริมน้ำมันกานพลู (Clove essential oil) ส่งผลให้การเจริญเติบโตของไก่เนื้อให้ดีขึ้น (Valenzuela-Grijalva et al., 2017) และการเสริมน้ำมันลาเวนเดอร์ (Lavender essential oil) พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักสุดท้ายและลดอัตราการตายของไก่ได้ (Pashtetsky et al., 2019) นอกจากสารประกอบฟีนอลิก CSS เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายว่าเป็นแหล่งเยื่อใยชนิดไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fibers) และละลายน้ำ (Soluble dietary fibers) อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Prebiotic) (Van Doan et al., 2021) โดยทั้งนี้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ รายงานว่าแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น

คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำรองโปรตีนลดกระบวนการสลายโปรตีน (Protein catabolism) หรือการ ไฮโดรไลซิส โปรตีน ไปเป็นกรดอะมิโน เพื่อสร้างพลังงาน ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ (Van Doan et al., 2021) แต่ทั้งนี้เป็นที่น่าสนใจคือการเสริม CSS ที่ระดับ 4.0 กรัม ต่อ กิโลกรัมอาหาร ใกล้เคียงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่า 2.0 กรัมต่อ กิโลกรัมอาหาร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากผลกระทบเชิงลบของการเสริม CSS ที่ระดับสูง โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าการเสริมพรีไบโอติกที่ระดับสูงอาจส่งผลเสียต่อระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งลำไส้ (Olsen et al., 2001) โดยการเสริมที่ระดับสูงอาจทำลายเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ได้ ส่งผลทำให้สุขภาพและการเจริญเติบโตของไก่ลดลงได้ โดยสามารถยืนยันได้จากผลการศึกษาศูนย์ฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

Table 1 Effect of coffee silver skin supplement on growth performance of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Initial weight (g)	51.74	51.24	52.35	52.49	52.78	51.65	0.19	0.177
Final weight (g)	1147.62 ^c	1188.71 ^{bc}	1234.35 ^{ab}	1282.63 ^a	1260.16 ^{ab}	1188.76 ^{bc}	12.26	0.009
Weight gain (g)	1095.88 ^{bc}	1137.48 ^{bc}	1181.99 ^{ab}	1230.14 ^a	1207.38 ^{ab}	1137.12 ^c	12.25	0.010
ADG (g/d)	14.23 ^c	14.77 ^{bc}	15.35 ^{ab}	15.97 ^a	15.68 ^{ab}	14.76 ^{bc}	0.16	0.010
ADFI (g/d)	65.73	64.11	61.99	62.58	64.31	64.42	0.45	0.167
FCR	4.65 ^c	4.39 ^{bc}	4.05 ^{ab}	3.92 ^a	4.13 ^{ab}	4.37 ^{bc}	0.06	0.004
FCG (Baht/kg)	62.80 ^a	59.28 ^{ab}	54.63 ^b	52.94 ^b	55.76 ^{ab}	59.12 ^{ab}	0.83	0.004

¹ CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$). SEM; standard error of mean, ADG; Average daily body weight gain, ADFI; Average daily feed intake, FCR; Feed conversion ratio, FCG; Feed cost per gain.

ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

ไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีเปอร์เซ็นต์ซากสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) แต่ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติต่อน้ำหนักซาก และค่าเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ ม้าม หัวใจ กระเพาะพัก กระเพาะแท้ ลำไส้เล็ก และไต ดัง Table 2

สำหรับการศึกษาคูณภาพเนื้อ (Table 3) พบว่า ไก่ทดลองกลุ่ม CSS1.0 มีค่าสีแดงในเนื้อสูงที่สุดแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริม AGP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Martuscelli, et al. (2021) พบว่าการเสริม CSS ที่ระดับ 1.5% และ 3% สามารถเพิ่มค่าสีแดงและสีเหลืองในเนื้ออกไก่หลังการนำมาประกอบอาหาร ในหลากหลายการศึกษาพบว่า การเสริมสารประกอบฟีนอลิกในอาหารไก่ ส่งผลต่อค่าสีของเนื้อไก่ โดย Pashtetsky et al. (2019) รายงานผลของการเสริมสารสกัดกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acids) จากใบไต้หวัน (*Eucommia ulmoides*) ซึ่งเป็น

สารประกอบฟีนอลิกชนิดเดียวกับเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ พบว่า สามารถช่วยเพิ่มสีแดงของเนื้ออกไก่และลดความสว่างลง อีกทั้งช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักจากการแช่เย็นและการต้มสุก และการศึกษาของ Young & Choi (2003) เสริมสารสกัดจากออริกาโน (Oregano) มีสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในรูปของคาร์วาครอล (Carvacrol) และไทมอล (Thymol) ในอาหารไก่เนื้อ พบว่าในเนื้อไก่ มีระดับสีแดงและสีเหลืองสูงขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออกไก่ พบว่าการเสริม CSS ส่งผลต่อการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออกไก่ลูกผสมพื้นเมือง ดังแสดงใน Figure 2 โดยพบว่าไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ หากเกิดการออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เหม็นหืน (rancidity) เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งรสชาติ กลิ่น รสสัมผัส และสี เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของโปรตีน ไปจนถึงการสูญเสียความสดและระยะเวลาการเก็บรักษา (Yang et al., 2016) ปัจจุบันฟาร์มสัตว์ปีก นิยมเสริมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) ลงในอาหารเพื่อแก้ไขปัญหา แต่มีความกังวลด้านความปลอดภัยที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดโรครื้อรังได้ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ที่ปลอดภัย ประหยัด สามารถป้องกันการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ และการบรรเทาโรคในเวลาเดียวกัน จึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่า สอดคล้องกับความคิดเห็นของ Candan & Bağdatlı (2017) และ Pashtetsky et al. (2019) ที่กล่าวถึงการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบธรรมชาติ ไม่เพียงแต่มีผลต่อร่างกายของสัตว์ปีกในระยะเจริญเติบโตเท่านั้น แต่ส่งผลถึงการออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหลังจากชำแหละจนถึงการเก็บรักษาด้วยการศึกษาการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในอาหารไก่ Jang et al. (2004) รายงานผลการเสริมสารสกัดจากสมุนไพรมัลเบอร์รี่ (mulberry leaf) สายน้ำผึ้ง (Japanese honeysuckle) และพืชสมุนไพรจีน goldthread ในอัตราส่วน 48.5:48.5:3.0 ตามลำดับ พบว่าเสริมที่ระดับ 1% ในอาหารไก่เนื้อส่งผลให้เนื้ออกไก่มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมและกลุ่มที่เสริมเพียง 0.3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhao et al. (2019) ที่เสริมสารสกัดกรดคลอโรจีนิก พบว่า ช่วยเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตและปรับปรุงความเสถียรในการออกซิเดชันของเนื้ออกไก่

Table 2 Effect of coffee silver skin supplement on carcass quality of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Live weight (g)	1,290.0	1,394.0	1,287.00	1,262.00	1,363.00	1,374.00	17.32	0.128
Defeather weight (g)	1,170.0	1,258.0	1,173.00	1,195.00	1,251.00	1,293.20	17.00	0.182
Carcass weight (g)	1,134.9	1,220.2	1,137.81	1,159.15	1,213.47	1,254.40	16.49	0.183
Dressing percentage (%)	87.85 ^c	87.65 ^c	88.42 ^{bc}	91.77 ^a	89.09 ^{bc}	91.33 ^{ab}	0.46	0.023
Internal organ (%)	13.01	12.86	11.92	13.02	13.36	12.23	0.24	0.536
Liver	2.42	2.23	2.15	2.09	2.22	1.99	0.04	0.098
Spleen	0.21	0.16	0.18	0.17	0.22	0.18	0.01	0.600
Heart	0.52	0.51	0.51	0.47	0.49	0.52	0.01	0.856
Gizzard	3.23	3.14	2.93	3.46	3.30	3.10	0.08	0.470

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Proventriculus	0.45	0.41	0.37	0.41	0.46	0.41	0.01	0.336
Small intestine	5.25	5.38	4.69	5.57	5.83	4.98	0.13	0.130
Kidney	0.63	0.63	0.63	0.71	0.70	0.65	0.02	0.551

¹ CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P<0.05$).

Table 3 Effect of coffee silver skin supplement on meat quality of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Breast meat pH _{24h}	5.91	5.80	5.90	5.96	5.92	5.99	0.03	0.505
Meat color								
L* (lightness)	42.49	41.08	40.94	38.28	42.96	45.69	0.87	0.247
a* (redness)	2.61 ^{bc}	3.18 ^{ab}	3.31 ^a	1.97 ^{bc}	1.58 ^c	2.36 ^{bc}	0.19	0.042
b* (yellowness)	3.37 ^b	3.81 ^b	3.07 ^b	3.82 ^b	7.01 ^a	6.26 ^a	0.38	0.002
Water-holding capacity (loss, % of total)								
Thawing loss	4.05 ^b	3.71 ^b	3.41 ^b	3.13 ^b	4.70 ^{ab}	6.35 ^a	0.29	0.012
Drip loss	0.76	1.09	0.67	0.62	0.50	0.58	0.06	0.151
Cooking loss	15.38 ^d	15.40 ^d	15.64 ^c	15.70 ^c	15.89 ^{ab}	15.94 ^a	0.34	<0.001
Shear force (N)	2.07 ^c	2.08 ^c	2.11 ^b	2.11 ^b	2.15 ^a	2.14 ^a	0.05	<0.001

¹ CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P<0.05$).

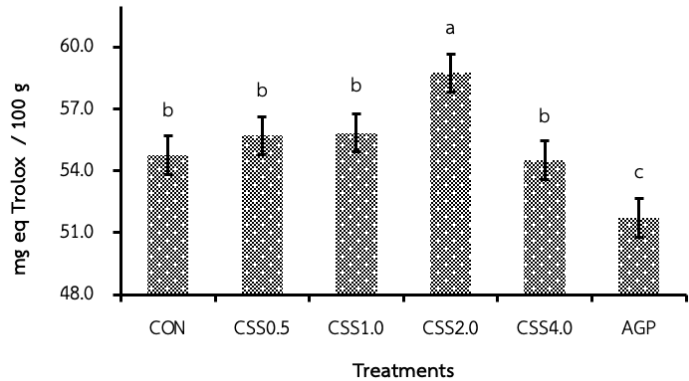


Figure 2 Effect of coffee silver skin supplement on total antioxidant in meat of Thai native crossbred chicken.

¹ CON = basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter. ^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$).

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในไส้ตันของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

ผลการศึกษการเสริม CSS ในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมืองต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน พบว่า ปริมาณเชื้อ LAB ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในกลุ่มอาหารพื้นฐานเสริม CSS2.0 และ CSS4.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณเทียบเท่ากับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (AGP) และมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับปริมาณ *Salmonella* sp. และ *E. coli* พบว่ากลุ่มที่เสริม CSS2.0 มีปริมาณเชื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 4) เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า CSS มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร โดยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ (Bessada, C. Alves, et al., 2018; Borrelli et al., 2004) แต่ทั้งนี้การเสริมสารในกลุ่มพรีไบโอติกในปริมาณสูงอาจส่งผลกระทบต่อเยื่อบุบริเวณลำไส้ ซึ่งส่งผลทำให้ลดประสิทธิภาพการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ หรือเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Olsen et al. (2001) แต่ทั้งนี้เพียงแคปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* ลดลง จากการเสริม CSS ในอาหารไก่ เพียงเท่านั้นก็แสดงถึงการลดอัตราการป่วยและการตายลงได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Srijan et al. (2016) ที่ศึกษการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเพื่อทดแทนสารเร่งการเจริญเติบโตที่เป็นยาปฏิชีวนะต่อเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่เนื้อ พบว่า ไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟและยาปฏิชีวนะมีปริมาณของเชื้อ *Clostridium* spp., *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในลำไส้ต่ำกว่าไก่ที่ได้รับอาหารพื้นฐาน ประกอบกับ Xia et al. (2011) รายงานถึงการทดสอบปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration, MIC) ของกรดคลอโรจินิก พบว่า ความเข้มข้นเพียง 0.1-0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella enterica* ได้สูงมาก และการศึกษาเสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติชนิดอื่น เช่น การศึกษการเสริมมะยมฝรั่ง (*Eugenia uniflora*) ที่มีสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในรูปของยูจีนอล (Eugenol) พบว่า สามารถลดปริมาณ *E. Coli* ในไส้ตันของไก่เนื้อลงได้ (Pashtetsky et al., 2019)

Table 4 Effect of coffee silverskin supplement on caecum microbiota of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
LAB	7.71 ^a	7.71 ^a	6.94 ^c	7.33 ^b	7.31 ^b	7.35 ^b	0.083	<0.001
<i>E. coli</i>	7.36 ^a	7.09 ^b	6.73 ^c	6.48 ^d	7.34 ^a	6.68 ^c	0.069	<0.001
<i>Salmonella</i> sp.	7.10 ^a	6.89 ^b	6.65 ^c	6.52 ^{cd}	6.67 ^c	6.44 ^d	0.041	<0.001

¹ CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

² LAB: Lactic acid bacteria.

a-d Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$).

สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาผลการเสริม CSS ในอาหารไก่พื้นเมืองลูกผสมต่อลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยาลำไส้เล็ก (Table 5) พบการเปลี่ยนแปลงในลำไส้ทั้ง 3 ส่วน โดยในลำไส้เล็กส่วนต้นพบว่า ในไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0 มี VH และ VH:CD สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) เช่นเดียวกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำไส้เล็กส่วนกลางที่พบว่า ในไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0 มี VH, VW และ VH:CD สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กส่วนปลายพบว่า ไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มี VH สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่สำหรับ VH:CD สูงที่สุดยังพบที่ไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0

การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในลำไส้ อาจจะเป็นผลจากคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ที่สามารถกระตุ้นประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการดูดซึมของอาหาร (Sayrafi et al., 2011) โดยความยาวและความกว้างของวิลไลในลำไส้เล็ก เป็นตัวชี้วัดที่สำคัญอย่างยิ่งของการเปลี่ยนแปลงในสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพการดูดซึม โดยมีงานวิจัยมากมายแสดงให้เห็นว่า การเสริมพรีไบโอติกในอาหารไก่สามารถช่วยปรับปรุงสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กและปรับปรุงเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ภายในลำไส้ (Marković et al., 2009; Spring et al., 2000) ทั้งนี้ Sayrafi et al. (2011) ได้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุภายในลำไส้ ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องและเกิดการแบ่งตัวเพื่อชดเชยการสูญเสียของวิลไลภายในลำไส้ตลอดเวลา ผ่านการงอกของวิลไลและเจริญของเซลล์คริปต์ โดยความลึกของคริปต์มีความสัมพันธ์กับอัตราการหมุนเวียนของเซลล์ภายในลำไส้ (cells turnover rate) การเพิ่มอัตราส่วนความสูงของวิลไล และความลึกของเซลล์คริปต์ บ่งชี้ถึงความจำเป็นในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ก่อตัวเป็นเยื่อบุลำไส้ (enterocyte) (Marković et al. 2009; Oliveira et al., 2008) ผลในการศึกษานี้พบความสูงของวิลไลเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ จึงสามารถสรุปได้ว่าสารเสริมดังกล่าวส่งผลต่อการหมุนเวียนของเซลล์เยื่อบุในลำไส้เล็ก

Table 5 Effect of coffee silverskin supplement on intestinal morphology of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment ¹						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Duodenum								
Villus height (µm)	903.36 ^d	923.95 ^d	1052.02 ^b	1067.65 ^{ab}	1097.01 ^a	977.91 ^c	5.940	0.001
Villus wide (µm)	115.35 ^c	135.34 ^a	125.20 ^b	124.65 ^b	128.52 ^b	130.92 ^{ab}	0.983	0.001
Crypt depth (µm)	213.37 ^a	192.96 ^b	192.92 ^b	176.33 ^c	165.74 ^c	223.71 ^a	2.147	0.001
MMT (µm)	19.43 ^c	20.38 ^{bc}	20.96 ^b	20.58 ^{bc}	20.88 ^{bc}	22.34 ^a	0.203	0.003
VH:CD	4.42 ^d	5.27 ^c	5.62 ^c	6.33 ^b	7.21 ^a	4.72 ^d	0.087	0.001
Jejunum								
Villus height (µm)	776.95 ^c	777.21 ^c	805.07 ^c	854.53 ^b	960.79 ^a	784.95 ^c	6.433	0.001
Villus wide (µm)	114.55 ^{ab}	110.98 ^b	114.55 ^{ab}	115.88 ^{ab}	118.59 ^a	105.02 ^c	0.841	0.001
Crypt depth (µm)	173.95 ^{ab}	175.26 ^{ab}	169.64 ^{ab}	165.06 ^b	151.26 ^c	182.74 ^a	1.855	0.001
MMT (µm)	27.92 ^a	27.72 ^a	24.66 ^b	23.21 ^{bc}	22.40 ^c	24.30 ^{bc}	0.284	0.001
VH:CD	4.61 ^{cd}	4.89 ^{cd}	5.08 ^c	5.63 ^b	6.62 ^a	4.52 ^d	0.076	0.001
Ileum								
Villus height (µm)	538.73 ^d	634.95 ^{bc}	668.19 ^{ab}	695.65 ^a	650.07 ^{bc}	617.03 ^c	5.768	0.001
Villus wide (µm)	96.89 ^a	89.57 ^b	97.67 ^a	90.85 ^b	90.83 ^b	93.87 ^{ab}	0.623	0.001
Crypt depth (µm)	100.35 ^b	108.92 ^a	99.34 ^b	99.74 ^b	84.317 ^c	87.01 ^c	1.168	0.001
MMT (µm)	24.28 ^d	27.93 ^{ab}	26.25 ^{bc}	27.63 ^{ab}	25.88 ^c	28.01 ^a	0.240	0.001
VH:CD	5.95 ^c	6.29 ^c	7.29 ^b	7.26 ^b	8.08 ^a	7.48 ^{ab}	0.103	0.001

¹ CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

² MMT = Muscularis mucosae thickness; VH:CD = Villus height per crypt depth ratio.

^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$).

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและสารต้านอนุมูลอิสระในตับไก่ ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน สารต้านอนุมูลอิสระ และการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่ได้รับการเสริม CSS (Figure 3) พบว่าการเสริม CSS ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน antioxidant enzyme ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) และ Glutathione peroxidase (GPX) โดยไก่ทดลองกลุ่ม CSS1.0 พบการแสดงออกของยีน SOD และ CAT ในตับ มีการแสดงออกที่สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในด้านของระบบภูมิคุ้มกันของไก่ที่ได้รับการเสริม CSS ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นยีนด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) interleukin 10 (IL10) ในตับเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าการเสริม CSS ทำให้ไก่มีสุขภาพและการเจริญเติบโตดีขึ้น ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าเยื่อหุ้มเมลิคกาแพมิฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Bessada et al. (2018) โดยสรุปได้ว่า ในเยื่อหุ้มเมลิคกาแพมิสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระและต้านอักเสบของเซลล์ได้ ได้แก่ caffeoylquinic acids, feruloylquinic acids, p-coumaroylquinic acids และ melanoidins นอกจากนี้การศึกษาค้างนี้ยังพบว่าการแสดงออกของยีน Nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) ลดลงในกลุ่มทดลอง CSS2.0 และ CSS4.0 ซึ่งเป็นยีนในกลุ่มต้านอนุมูลอิสระ โดย Nrf2 จะทำให้เกิดการสร้างโปรตีน Nrf2 ซึ่งทำหน้าที่เป็น Transcription factor โดยจะไปกระตุ้นการแสดงออกของยีน antioxidant enzyme (He et al., 2020) ซึ่งเป็นผลสอดคล้องกับการลดการแสดงออกของ SOD, CAT และ GPX เมื่อเสริม CSS ที่ระดับเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของยีนต้านอนุมูลอิสระจะถูกกระตุ้นเพิ่มขึ้นในสภาวะที่มีระดับ ROS ในร่างกายสูง ซึ่ง ROS จะถูกกระตุ้นสูงเมื่อร่างกายได้สารอนุมูลอิสระ หรืออยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชัน (Bessada, C. Alves, et al., 2018; He et al., 2020) และด้วยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ CSS จึงมีประสิทธิภาพสูงในการลดระดับ ROS ในร่างกายของสัตว์ได้ (Bessada, C. Alves, et al., 2018; Castillo et al., 2016) และเมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง ได้แก่ Interferon gamma (IFN γ) และ Insulin like growth factor 1 (IGF1) พบว่ากลุ่มที่ได้รับ CSS0.5 มีการแสดงออกของยีนชนิดนี้สูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ได้รับการเสริม CSS1.0 และ CSS4.0 ($P < 0.05$) โดย IFN จะจับกับ receptor แบบจำเพาะ จากนั้นเกิดการกระตุ้นโปรตีน เพื่อส่งสัญญาณเข้าไปนิวเคลียส Transcription factor จะเป็นตัวรับสัญญาณต่อโดยจับกับ DNA sequence ที่จำเพาะบน promotor ของเซลล์เจ้าบ้าน ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของยีนหลายตัวที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (Alimohammadi-Saraei et al., 2019)

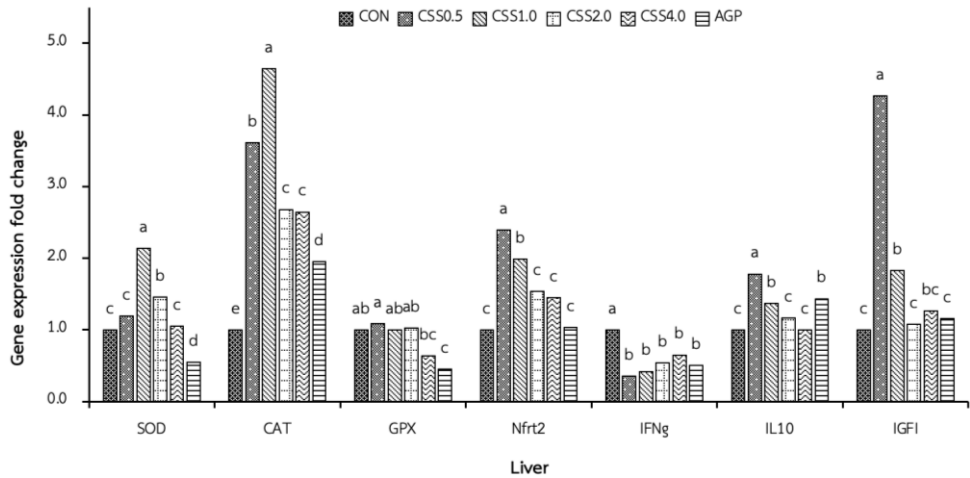


Figure 3 Effect of coffee silver skin supplement on the relative expression of SOD, CAT, GPX, NFrt2, IFNg, IL10 and IGFI in the liver of Thai native crossbred chicken.

¹ CON = basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter. ^{a-d} Different superscript letters within each row are significantly different ($P < 0.05$).

สรุปผลการศึกษา

การเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (CSS) ในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง ในระดับที่เหมาะสมที่สุด คือ 2.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร เนื่องจากสามารถช่วยเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์ซาก ความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ การสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อ การพัฒนาสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนต้านการอักเสบ อีกทั้งสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในระบบทางเดินอาหาร ลดต้นทุนค่าอาหาร (10 บาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเพิ่ม) และที่สำคัญมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงถือเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สำคัญในการเป็นสารเสริมในอาหารไก่พื้นเมืองเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2564 ทั้งนี้ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตวน้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษาและขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศศูนย์พัฒนากาแฟล้านนาไทย ภายใต้ศูนย์เทคโนโลยีเกษตรและนวัตกรรม AIC (Agritech and Innovation Center) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Alimohammadi-Saraei, M., Chamani, M., Seidavi, A., Sadeghi, A. A., & Aminafshar, M. (2019). Effects of different levels of green tea and Resemary extracts on growth performance, carcass characteristics, liver enzymes, interleukin-6 and interferon-gamma genes expression in broiler chickens Ross 308. **Agricultural Biotechnology Journal**. 11(3), 83-112.
- Bessada, S. M., Alves, R., & PP Oliveira, M. B. (2018). Coffee silverskin: A review on potential cosmetic applications. **Cosmetics**. 5(1), 5-15.
- Borrelli, R. C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52(5), 1338-1343.
- Candan, T., & Bağdatlı, A. (2017). Use of natural antioxidants in poultry meat. **Celal Bayar University Journal of Science**. 13(2), 279-291.
- Giannenas, I., Tontis, D., Tsalie, E., Chronis, E., Doukas, D., & Kyriazakis, I. (2010). Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**. 89(1), 78-84.
- He, F., Ru, X., & Wen, T. (2020). NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**. 21(13), 4777.
- Jang, I., Ko, Y., Yang, H., Ha, J., Kim, J., Kim, J., Kang, S., Yoo, D., Nam, D., & Kim, D. (2004). Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 17(3), 394-400.
- Jaturasitha, S., Srikanchai, T., Kreuzer, M., & Wicke, M. (2008). Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). **Poultry Science**. 87(1), 160-169.
- Laopaiboon, B., Duangjinda, M., Vongpralab, T., Sanchaisuriya, P., Nantachai, K., & Boonkum, W. (2010). Testing of growth performances and meat tenderness in crossbred chicken from Thai indigenous sire and commercial dam. **Kaen Kaset**. 38(4), 373-384.
- Lee, K.-W., Everts, H., Kappert, H., Frehner, M., Losa, R., & Beynen, A. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**. 44(3), 450-457.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **Methods**. 25(4), 402-408.
- Marković, R., Šefer, D., Krstić, M., & Petrujković, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. **Archivos de Medicina Veterinaria**. 41(2), 163-169.
- Martuscelli, M., Esposito, L., & Mastrocola, D. (2021). The role of coffee silver skin against oxidative phenomena in newly formulated chicken meat burgers after cooking. **Foods**. 10(8), 1833-1839.
- Narita, Y., & Inouye, K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. **Food Research International**. 61, 16-22.
- Oliveira, M., Rodrigues, E., Marques, R., Gravena, R., Guandolini, G., & Moraes, V. (2008). Performance and morphology of intestinal mucosa of broilers fed mannan-oligosaccharides and enzymes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 60(2), 442-448.
- Olsen, R. E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T. M., & Ring, E., (2001). Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Aquaculture Research**. 32, 931-934.
- Pashtetsky, V., Ostapchuk, P., Il'yazov, R., Zubochenko, D., & Kuevda, T. (2019). Use of antioxidants in poultry farming. In **The IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. (pp. 1-9). Kurgan: Russian Federation.

- Pourfarzad, A., Mahdavian-Mehr, H., & Sedaghat, N. (2013). Coffee silverskin as a source of dietary fiber in bread-making: Optimization of chemical treatment using response surface methodology. **LWT-Food Science and Technology**. 50(2), 599-606.
- Sayrafi, R., Shahrooz, R., Soltanilinejad, F., & Rahimi, S. (2011). Histomorphometrical study of the prebiotic effects on intestine morphology and growth performance of broiler chickens. **Veterinary Research Forum**. 2(1), 45-51.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K., & Newman, K. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *salmonella*-challenged broiler chicks. **Poultry Science**. 79(2), 205-211.
- Srijan, K., Tapingkae, W., & Yachai, M. (2014). Effects of dietary coffee silverskin supplementation on productive performance and immune response of broilers. **Thai Journal of Animal Science**. 1: 33-36 (in Thai).
- Srijan, K., Tapingkae, W., & Yachai, M. (2016). Functional properties of coffee silverskin and its effect on cecal microbiota in broiler chicken. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 44(2), 735-741 (in Thai).
- Srinual, O., Punyatong, M., Moonmanee, T., Intawicha, P., Yachai, M., & Tapingkae, W. (2020). Replacement of fish meal with suckermouth armored catfish and its effect on performance and intestinal morphology of indigenous Thai chicken. **Journal of Animal & Plant Sciences**. 30(4), 803-810.
- Starčević, K., Krstulović, L., Brozić, D., Maurić, M., Stojević, Z., Mikulec, Ž., Bajić, M., & Mašek, T. (2015). Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 95(6), 1172-1178.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Dominguez-Diaz, D., & González-Ríos, H. (2017). Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. **Journal of Animal Science and Technology**. 59(1), 1-17.
- Van Doan, H., Lumsangkul, C., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Jaturasitha, S. (2021). Effects of coffee silverskin on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia culture under biofloc system. **Aquaculture**. 543, 736995.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**. 86(14), 140-148.
- Xia, D., Wu, X., Shi, J., Yang, Q., & Zhang, Y. (2011). Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity. **LWT-Food Science and Technology**. 44(1), 347-349.
- Young, H.-T., & Choi, H.-J. (2003). Studies on nutrient components between the Chungjung chicken meats. **The Korean Journal of Food and Nutrition**. 16(3), 187-191.
- Zhao, J. S., Deng, W., & Liu, H. W. (2019). Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* leaf on performance, meat quality, oxidative stability, and fatty acid profile of meat in heat-stressed broilers. **Poultry science** 98(7), 3040-3049.

วันรับบทความ (Received date) : 23 มิ.ย. 65
วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 16 ต.ค. 65
วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65

องค์ประกอบทางโภชนะและผลการทดแทนเมล็ดข้าวโพดบดหมักหรือหญ้าเนเปียร์หมัก
ในอาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกรดำโครงการหลวง
Nutrient Chemical Composition and Effect of Replacing Either Fermented
Corn Grain or Fermented Napier Grass in Commercial Diet for Royal Project
Black Pig

วราภัสร์ พุทธา¹ และสุชน ตั้งทวีวัฒน์^{1*}

Waraphat Puttha¹ and Suchon Tangtaweewipat^{1*}

บทคัดย่อ

การศึกษาผลการทดแทนเมล็ดข้าวโพดบดหมักหรือหญ้าเนเปียร์หมักในอาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกรดำโครงการหลวงต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซาก ได้ทำการหมักเมล็ดข้าวโพดบดผสมกากน้ำตาล 1% เกลือ 1% และน้ำ 30% ในสภาพไม่มีอากาศเป็นเวลา 14 วัน (FC) ส่วนหญ้าเนเปียร์หมักในสภาพเดียวกัน 21 วันโดยไม่เติมน้ำ (FN) พบว่า FC มีจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์กรดแลคติก (LAB) 31.0×10^5 cfu/g DM และมีโภชนะ (% of DM) ดังนี้ 8.40 CP, 3.24 CF และ 5.95 EE ส่วน FN มี LAB 32.2×10^5 cfu/g DM และ 10.60 CP, 26.88 CF, 3.85 EE ค่า ME ของ FC และ FN ที่คำนวณจากองค์ประกอบทางเคมีเท่ากับ 3.707 และ 2.680 kcal/g DM เมื่อใช้ FC และ FN เป็นอาหารสุกรดำโครงการหลวง โดยใช้สุกรดำ 30 ตัว เป็นเพศผู้และเมียอย่างละครึ่ง แบ่งแต่ละเพศเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำ ให้กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ได้รับอาหารสำเร็จรูป กลุ่มที่ 2-5 ได้รับอาหารที่มี FC หรือ FN ผสมกับอาหารควบคุม 20 และ 40% air dry basis สูตรอาหารมี 2 ระยะ คือ 15-30 และ 30-60 กก. โดยมี 16 และ 14% CP ตามลำดับ ค่า ME ทั้ง 2 ระยะมีไม่น้อยกว่า 3.0 kcal/g ปรากฏว่า ADG และ FCR ของกลุ่ม FC หรือ FN ให้ผลดีต่อกว่า และใช้เวลาเลี้ยงส่งตลาดนานกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) การใช้ FC ทั้งสองระดับ และ FN 40% มี FCG ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนกลุ่ม 20% FN แม้ FCG จะไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ใช้เวลาเลี้ยงนานขึ้น 18 วัน ($P < 0.05$) การใช้วัตถุดิบหมักทั้ง 2 ชนิดช่วยลดความหนาไขมันสันหลัง และเพิ่มสัดส่วนเนื้อแดง โดยเฉพาะการใช้ FN ดังนั้นการใช้วัตถุดิบในท้องถิ่น ชนิดเมล็ดข้าวโพด หรือหญ้าเนเปียร์ หมักด้วยกระบวนการอย่างง่าย จึงมีข้อดีในแง่คุณภาพ และลดต้นทุนค่าอาหารได้

คำสำคัญ: เมล็ดข้าวโพดหมัก หญ้าเนเปียร์หมัก องค์ประกอบทางโภชนะ สมรรถภาพการผลิต สุกรดำโครงการหลวง

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

* Corresponding author: agani002@gmail.com

Abstract

The experiment aims to study the effect of replacing either fermented corn grain or fermented Napier grass in a commercial diet for Royal Project Black pig on production performance and carcass quality. Corn grain plus 30% water, 1% molasses and 1% salt were fermented in anaerobic conditions for 14 days (FC). Napier grass was fermented in the same condition without adding water for 21 days (FN). It was found that FC contained lactic acid bacteria (LAB) 31.0×10^5 cfu/g on DM basis with 8.40% CP, 3.24% CF and 5.95% EE, while FN had LAB 32.2×10^5 cfu/g, 10.60% CP, 26.88% CF and 3.85% EE. The calculated energy values from the chemical composition of FC and FN were 3.707 vs. 2.680 kcal ME/g DM. FC and FN were mixed in the diets fed to Royal Project black pigs composed of 15 males and 15 females which were allotted to 5 treatments (T) of 3 replicates. During 15-30 kg, the feed contained 16% CP, while during 30-60 kg. It contained 14% CP. All diets had no less than 3.0 kcal ME/g. Pigs in T1 (control group) were fed with commercial pelletized feed (basal diet), while in the other treatments, the basal diet was replaced on air dry basis with 20 and 40% of FC (T2, T3) or 20 and 40% of FN (T4, T5). The results showed that ADG and FCR of pigs in T2-T5 were significantly worse than T1 ($P < 0.05$). They also needed a longer time to reach the market weight ($P < 0.05$). FCG of both levels of FC and 40% FN were significantly lower than T1. Even though FCG of 20% FN was not different from FCG in T1. FCG needed 18 days longer raising time ($P < 0.05$). Both fermented products decreased backfat thickness and increased lean meat percentage especially in the case of FN. Therefore, the use of local products, i.e. corn grain or Napier grass fermented in an easy process tends to have some advantages, especially in carcass quality and reducing FCG.

Keywords: fermented corn grain, fermented Napier grass, nutrient chemical composition, production performance, Royal Project black pig

คำนำ

ปัจจุบันผู้เลี้ยงสุกรประสบปัญหาต้นทุนการผลิตสูง ทั้งทางด้านพันธุ์สัตว์ และอาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ราคาจำหน่ายผลผลิตมีความผันผวนค่อนข้างมาก ในบางช่วงเวลาเกษตรกรผู้เลี้ยง โดยเฉพาะรายย่อยมักขาดทุนเป็นประจำ การหาวิธีการลดค่าใช้จ่ายหรือลดต้นทุนการเลี้ยงสุกร จึงมีความจำเป็น เช่น การลดต้นทุนค่าอาหารซึ่งมูลค่าสูงถึง 60-70% ของต้นทุนทั้งหมด เป็นแนวทางหนึ่งที่นักวิจัยพยายามหาวัตถุดิบชนิดใหม่ๆ หรือที่มีปริมาณมากในพื้นที่มาผสมเป็นส่วนหนึ่งในสูตรอาหารสัตว์ ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งได้ วัตถุดิบชนิดที่มีศักยภาพสำหรับพื้นที่สูงโดยทั่วไป เช่น เมล็ดข้าวโพด และหญ้าเนเปียร์ จัดเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นอาหารสุกร เนื่องจากเป็นพืชท้องถิ่นที่เกษตรกรหาได้ง่าย ราคากถูก และมีคุณค่าทางโภชนาการดีพอควร

เมล็ดข้าวโพดมีคุณค่าทางโภชนาการ (% air dry basis) ดังนี้ ความชื้น 7.65, โปรตีน 9.80, แป้ง 73.83, ไขมัน 4.5, เยื่อใย 2.60 และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 375 kcal/100 g (Abiose & Kujentola, 2014) ส่วนคุณภาพโปรตีนในเมล็ดข้าวโพด มีค่าค่อนข้างต่ำ เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่จำเป็นชนิดทริปโตเฟน ไลซีน

และทีโอเอ็นในระดับต่ำ รวมทั้งยังมีปัญหาเรื่องความชื้นสูงในช่วงต้นฤดูเก็บเกี่ยว หากเกษตรกรมีการจัดการไม่เหมาะสม อาจเกิดเชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาท็อกซิน (aflatoxin) ที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ และยังมีปัญหาเรื่องแมลงเข้าทำลายเมล็ดได้ง่ายอีกด้วย (Kunan, 2017) สำหรับหญ้าเนเปียร์ที่เกษตรกรได้รับท่อนพันธุ์จากหน่วยงานของรัฐให้นำไปปลูกขยายผลเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์นั้น พบว่า เมื่อตัดที่อายุ 45 วัน ซึ่งมีความสูงประมาณ 1 เมตร จะมีองค์ประกอบทางโภชนา (% air dry basis) ดังนี้ วัสดุแห้ง 16.9, โปรตีน 11.9, ไขมัน 3.9, คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ 42.7 และเยื่อใย 30.7 (Shinoda et al. 2000) จะเห็นได้ว่า หญ้าเนเปียร์มีเยื่อใยสูงมาก ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูป hemicellulose ที่เป็นข้อจำกัดในการย่อยได้ เมื่อนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว มีรายงานว่า วิธีการหมัก (fermentation process) ช่วยให้เยื่อใยย่อยได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่หมัก ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการหมักช่วยให้พืชมีลักษณะอ่อนนุ่มมากขึ้น ช่วยต่อการย่อยสัตว์จึงสามารถย่อยเยื่อใยได้เพิ่มขึ้น (Seare et al. 2016) เช่นเดียวกับ Len (2008) รายงานว่า สัตว์ที่ได้รับหญ้าหมักจะมีการย่อยได้มากกว่าการให้หญ้าสด

การนำเมล็ดข้าวโพดบดและหญ้าเนเปียร์มาหมักในสภาพไร้อากาศ (anaerobic condition) จะเกิดจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก ซึ่งจะผลิตกรดแลคติกและฟอร์มิก ทำให้อาหารมีสภาพเป็นกรด จึงช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Kung et al. 2003; Schnürer & Magnusson, 2005;) และยังผลิตสารต่อต้านจุลินทรีย์ เช่น 2,3-butadiene, reuterin (3-hydroxypropionaldehyde), acetaldehyde, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, peptides หรือ proteins เช่น bacteriocins (Cleveland et al. 2001; Schnürer & Magnusson, 2005) และยังช่วยให้เยื่อใยย่อยได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่ได้หมัก (Seare et al. (2016) อีกทั้งยังมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น (Kuikui et al. 2017) ในสุกรมีรายงานว่า สุกรขุน และสุกรสาวที่ได้รับหญ้าเนเปียร์หมักในอาหารสามารถให้เยื่อใยให้เป็นประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อการย่อยได้ สุกรมีสุขภาพที่ดี และมีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ดีขึ้นด้วย สอดคล้องกับ Department of Livestock Development (2017) รายงานว่า สุกรพันธุ์เหมยซานมีการย่อยเยื่อใยได้ดีกว่าสุกรพันธุ์ทางการค้า มีความทนต่อโรคสูงสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และสภาพอากาศได้ดี อีกทั้ง Vasupen et al. (2013) รายงานว่าการใช้หญ้าหมักที่ระดับ 5-15% ทดแทนในอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงสุกรสายพันธุ์พื้นเมือง (พันธุ์กระโดน) ไม่มีผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิต (การเจริญเติบโต อัตราแลกน้ำหนัก หรือ FCR และต้นทุนค่าอาหาร) รวมทั้ง Danielsen et al. (1999) รายงานว่า สุกรที่ได้รับหญ้าหมักมีอัตราการย่อยได้มากกว่าสุกรที่ได้รับหญ้าสด

มูลนิธิโครงการหลวงได้ส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงสุกรที่มีชนลาตัวสีดำ ซึ่งเป็นสุกรลูกผสมระหว่างพันธุ์เปี้ยตรง - พันธุ์เมืองผสมกับพันธุ์ดुरอก-เหมยซาน โดยมีจุดเด่นในด้านการเจริญเติบโตเร็ว มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม ทนต่อโรค เลี้ยงง่าย และสามารถใช้อาหารที่มีคุณภาพต่ำได้ดีพอควร (Moonmanee et al., 2015) ในการวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำเมล็ดข้าวโพดที่ปลูกโดยทั่วไปบนพื้นที่สูงและเก็บเกี่ยวในช่วงต้นฤดูฝนที่มีปริมาณความชื้นสูง รวมทั้งหญ้าเนเปียร์ซึ่งเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ได้ส่งเสริมให้เกษตรกรพื้นที่สูงปลูก มาหมักในสภาพไม่มีอากาศ โดยทำการศึกษาถึงองค์ประกอบทางโภชนา รวมทั้งผลการใช้เมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์หมักในอาหารสุกรดำโครงการหลวงต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซาก เพื่อใช้แนะนำส่งเสริมให้เกษตรกรพื้นที่สูงใช้ประโยชน์ต่อไป

วิธีการศึกษา

แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณค่าทางโภชนาของเมล็ดข้าวโพดบดหมัก และหญ้าเนเปียร์หมัก

ใช้เมล็ดข้าวโพดบดผสมกากน้ำตาล 1% เกลือ 1% และน้ำ 30% คลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักในสภาพไม่มีอากาศ เป็นเวลา 14 วัน ส่วนหญ้าเนเปียร์ตัดที่อายุ 45 วัน นำมาหั่นเป็นชิ้น ขนาด 2-3 เซนติเมตรด้วยเครื่องหั่น ผสมกับกากน้ำตาล 1% เกลือ 1% คลุกให้เข้ากัน หมักเป็นเวลา 21 วัน เมื่อครบกำหนดอายุหมัก นำวัสดุดิบทั้งสองชนิดมาวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) หาปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic bacteria) ด้วยวิธี spread plate (Fankhauser, 2012) โดยทำชนิดละ 5 ซ้ำ และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนา โดยวิธี Proximate Analysis (A.O.A.C., 1990) แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณค่าพลังงานย่อยได้ (DE) ด้วยสูตร $DE = 949 + [(0.789 \times GE) - (43 \times \%Ash) - (41 \times \%NDF)]$; (NRC, 1998) และ ค่าพลังงานการใช้ประโยชน์ (ME) ด้วยสูตร $ME = DE \times [1.012 - (0.0019 \times \%CP)]$; (NRC, 1998)

การทดลองที่ 2 การใช้เมล็ดข้าวโพดบดหมัก และหญ้าเนเปียร์หมักเป็นส่วนผสมในอาหารสุกรช่วงน้ำหนัก 15-60 กิโลกรัม

ใช้สุกรดำโครงการหลวงที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 15 กก. จำนวน 30 ตัว เป็นเพศผู้ 15 ตัว และเพศเมีย 15 ตัว แบ่งสุกรแต่ละเพศออกโดยสุ่มเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 2 ตัว (มีเพศละตัว/ซ้ำ) สุกรทดลองแต่ละซ้ำเลี้ยงในคอกปูนแบบปล่อยพื้นขนาดคอกละ 1.5 x 2 เมตร ซึ่งทั้ง 15 คอกย่อยอยู่โรงเรือนแบบเปิด สุกรในช่วงน้ำหนัก 15-30 กก. ให้อาหารที่มีโปรตีน 16% ส่วนช่วงน้ำหนัก 30-60 กก. ให้อาหารที่มีโปรตีน 14% อาหารทั้งสองระยะ มี ME ไม่น้อยกว่า 3.0 kcal/g สุกรแต่ละกลุ่มสุ่มให้ได้รับอาหารทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ได้รับอาหารสำเร็จรูปทางการค้าชนิดเม็ด

กลุ่มที่ 2 เมล็ดข้าวโพดบดหมักแทนที่อาหารควบคุมระดับ 20% (air dry basis)

กลุ่มที่ 3 เมล็ดข้าวโพดบดหมักแทนที่อาหารควบคุมระดับ 40% (air dry basis)

กลุ่มที่ 4 หญ้าเนเปียร์หมักแทนที่อาหารควบคุมระดับ 20% (air dry basis)

กลุ่มที่ 5 หญ้าเนเปียร์หมักแทนที่อาหารควบคุมระดับ 40% (air dry basis)

ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาของสุรอาหารทดลองทั้ง 2 ระยะ คือ น้ำหนักสุกร 15-30 และ 30-60 กก. แสดงไว้ใน Table 1 และ 2 ตามลำดับ

สุกรทุกตัวได้รับน้ำที่สะอาดและอาหารทดลองอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ที่เวลา 8.00 และ 17.00 น.

บันทึกข้อมูลปริมาณการให้อาหารสุกรเป็นรายวันทุกวัน ส่วนน้ำหนักตัวสุกรและอาหารที่สุกรกินเหลือบันทึกเมื่อสุกรมีน้ำหนักตัว 30 และ 60 กก. บันทึกระยะเวลาการเลี้ยงสุกรตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงช่วงที่มีน้ำหนักตัวตามเกณฑ์กำหนด นำปริมาณอาหารที่กินและน้ำหนักตัวเพิ่มมาคำนวณอัตราแลกน้ำหนัก (feed conversion ratio, FCR) ต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักตัวเพิ่ม (Feed cost per gain, FCG) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย (Average daily gain; ADG)

เมื่อสุกรแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวถึง 60 กก. ทำการสุ่มสุกรกลุ่มละ 2 ตัว (เป็นเพศผู้ และเพศเมีย) อย่างละตัวจาก 3 ซ้ำ มาชำแหละเพื่อศึกษาคุณภาพซาก โดยบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวมีชีวิตก่อนชำแหละ น้ำหนักซาก ความยาวซาก ซึ่งวัดจากจากกระดูกซี่โครงซี่แรกที่ติดกับกระดูกสันหลัง (anterior edge of the rib near the vertebral column) ถึงจุดหน้าสุดของกระดูกสะโพกของซาก (anterior of the aitch bone) และน้ำหนักเนื้อแดง โดยทำการแยกเนื้อแดงตามคำจำกัดความของ Bray (1963) ที่ ประกอบด้วยเนื้อส่วนขา

หลัง (ham) สันหลัง (loin) ไหล่ (boston butt) และต้นขาหน้า (picnic shoulder) ทั้ง 4 ส่วนตัดตามวิธีของ American Meat Science Association (1967) จากนั้นคำนวณเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักซาก บันทึกค่าความหนาไขมันสันหลัง โดยใช้เวอร์เนียร์วัดแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยจาก 3 จุด คือ กระดูกซี่โครงซี่แรก กระดูกซี่โครงซี่สุดท้าย และกระดูกสันหลังบั้นเอว (lumbar vertebra) ข้อสุดท้าย

การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการการดูแลการเลี้ยงสัตว์และใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สัตว์เกษตร) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (เลขทะเบียน AG05002/2565)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากของสุกร มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Duncan's new multiple range test ตามที่ระบุไว้โดย Steel et al. (1997) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (R Studio)

Table 1 Feed formulation and nutrient compositions of experimental pig diet during 15-30 kg of bodyweight (air dry basis).

Item	Fermented corn grain		Fermented Napier grass		Commercial feed (Control group)
	20%	40%	20%	40%	
Ingredients:					
Commercial feed	74.85	50.21	67.89	38.19	100.00
Soybean meal (44% CP)	5.15	9.79	-	-	-
Full fat soybean (38% CP)	-	-	8.20	14.71	-
Palm oil	-	-	3.91	7.10	-
Fermented corn grain	20.00	40.00	-	-	-
Fermented Napier grass	-	-	20.00	40.00	-
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated chemical composition (% air dry basis)					
Crude protein	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
Crude fiber	6.25	5.50	10.54	14.08	7.00
ME (kcal/kg)	3,123	3,260	3,000	3,000	3,000
Feed price (THB/kg) ^{1/}	14.62	12.92	13.20	10.11	16.33

^{1/} Ingredients cost (THB/kg air dry): Soybean meal 12.71, Full fat soybean 17.00, Palm oil 12.00, Fermented corn grain 8.70 and Fermented Napier grass 0.45.

Table 2 Feed formulation and nutrient compositions of experimental pig diet during 30-60 kg of body weight (air dry basis).

Item	Fermented corn grain		Fermented Napier grass		Commercial feed (Control group)
	20%	40%	20%	40%	
Ingredients:					
Commercial feed	76.40	53.05	69.81	41.52	100.00
Soybean meal (44% CP)	3.60	6.95	-	-	-
Full fat soybean (38% CP)	-	-	5.79	10.50	-
Palm oil	-	-	4.40	7.98	-
Fermented corn grain	20.00	40.00	-	-	-
Fermented Napier grass	-	-	20.00	40.00	-
total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated chemical composition (% air dry basis)					
Crude protein	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
Crude fiber	5.93	5.50	10.55	14.18	7.00
ME (kcal/kg)	3,081	3,163	3,001	3,003	3,000
Feed price (THB/kg) ^{1/}	14.42	12.85	12.21	9.39	16.00

^{1/} Ingredients cost (THB/kg air dry): Soybean meal 12.71, Full fat soybean 17.00, Palm oil 12.00, Fermented corn grain 8.70 and Fermented Napier grass 0.45.

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 คุณค่าทางโภชนาของเมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์

จากข้อมูลใน Table 3 พบว่า เมล็ดข้าวโพดบดหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน มีค่าวัตถุแห้ง 64.22% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Silva et al. (2018) ที่ได้รายงานว่ามีค่าวัตถุแห้ง 64.26% การที่วัตถุแห้งของเมล็ดข้าวโพดหมักมีค่าต่ำกว่าเมล็ดข้าวโพดแห้งที่รายงานโดย NRC (1998; 64.22 และ 88.31%) เนื่องมาจากการเติมน้ำ 30% และกากน้ำตาล 1% ซึ่งกากน้ำตาลมีน้ำหรือความชื้นอยู่ถึง 25% (NRC., 1998) ส่วนค่าโภชนาอื่นเทียบเป็นร้อยละของวัตถุแห้ง (% DM) มีดังนี้ โปรตีน เยื่อใย ไขมัน เถ้า NFE และ NDF เท่ากับ 8.40, 3.24, 5.95, 2.61, 79.93 และ 12.45 ตามลำดับ การหมักเมล็ดข้าวโพดที่เหมาะสมควรหมักเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 14 วัน ซึ่งจะได้คุณภาพดี คือ ไม่มีเชื้อรา มีกลิ่นหอม มี pH 4.32 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของพืชหมักคุณภาพดี (Guo et al., 2013) หากเมล็ดข้าวโพดบดหมักดังกล่าวใช้ไม่หมด ก็สามารถปล่อยให้หมักนานขึ้นเป็น 21 หรือ 28 วันได้ ส่วนจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์กรดแลคติก (LAB) พบว่ามีจำนวน 31.0×10^5 cfu/g DM สำหรับหญ้าเนเปียร์หมักที่ 21 วัน พบว่ามีปริมาณวัตถุแห้งสูงกว่ารายงานของ Gunha et al. (2015) เล็กน้อย (19.52 vs 16.90%) ทั้งที่มีอายุการตัด 45 วันเหมือนกัน ทั้งนี้เนื่องจากหลายปัจจัย เช่น สภาพภูมิอากาศ การเจริญเติบโตของพืช การให้ปุ๋ย เป็นต้น หญ้าเนเปียร์หมักมีจุลินทรีย์กลุ่ม LAB เท่ากับ 32.2×10^5 cfu/g DM โดยจุลินทรีย์กลุ่ม LAB นี้ช่วยทำให้อาหารมีสภาพเป็นกรด จึงช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Kung et al., 2003; Schnürer & Magnusson,

2005) และยังผลิตสารต่อต้านจุลินทรีย์ เช่น 2,3-butadiene, reuterin (3-hydroxypropionaldehyde), acetaldehyde, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, peptides หรือ proteins เช่น bacteriocins (Cleveland et al., 2001; Schnürer & Magnusson, 2005) รวมทั้งยังช่วยให้เยื่อใยย่อยได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่ได้หมัก (Seare et al. (2016) ด้วย อย่างไรก็ตาม van Winsen et al. (2002) ได้รายงานไว้ว่า เมื่อสัตว์ได้รับอาหารหมัก จะมีการขับจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteriaceae ลดลง สำหรับองค์ประกอบทางโภชนาการเทียบเป็นร้อยละของวัตถุดิบแห้ง ดังนี้ โปรตีน เยื่อใย ไขมัน เถ้า NFE และ NDF เท่ากับ 10.60, 26.88, 3.85, 10.98, 47.69 และ 43.59 ตามลำดับ สอดคล้องกับ Seare et al. (2016) ที่ทำการหมักหญ้าเนเปียร์ร่วมกับกากน้ำตาล 0.4% มีการสูญเสียวัตถุดิบแห้งถึง 32.0 g/kg DM การหมักช่วยให้ค่าไขมันรวมและพลังงานรวมสูงขึ้น ส่วนปริมาณโปรตีน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำมีค่าสูงขึ้นเช่นกัน แต่ค่าดังกล่าวแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบระหว่างการหมักที่อายุ 14 และ 28 วัน เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมี ทางกายภาพ และปริมาณจุลินทรีย์ การหมักหญ้าเนเปียร์ที่เหมาะสม ควรหมักเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 21 วัน อย่างไรก็ตาม หากนำไปใช้ในสัตว์กระเพาะเด็ยควรคำนึงถึงเยื่อใยเพื่อให้สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ด้วย

มีรายงานว่าวิธีการหมักสามารถช่วยให้เยื่อใยย่อยได้เพิ่มขึ้นโดย Kang et al. (2009) ได้รายงานไว้ว่า จุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแบคทีเรีย (LAB) มีผลต่อการทำงานของ ferulic acid esterase เมื่อศึกษาการย่อยได้ของโภชนาการในโคเจาะกระเพาะ พบว่า จุลินทรีย์ในกลุ่ม LAB ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของ NDF ($P < 0.05$) และยังช่วยให้เยื่อใยย่อยได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่ได้หมัก (Seare et al., 2016) และมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น (Kuikui et al., 2017) เช่นเดียวกัน

เมื่อนำองค์ประกอบทางโภชนาการของเมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์มาคำนวณหาค่าพลังงานย่อยได้ (DE) พบว่า มีค่าเท่ากับ 3.615 และ 1.583 kcal DE/g DM ส่วนค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) มีค่าเท่ากับ 3.586 และ 1.570 kcal ME/g DM ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ค่า ME ของเมล็ดข้าวโพดหมักมีค่าสูงกว่าเมล็ดข้าวโพดไม่หมักเล็กน้อย (3.586 และ 3.394 kcal/g; NRC, 1998) Khotchomphu et al. (2012) รายงานว่า สุกรที่ได้รับหญ้าหมักทดแทนอาหารสำเร็จรูป 10% มีค่าการย่อยได้ของโภชนาการ เท่ากับ 85.21 และ 84.2 ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากสุกรที่ได้รับเพียงอาหารสำเร็จรูปอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับ Vasupen et al. (2013) ที่รายงานว่าสุกรที่กินหญ้ากินนิ่มหมักระดับ 15% มีแนวโน้มค่าการย่อยของได้โปรตีนหายากสูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย (91.48 และ 90.42%) โดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

Table 3 Lactic acid bacteria, chemical composition, digestible energy and metabolizable energy of fermented corn grain and fermented Napier grass.

Item	Fermented corn grain ^{1/}	Dry corn grain ^{2/}	Fermented Napier grass ^{1/}	Napier grass ^{3/}
Lactic acid bacteria (cfu/g DM)	31.00 x10 ⁵	-	32.20 x10 ⁵	-
pH	4.23	-	3.83	-
DM (%)	64.22	88.31	19.52	16.90
<i>Chemical composition (% of DM)</i>				
CP	8.40	8.24	10.60	9.62

CF	3.24	1.98	26.88	-
EE	5.95	3.48	3.85	1.72
Ash	2.61	1.30	10.98	10.44
NFE	79.93	-	47.69	-
NDF	12.45	-	43.59	64.54
Gross energy (GE, kcal/kg DM)	4,168.67	3,987.00	3,666.67	-
Digestible energy (DE, kcal/kg DM) ^{4/}	3,615.40	3,455.00	1,582.67	-
Metabolizable energy (ME, kcal/kg DM) ^{5/}	3,585.87	3,394.00	1,569.79	-

^{1/} Analyzed at feed laboratory, Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiangmai University.

^{2/} NRC (1998)

^{3/} Gunha et al. (2015); Napier grass were cut at 45 days of age

^{4/} DE = 949 + [(0.789 × GE) - (43 × %Ash) - (41 × %NDF)]; (NRC, 1998)

^{5/} ME = DE × [1.012 - (0.0019 × %CP)]; (NRC, 1998)

การทดลองที่ 2 การใช้เมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์หมักเป็นอาหารสุกรช่วงน้ำหนัก 15-60 กก.

ผลการใช้เมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์หมักต่อประสิทธิภาพการผลิตของสุกรดำโครงการหลวงในระยะน้ำหนักตัว 15-30 และ 30-60 กก. รวมทั้งผลตลอดการทดลอง (สุกรน้ำหนัก 15-60 กก.) แสดงไว้ใน Table 4 ปรากฏว่า ค่า ADG และ FCR ของกลุ่มเมล็ดข้าวโพดบดหมักและหญ้าเนเปียร์หมักให้ผลดีน้อยกว่าและใช้เวลาเลี้ยงส่งตลาดนานกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ผลที่ได้นี้ สอดคล้องกับรายงานของ Moonmanee et al. (2015) ที่กล่าวว่า สุกรที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปมีค่า ADG มากกว่าให้อาหารสำเร็จรูปร่วมกับผักคัตตัง และอาหารสำเร็จรูปร่วมกับพืชหมัก ($P < 0.05$; 0.70, 0.59 และ 0.48 กก./วันตามลำดับ) การที่ค่า ADG ลดลงในกลุ่มที่ได้รับเมล็ดข้าวโพดบดหมัก และหญ้าเนเปียร์หมักทั้งสองระดับนี้ อาจเนื่องมาจากการย่อยได้ของโภชนะที่ลดลงเมื่อสุกรได้รับอาหารที่เป็นเยื่อใยมากขึ้น ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง เช่นเดียวกับ Phochan et al. (1990) ที่กล่าวว่า เมื่อเพิ่มหญ้าขนสด และใบกระถินสดในสูตรอาหารสุกรลูกผสมพันธุ์ลาร์จไวท์ที่ระดับ 50-70% ทำให้การย่อยได้ของโภชนะ และ ADG ลดลง แต่ช่วยลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ Kenneth et al. (2010) กล่าวว่า สุกรที่ได้รับอาหารหยาบที่มากเกินไปความต้องการจะทำให้การย่อยได้ของโภชนะด้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากการย่อยเยื่อใยในสุกรมีประสิทธิภาพต่ำ อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่าการใช้เมล็ดข้าวโพดบดหมักทั้งสองระดับ และใช้หญ้าเนเปียร์หมักระดับ 40% ตลอดระยะการทดลองมีค่า FCG ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (63.07-72.25 และ 79.58 บาท/น้ำหนักตัวเพิ่ม 1 กก.; $P < 0.05$) ซึ่งเป็นผลมาจากราคาอาหารมีต้นทุนที่ต่ำกว่าอาหารสำเร็จรูปทางการค้า ส่วนกลุ่มที่ใช้หญ้าเนเปียร์หมักระดับ 20% แม้จะมีต้นทุนการผลิตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญ (82.83 และ 79.58 บาท/น้ำหนักตัวเพิ่ม 1 กก.; $P > 0.05$) แต่ใช้เวลาเลี้ยงนานขึ้น 18 วัน (74.67 และ 56.33 วัน; $P < 0.05$) จึงจะได้น้ำหนักตัวตามเกณฑ์ที่ส่งตลาดได้ สอดคล้องกับ Yothee et al. (2009) ที่รายงานว่าสุกรที่ได้รับหยวกกล้วยและผักหมักระดับสูงในอาหารมีระยะเวลาการเลี้ยงสุกรจากน้ำหนัก 30 กก. ถึงน้ำหนัก 100 กก. นานกว่ากลุ่มควบคุม 37 วัน รวมทั้งมีความหนาไขมันสันหลังลดลง ผลการทดลองนี้แสดง

ว่า การใช้หญ้าหมักที่ทำได้ง่ายในท้องถิ่นเป็นส่วนหนึ่งของสูตรอาหาร อาจไม่ช่วยให้ค่าใช้จ่ายลดลงในระดับที่คุ้มค่าต่อการลงทุน แต่อาจช่วยลดการซื้ออาหารสำเร็จรูปจากพื้นที่ราบไปยังพื้นที่สูงที่อยู่ห่างไกลได้บ้าง โดยเฉพาะในช่วงที่อาหารสัตว์แพงขึ้นมาก สำหรับการใช้เมล็ดข้าวโพดซึ่งได้จากการปลูกในพื้นที่มาหมักจากนั้นนำไปทดแทนอาหารสำเร็จรูปทั้งที่ระดับ 20% และ 40% สามารถลดต้นทุนการผลิตสุกร (ค่า FCG) ลงได้ แต่เกษตรกรต้องใช้เวลาเลี้ยงสุกรนานขึ้นอีกเป็นเวลา 8 และ 11 วัน ตามลำดับ

Table 4 Production performances of Royal Project black pigs fed diet containing varying level Of fermented corn grain or fermented Napier grass during 15 - 60 kg BW.

Level in diet (%)	Control	Fermented corn grain		Fermented Napier grass		P-value	SEM
		20	40	20	40		
During 15-30 kg BW							
Body weight (kg.)							
- Initial	15.00	15.00	15.01	15.17	14.89	0.94	0.11
- Final	30.75 ^c	31.28 ^{ab}	31.39 ^a	30.81 ^b	30.93 ^{ab}	0.04	0.09
ADG (g)	807.83 ^a	659.34 ^b	598.17 ^c	541.13 ^d	447.89 ^e	<0.01	9.06
Raising time (day)	20.17 ^e	24.83 ^d	26.17 ^c	29.67 ^b	35.17 ^a	<0.01	0.92
Feed intake (kg/day)	2.07 ^a	1.70 ^b	1.83 ^{ab}	2.00 ^a	1.83 ^{ab}	0.05	0.09
FCR	2.65 ^b	2.59 ^b	2.93 ^b	3.79 ^a	4.02 ^a	<0.01	0.05
FCG (THB/kg BW gain)	41.78 ^b	37.87 ^b	39.91 ^b	48.65 ^a	41.12 ^b	<0.01	1.41
During 30-60 kg BW							
Body weight (kg.)							
- Initial	30.75 ^c	31.28 ^{ab}	31.39 ^a	30.81 ^b	30.93 ^{ab}	0.94	0.09
- Final	61.15	61.05	61.05	60.60	60.90	0.20	0.12
ADG (g)	834.19 ^a	737.15 ^b	739.95 ^b	665.56 ^c	656.46 ^c	<0.01	0.02
Raising time (day)	36.17 ^c	39.83 ^b	40.67 ^b	45.00 ^a	45.00 ^a	<0.01	1.36
Feed intake (kg/day)	3.033 ^{bc}	2.93 ^c	3.17 ^{abc}	3.33 ^a	3.27 ^{ab}	0.03	0.05
FCR	3.636 ^c	3.98 ^b	4.29 ^b	4.98 ^a	5.00 ^a	<0.01	0.15
FCG	59.15 ^a	57.59 ^{ab}	54.52 ^b	61.48 ^a	46.75 ^c	<0.01	1.58
During 15-60 kg BW (Overall)							
Body weight (kg.)							
- Initial	15.00	15.00	15.01	15.17	14.89	0.94	0.11

Level in diet (%)	Control	Fermented corn grain		Fermented Napier grass		P-value	SEM
		20	40	20	40		
- Final	61.15	61.05	61.05	60.60	60.90	0.20	0.12
ADG (g)	816.00 ^a	706.00 ^b	689.33 ^b	614.00 ^c	564.67 ^d	<0.01	23.2 9
Raising time (day)	56.33 ^e	64.67 ^b	67.33 ^c	74.67 ^b	80.00 ^a	<0.01	2.21
Feed intake (kg/day)	5.00	4.67	5.00	5.33	5.00	0.35	0.10
FCR	6.25 ^c	6.57 ^c	7.26 ^b	8.68 ^a	9.03 ^a	<0.01	0.36
FCG (THB/kg BW gain)	79.58 ^a	72.25 ^b	70.64 ^b	82.83 ^a	63.07 ^c	<0.01	61.8 6

^{a,b,c} Mean values in a row with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$)

ADG = Average daily gain; FCR = Feed conversion ratio; FCG = Feed cost per gain

ผลของการใช้อาหารทดลองต่อองค์ประกอบซาก เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่น้ำหนัก 60 กก. แสดงไว้ใน Table 5 ปรากฏว่า การให้เมล็ดข้าวโพดบดหมัก หรือหญ้าเนเปียร์หมักทดแทนอาหารสำเร็จรูปทั้งสองระดับข้างต้น ไม่ส่งผลเสียต่อเปอร์เซ็นต์ซากและความยาวซาก ($P > 0.05$) แต่มีผลต่อสัดส่วนเนื้อแดง โดยการใช้อัตราดิบหมักทั้ง 2 ชนิด จะได้เปอร์เซ็นต์เนื้อแดงเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความหนาไขมันสันหลังลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากสูตรอาหารทดลองที่ใช้หญ้าหมักทดแทนอาหารสำเร็จรูปทั้งสองระดับมีปริมาณเยื่อใยสูงกว่าอาหารควบคุม คือ อาหารสำเร็จรูปทางการค้าอย่างมาก เมื่อนำไปเลี้ยงสุกรจึงทำให้มีสมรรถภาพการผลิตด้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$, Table 3) และมีการสะสมไขมันน้อยกว่า อย่างไรก็ดี ผลจากการศึกษาครั้งนี้ขัดแย้งกับ Wallenbeck et al. (2015) ที่รายงานว่าสุกรกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมกับหญ้าหมักแบบสับมีเปอร์เซ็นต์ซากต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว

Table 5 Effects of fermented corn grain and fermented Napier grass on carcass quality of pigs at 60 kg BW.

Level in diet (%)	Control	Fermented corn grain		Fermented Napier grass		P-value	SEM
		20	40	20	40		
Carcass percentage	72.33	75.45	71.04	71.33	71.50	0.05	0.60
Lean (% of carcass wt.)	35.96 ^b	35.00 ^c	36.62 ^b	39.38 ^a	38.80 ^a	0.01	0.56
Back fat thickness (inch)	3.67 ^a	3.28 ^b	3.25 ^b	3.25 ^b	3.05 ^b	0.01	0.08
Carcass length (cm.)	83.50	70.50	71.80	71.20	69.30	0.19	2.14

^{a,b,c} Mean values in a row with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

เมื่อพิจารณาโดยรวมจากการทดลองครั้งนี้มีประเด็นที่น่าสนใจ คือ การใช้วัตถุดิบหมักทั้ง 2 ชนิดข้างต้นในระดับที่เหมาะสมในสูตรอาหาร สามารถช่วยลดต้นทุนค่าอาหารในการเพิ่มน้ำหนักตัว (FCG) รวมทั้งได้สัดส่วนของเนื้อแดงเพิ่มขึ้น ในขณะที่สุกรมีความหนาไขมันสันหลังลดลง โดยเฉพาะการได้รับหญ้าเนเปียร์หมัก ดังนั้นการใช้วัตถุดิบในท้องถิ่นที่หาได้สะดวก ชนิดเมล็ดข้าวโพดหรือหญ้าเนเปียร์ หมักด้วยกระบวนการอย่างง่าย จึงมีข้อดีในแง่คุณภาพซาก และช่วยลดการซื้ออาหารสำเร็จรูปไปยังพื้นที่สูงได้บ้าง แต่เกษตรกรจะใช้เวลาเลี้ยงสุกรนานขึ้นเล็กน้อย

สรุปผลการศึกษา

การหมักเมล็ดข้าวโพดบดโดยผสมกับกากน้ำตาล 1% เกลือ 1% และน้ำ 30% คลุกเคล้าให้เข้ากันในสภาพไม่มีอากาศ เป็นเวลา 14 วัน ส่วนหญ้าเนเปียร์หมักในสภาพเดียวกัน หมักเป็นเวลา 21 วันโดยไม่เติมน้ำ พบว่า เมล็ดข้าวโพดบดหมักมีวัตถุแห้ง (DM) 64.2% มีจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์กรดแลคติก 31.0×10^5 cfu/g และมีโปรตีน เยื่อใย และไขมัน เท่ากับ 8.40, 3.24 และ 5.95% of DM ส่วนหญ้าเนเปียร์หมักพบจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์กรดแลคติก 32.2×10^5 cfu/g มี DM เท่ากับ 19.52% มีโปรตีน เยื่อใย และไขมัน เท่ากับ 10.6, 26.88 และ 3.85% of DM ตามลำดับ เมื่อนำเมล็ดข้าวโพดหมัก หรือหญ้าเนเปียร์หมักไปใช้ในสูตรอาหาร โดยแทนที่อาหารควบคุมในระดับ 20 และ 40% ทำให้สุกรมีอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารเลวลง เป็นเหตุให้เกษตรกรต้องใช้เวลาเลี้ยงเพื่อให้ได้น้ำหนักตามเกณฑ์ส่งตลาด (น้ำหนักตัว 60 กก.) นานขึ้น 8-24 วันขึ้นกับชนิดวัตถุดิบและระดับการใช้ทดแทนอาหารสำเร็จรูป โดยมีข้อดีในด้านคุณภาพซากที่มีเนื้อแดงสูงขึ้น ดังนั้น การใช้วัตถุดิบในท้องถิ่น ชนิดเมล็ดข้าวโพด หรือหญ้าเนเปียร์ที่ปลูกได้ง่ายบนพื้นที่สูง มาหมักด้วยกระบวนการอย่างง่าย สามารถนำไปใช้ทดแทนอาหารสำเร็จรูปบางส่วนได้ แต่เกษตรกรต้องเลี้ยงสุกรนานขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่ได้สนับสนุนทุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Abiose, S. H. & Ikujenlola, A. (2014). Comparison of chemical composition, functional properties and amino acids composition of quality protein maize and common maize (*Zea mays* L.). *Journal of Food Science and Technology*. 5(3), 81-89. doi:10.14303/ajfst.2014.024.
- American Meat Science Association. 1967. **Recommended guides for carcass evaluation and contests**. American Meat Science Association. Chicago, IIL.
- AOAC. (1990). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists
- Bray, R. W. 1963. Quantitative measures of carcass composition and Qualitative evaluation. **Symposium on Feed and Meat Terminology; 54th Meeting of the American**. Security Operation Center. Journal of Animal Science. 22.
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., & Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 71, 1-20.
- Danielsen, V., Hansen, L.L., Møller, F., Bejerholm, C. & Nielsen, S. (1999). Production results and sensory meat quality of pigs fed different amounts of concentrate and ad lib. Clover grass or clover grass silage.

- Proceedings of NJF-seminar No, 303.** (pp. 79-86). Ecological Animal Husbandry in the Nordic Countries.
- Department of Livestock Development. (2017). **ruām lem sukōñ phan mōēisān khōng krom pasu sat.** Nakon Ratchasima: Provincial Livestock Office.
- Fankhauser, D. B. (2012). **Pour plate technique for bacterial enumeration.** [Online]. Available: http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Meat_Milk/Pour_Plate.htm. [2012, January 20].
- Gunha, T., Powpaisal, I. & Sommart, K. (2015). Itthiphon khōng ‘āyū tat kepkiēo yānēpiā pākchōng nung tō ‘ongprakōp thāng khēmī khwāmsāmāt nai kān yōj dai phalangngān thī chai prayōt dai læ kān plotplōj kæt mīthēn chāk kraphō mak khōng khō nūā [Influences of Napier grass [*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum* (Pakchong 1) cutting aged on chemical composition, digestibility, metabolizable energy and enteric methane emissions in beef cattle]. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 43(3), 565-572. Guo, X. S., Undersander, D. J. & Combs, D. K. (2013). Effect of lactobacillus inoculants and forage dry matter on the fermentation and aerobic stability of ensiled mixed-crop tall fescue and meadow fescue. **Journal of Dairy Science**. 96, 1735-1744. doi: 10.3168/jds.2045-5786.
- Kang, T. W., Adesogan, A. T., Kim, S. C and Lee, S. (2009). Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. **Journal of Dairy Science**. 92, 732–738. doi:10.3168/jds.2007-0780.
- Kunan, N. (2017). **‘āhān læ kānhai ‘āhān sat khīēo ‘uāng** [Feed and Feeding of Ruminants]. Udon Thani. Udon Thani Rajabhat University.
- Khotchomphu, N. et al. (2012). Kān chai yā mak thothhān nai ‘āhān suk tō samatthana kān charoentōēptō læ kān yōj dai khōng phōt chana nai suk phūnmūāng [Used grass silage in pig diet on growth performance and nutrients of digestibility in native pigs]. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 40 (suppl.2): 507-511.
- Kuikui, N., Yanping, W. & Huili, P. (2017). Natural lactic acid bacteria population and silage fermentation of whole-crop wheat. **Journal of Animal Sciences**. 28(8), 1123-32. doi:10.5713/ajas.14.0955.
- Kung Jr., L., Stokes, M. R. & Lin, C. J. (2003). Silage additives: Review. **Journal of Applied Sciences**. doi:10.4236/ojapps.2014.45026.
- Len, N. T. (2008). **Evaluation of Fibrous Feeds for Growing Pigs in Vietnam.** Doctoral thesis. Uppsala. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Moonmanee, T., Phuak-Charoen, K. & Tangtaweewipat, S. (2015). **Kān khat lūāk Prapprung suk læ kān thot sōp sūt ‘āhān thī mōsom** [Integrated Research to Increase Pig Production Efficiency on Highland Area]. Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University.
- NRC. (1998). **Nutrient Requirements of Swine.** 10th ed. Washington D.C.: The National Academy Press.
- Phochan, S., Phochan, P. & Rotchanasathit, S. (1990). Kān khun suk dōl chai yākhon sot thothhān ‘āhānkhon [Utilization of fresh para Grass Replacing concentrate feed for pig fattening]. **Journal of Agriculture**. 6.1, 10-20.
- Seare, T. D., Xianjun, Y., Junfeng, L. & Tao, S. (2016). Ensiling characteristics, structural and nonstructural carbohydrate composition and enzymatic digestibility of Napier grass ensiled with additives. **Bioresource Technology**. 211, 447-454. doi:10.1016/j.biortech.2016.09.068.
- Schnürer, J. & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. **Trends in Food Sciences and Technology**. 16, 70-78.
- Shinoda, M., Kawashima, T., Pholsen, P. & Chuenpreecha, T. (2000). **Quality and nutritive value of Napier grass silage at different growth stages and chopped or unchopped in northeast Thailand.** Retrieved from: <http://www.fao.org/3/X8486E/x8486e0z.htm>.

- Silva, M. R., Jobim, C., Neumann, M. & Osmari, M. P. (2018). Corn grain processing improves chemical composition and fermentative profile of rehydrated silage. *Journal of Animal Sciences*. 40(1), 1807-8672 doi:10.4025/actascianimsci.v40i1.42564.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. & Dickey, D.A. (1997). **Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach**. 3rd ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. 666 p.
- Van Winsen et al. (2002). Effect of fermented feed on shedding of Enterobacteriaceae by fattening pigs. *Veterinary Microbiology*. 87(3), 267–276. doi:10.1016/s0378-1135(02)00066-4.
- Vasupen, K., Waongsuthawas, S., Bureenok, S., Mitchaothai, C. & Yuangklang, C. (2013). Phon khōng kǎn thoththǎn ‘āhān rap suk run duāi yāmak tō samatphāp kǎn phalit læ kǎn Yōi dai khōng phōtchana nai suk phūnmūāng [Effect of replacing complete diet for growing pig with grass silage on productive performance and nutrients digestibility of native pigs]. *Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine*. 8(2), 89-101.
- Wallenbeck, A., Rundgren, M., & Prestob, M. (2015). Inclusion of grass/clover silage in diets to growing/finishing pigs-Influence on performance and carcass quality. *Journal of Animal Science*. 64, 145-153.
- Yothee, A., Tartrakoon, W., Wuthijaree, K., Tartrakoon, T. & Chalermnan, N. (2009). kǎn thoththǎn ram la‘iāt nai ‘āhān sukōt raya run khun duāi sēt phak læ yuāk klūai mak [Substitution for Fine Rice Bran in Growing-Finishing Diet by Fermented Vegetable Wastes and Banana Stalk]. Faculty of Agriculture, Naresuan University.

วันรับบทความ (Received date) : 25 มี.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 3 พ.ย. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65

ผลของการใช้น้ำเมียงที่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันต่อสมรรถภาพการผลิต และ คุณภาพซากและเนื้อในไก่เนื้อ

Effect of Miang Residues Processed by Encapsulation on Growth Performance, and Quality of Carcass and Meat in Broiler

นิราภรณ์ ชัยวัง¹ ณัฐวุฒิ คุรุชไทย^{1*} วัชรพงษ์ วัฒนกุล¹ กุลิสรา มรุปันธ์ธ¹ จินตนา สุวรรณมณี¹ ธนาพร บุญมี²
จินดา กลิ่นอุบล³ และ พัทธาวินท์ เสถระยะ⁴

Niraporn Chaiwang¹, Nuttawut Krutthai^{1*}, Watcharapong Wattanakul¹, Kulisara Marupanthorn¹,
Jintana Suwannamane¹, Thanaporn Bunmee², Jinda Glinoubon³ and Phatthawin Setthaya⁴

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นโปรไบโอติกของน้ำเมียง โดยใช้เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต คุณภาพซากและเนื้อของไก่เนื้อ การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ใช้ไก่เนื้อทางการค้า (Ross308) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ T1. กลุ่มควบคุม T2. กลุ่มที่เสริม น้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน T3. กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน T4. กลุ่มที่เสริมโปรไบโอติกทางการค้า โดยใช้ไก่กลุ่มละ 70 ตัวโดยแบ่งเป็น 5 ซ้ำๆ ละ 14 ตัวรวมทั้งหมด 280 ตัว ให้อาหารตามความต้องการของไก่เนื้อตาม NRC (1994) เลี้ยงนาน 5 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ดำเนินการวิเคราะห์คุณภาพซากและเนื้อของไก่เนื้อ จากผลการทดลองพบว่าสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อที่เสริมด้วยน้ำเมียงในรูปแบบที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ปริมาณอาหารที่กินได้ พบความแตกต่างในสัปดาห์ที่ 5 กลุ่ม ควบคุมกินอาหารมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คุณภาพซาก พบว่าน้ำหนักมีซีสต์ น้ำหนักซากอ่อน น้ำหนักซากเย็น เครื่องในรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในด้านคุณภาพเนื้อออกและ สะโพกพบว่าองค์ประกอบทางเคมี ค่าความเป็นกรดต่างที่ 45 นาทีหลังสัตว์ตาย ค่าความเป็นสีแดง แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลอง ($P<0.05$) สำหรับค่าการสูญเสียจากการละลายพบความ แตกต่างในเนื้อออกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นจากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่าการใช้น้ำเมียงผ่าน

¹ สาขาเทคโนโลยีและพัฒนากิจการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50300

¹ Division of Agricultural Technology and Development, Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai, 50300, Thailand

² สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

² Division of Animal Sciences, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand

³ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34190

³ Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Ubon Ratchathani, University, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand

⁴ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

⁴ Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

* Corresponding author: nuttawut_krut@cmru.ac.th

กระบวนการเอนแคปซูเลชันมีผลต่อสรรรถภาพการผลิต คุณภาพซากและเนื้อ โดยให้ผลดีเทียบเท่ากับการใช้ โพรไบโอติกทางการค้า

คำสำคัญ: น้ำเมียง เอนแคปซูเลชัน โพรไบโอติก คุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ

Abstract

The purpose of this study was to compare the effects of Miang residues processed by encapsulation for probiotics on broiler growth performance, and the quality of carcass and meat. This study used commercial broilers (Ross308) divided into 4 groups: Control group (T1), Miang residues without encapsulation (T2), Miang residues processed by encapsulation (T3), and Commercial probiotic (T4). Applying a completely randomized design (CRD), this study used 70 broilers for each group which was further divided into 5 replicates of 14 broilers. A total of 280 were used for this experiment. The experimental diets were formulated according to the National Research Council (NRC, 1994), and the broilers were raised for 5 weeks. According to the effect of Miang residues processed by encapsulation for probiotics on growth performance, and the quality of carcass and meat in broilers, it was found that the growth performance of broilers fed with Miang residues different in terms of body weight (BW), average daily gain (ADG), feed conversion ratio (FCR) in the fourth and fifth weeks were statistically different ($P < 0.05$). Moreover, in the fifth week, the control group had the significantly highest feed intake (FI) ($P < 0.05$). Regarding the carcass quality, it was found that live weight, hot carcass weight, cold carcass weight, and total offal showed statistically significant differences ($P < 0.05$). For meat quality in the breast and thigh, the result revealed that chemical composition, pH at 45 minutes post-mortem, and Redness value (a^*) had statistically significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$). In addition, there was a significant different thawing loss in breast meat ($P < 0.05$). Therefore, under this research condition, it could be concluded that the use of Miang residues processed by encapsulation has effects on growth performance, carcass and meat quality of broilers, which are comparable to the use of commercial probiotics.

Keywords: Miang residues, encapsulation, probiotic, carcass quality, meat quality

คำนำ

เมียงเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่นภาคเหนือมานานกว่า 100 ปีได้จากการหมักชาพันธุ์อัสสัม เนื่องจากชาอัสสัมเป็นทรัพยากรต้นน้ำที่สำคัญของภาคเหนือ จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกชาเมียงมากที่สุดคือเชียงใหม่ รองลงมาได้แก่ น่าน ลำปาง แพร่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอนตามลำดับ ในการผลิตเมียงมีการผลิตเมียงมีน้ำทิ้งทุกวัน ในแต่ละปีมีน้ำทิ้งเมียงทิ้งปีละ 8,188 ล้านลิตร ซึ่งอาจทำลายสิ่งแวดล้อม แต่มีงานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าเมียงและผลิตภัณฑ์ชาหมัก มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น มีคุณสมบัติต้านจุลชีพ โพรไบโอติก ต้านไข้หวัด สารต้านอนุมูลอิสระ ลดคอเลสเตอรอล และลดความอ้วน (Sampanvejsobha et al., 2012)

จากกระบวนการหมักตามธรรมชาติส่วนใหญ่เกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria และเชื้อรา โดยพบว่าเชื้อที่พบมากที่สุด คือ *Lactobacillus plantarum* และมีรายงานว่า *Lactobacillus fermentum* ที่แยกจากเมี่ยงมีคุณลักษณะเป็นโพรไบโอติก (Okada et al., 1986; Tanasupawat et al., 2007; Klayraung et al., 2008) เมี่ยงมีองค์ประกอบของโพลีฟีนอลซึ่งเป็นหนึ่งในกลุ่มสารเคมีที่พบมากในพืช โพลีฟีนอลที่แยกได้จากผัก ผลไม้ ชาเขียว ชา สมุนไพร เครื่องเทศ เบียร์และไวน์แดง พบว่ามีศักยภาพส่งเสริมด้านสุขภาพอย่างกว้างขวาง (Szliszka & Krol, 2011) การศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของอาหารที่อุดมด้วยพลาโวนอยด์ รวมถึงการเป็นสารต้านการอักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือดรวมถึงบทบาทในการป้องกันโรคที่เกิดจากความเสื่อมถอยของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ได้ปรับเปลี่ยนวิธี การผลิตให้สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคโดยลดการใช้สารเคมี การใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) และสารสังเคราะห์เสริมลงในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต (antibiotic growth promoter; AGP) เนื่องจากการตกค้างของสารอยู่ในผลิตภัณฑ์แล้วทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค เช่น สารกลุ่มเตตราไซคลิน (tetracycline) ทำให้ทางเดินอาหารผิดปกติ เป็นพิษต่อกระดูก และทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้มีการใช้สารที่ได้จากธรรมชาติมาเสริมในอาหารสัตว์ นักวิชาการอาหารสัตว์เลือกใช้ โพรไบโอติกที่มีการศึกษามากที่สุด คือ กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติและเป็นจุลินทรีย์ microflora ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์และมนุษย์ เช่น *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. plantarum* เป็นต้น (Murry et al., 2004) การเสริมโพรไบโอติกเหล่านี้ในอาหารไก่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในลำไส้ ส่งผลให้ลดการปนเปื้อนของซากจากแบคทีเรียระหว่างการชำแหละเนื้อไก่ (Khaksefidi & Rahimi, 2005; Kabir, 2009) โพรไบโอติกมีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต เพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณภาพเนื้อของไก่เนื้อ (Bai et al., 2017) จากคุณสมบัติดังกล่าวการใช้เชื้อเหลือจากการกระบวนการผลิตเมี่ยง ช่วยในการยับยั้งในการเจริญของแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในการปศุสัตว์ได้ และมีผลต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเนื้อและซาก ซึ่งจะเป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่าและสูงสุด รวมถึงเป็นการลดการใช้สารเคมีอันตรายในการเลี้ยงสัตว์เพื่อลดผลการตกค้าง ผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมได้ด้วย แต่หากนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาเติมในอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทันที จะไม่เกิดประสิทธิภาพอย่างเต็มที่ ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาประยุกต์ใช้เพื่อกักเก็บโพรไบโอติกในน้ำเมี่ยง จะส่งผลให้เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก เทคนิคโพลีเอินแคปซูเลชันเป็นเทคนิคที่ช่วยเพิ่มความคงตัวของเซลล์ ป้องกันการทำลายจากอนุมูลอิสระ ความชื้น ปฏิกริยาเคมี อีกทั้งเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและความคงตัวของเซลล์ระหว่างการผลิตและการเก็บ เทคนิคเอนแคปซูเลชันเป็นกระบวนการห่อหุ้มสารแกนกลางด้วยสารห่อหุ้ม เพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวของสารแกนกลางและทำให้เกิดระบบการปลดปล่อยสารแกนกลาง สามารถควบคุมปริมาณ เวลาในการปลดปล่อย และบริเวณที่ต้องการปลดปล่อย วัตถุประสงค์การทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำเมี่ยงที่ไม่ผ่านและผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซากและเนื้อในไก่เนื้อ

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง อาหาร และการให้อาหาร

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้สัตว์ทดลองไก่เนื้อ สายพันธุ์ทางการค้า Ross308 จำนวน 280 ตัว มีการจัดการตามมาตรฐานฟาร์ม โดยกกเป็นเวลา 7 วัน ก่อนจัดกลุ่มไก่เข้างานทดลองโดยให้น้ำหนักเฉลี่ยของไก่

เท่ากันทุกกลุ่ม ให้อาหารทดลองและน้ำเป็นแบบเต็มที่ (*ad libitum*) รองพื้นด้วยแกลบ ควบคุมอุณหภูมิภายในโรงเรือนที่ 30-34 °C โดยใช้หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่าง และความอบอุ่น โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ T1 = กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมน้ำเมียง) T2 = กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน T3 = กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน T4 = กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกทางการค้า โดยใช้ไก่กลุ่มละ 70 ตัว โดยแบ่งเป็น 5 ซ้ำๆ ละ 14 ตัว ไก่ทุกตัวได้รับอาหารสำเร็จรูป แล้วเสริมวิตามินและเกลือจากกระบวนการผลิตเมียง 100 กรัม/กิโลกรัมอาหาร ในกลุ่มการทดลอง T2 และ T3 โดยอาหารแบ่งเป็นสำหรับไก่ 2 อายุ คือ 1) ไก่แรกเกิดถึง 3 สัปดาห์ (Starter; โปรตีน 22%) และ 2) ไก่อายุ 3-5 สัปดาห์ (Grower; โปรตีน 21%) มีสารอาหารต่าง ๆ เพียงพอกับความต้องการของไก่เนื้อตาม NRC (1994) สำหรับการทำเอนแคปซูเลชัน นำน้ำเมียงเอนแคปซูเลชัน ด้วยมอลโทเด็กซ์ทริน DE 10 ในปริมาณความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำน้ำเมียงไปทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยทำการบดอาหารสำเร็จรูปแล้วนำผงน้ำเมียงไปผสม การให้วัคซีนทำวัคซีนควบคุมโรคมารีกซ์ กัมโบโร หลอดลมอักเสบ และนิวคลีโอซิสจากโรงฟักในวันที่ 0 และทำวัคซีนรวมหลอดลมอักเสบและนิวคลีโอซิสในวันที่ 7 รวมถึงทำวัคซีนกัมโบโรในวันที่ 14 ของการทดลองตามลำดับ การทดลองผ่านการอนุมัติให้ดำเนินการต่อสัตว์ทดลองทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ เลขที่ CMRU-IAD 002/2564

สมรรถภาพการผลิต และคุณภาพซากและเนื้อ

ทำการบันทึกข้อมูลสมรรถภาพการผลิต ได้แก่ น้ำหนักเฉลี่ย (average weight) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (average daily gain: ADG) ปริมาณอาหารที่กินได้เฉลี่ย (feed intake: FI) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion ratio: FCR) และเมื่อครบระยะการทดลอง ชั่งน้ำหนักหลังการทดลอง การศึกษาลักษณะซาก บันทึกน้ำหนักก่อนและหลังฆ่า เพื่อบันทึกน้ำหนักที่ฟาร์ม น้ำหนักซากอุ่น น้ำซากที่แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักซากเย็น จากนั้นทำการตัดแต่งโดยวิธีของ Jaturasitha (2004) เพื่อวัดคุณภาพซาก โดยการจดบันทึกน้ำหนักชิ้นส่วนต่างๆ ได้แก่ ออกสะโพก น่อง ปีก แข้ง และโครง คำนวณเปอร์เซ็นต์ซาก และเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตัดแต่ง สำหรับการประเมินคุณภาพเนื้อประกอบด้วย การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีของ AOAC (1995) วัดค่าความเป็นกรดต่างของเนื้ออกและสะโพกที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ด้วยเครื่อง pH - meter (Model 191, Knick, D - Berlin, Germany) วัดค่าสีด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter (Model CR - 400, Minolta Camera Co., LTD., Osaka, Japan) บันทึกค่าความสว่าง (lightness, L*) ค่าสีแดง (redness, a*) และค่าสีเหลือง (yellowness, b*) และวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (Jaturasitha, 2004)

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

สมรรถภาพการผลิต และคุณภาพซากและเนื้อ แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomize Design) วิเคราะห์ด้วย ANOVA ข้อมูลที่ได้นำไปเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการทดลองจาก Table 1 แสดงถึงสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อที่เสริมด้วยน้ำเมียงในรูปแบบที่ต่างกัันดังนี้ T1 = กลุ่มควบคุมไม่ได้รับการเสริมน้ำเมียง T2 = กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน T3 = กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และ T4 = กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกทางการค้า พบว่าน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ (body weight: BW) ในสัปดาห์ที่ 1-2

ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3 กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 4-5 พบว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน มีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มน้ำเมียงเอนแคปซูเลชันและโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain: ADG) ในสัปดาห์ที่ 1-3 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 4 กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันน้อยกว่ากลุ่มน้ำเมียงเอนแคปซูเลชันและโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และในสัปดาห์ที่ 5 กลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Siriwan et al. (2008) ทำการศึกษาในไก่เนื้อพบว่าการเสริมโพรไบโอติกในอาหารไก่เนื้อทำให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อเพิ่มขึ้น และการทดลองของ Afsharmanesh & Sadaghi, (2014) รายงานว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ และการควบคุมเชื้อก่อโรค เช่น เชื้อ *Salmonella* spp. (Tellez et al., 2012) โรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย (necrotic enteritis) (Jayaraman et al., 2013) และโรคบิดในไก่ (Dalloul et al., 2003) สำหรับประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed conversion ratio: FCR) ในสัปดาห์ที่ 1-3 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 4-5 พบว่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว กลุ่มควบคุม กลุ่มน้ำเมียงเอนแคปซูเลชันและโพรไบโอติกมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ได้กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในส่วนของปริมาณอาหารที่กินได้ (feed intake: FI) สัปดาห์ที่ 1-4 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 5 กลุ่มควบคุมกินอาหารมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สอดคล้องกับ Nguyen et al. (2016) เนื่องจากสารแคเทชินในใบชาซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลจะออกฤทธิ์จับกับอนุโมลอิสระได้ดีจึงช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากภาวะความเครียดของไก่ได้ไก่เนื้อจึงมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น จากการทดลองของ Malaithong (2011) นำเมียงแห้งจากการตากแดดตามปกติและผสมอาหารที่ ระดับ 0, 2, 4 และ 6% เพื่อใช้เลี้ยงไก่เนื้อพบว่าไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเมียงหมักแห้ง 4% มีปริมาณการกินอาหารทั้งระยะ 0-3 สัปดาห์ และตลอดการทดลองเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในช่วง 2 สัปดาห์แรกของไก่ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่ในช่วง 3 สัปดาห์สุดท้ายของการทดลองน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่ที่ ได้รับเมียงหมักแห้ง 2% มากกว่ากลุ่มที่ได้รับเมียงหมักแห้ง 6% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมียงหมักแห้ง 4% ไก่ที่ได้รับอาหารผสมเมียงหมักแห้ง 2% มี ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเมียงหมักแห้งระดับ 4 และ 6% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งจากการที่น้ำเมียงมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Tanasupawat et al., 2007) จึงมีผลเข้าไปช่วยรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารและเกิดการแข่งขันการเกาะยึดเยื่อบุทางเดินอาหารกับจุลินทรีย์ก่อโรค และยังสร้างกรดไขมันสายสั้นซึ่งส่งผลให้ pH ที่ลดลงมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคไม่ทนกรดเช่น *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp. เป็นต้น (Mayra & Bigret, 1993) นอกจากนี้กรดไขมันสายสั้นที่เกิดขึ้นยังมีผลให้ความสูงของวิลไลและความลึกของคริปต์เพิ่มขึ้น (Gyawali et al., 2022) สัตว์จึงสามารถดูดซึมสารอาหารได้อย่างเต็มที่ทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น (Chitanont et al., 2007) นอกจากนี้เอนไซม์ที่ผลิตโดยโพรไบโอติกในลำไส้ที่เพิ่มสูงขึ้นจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารทำให้มีการดูดซึมอาหารในสัตว์ที่เพิ่มขึ้นได้ (Afsharmanesh & Sadaghi, 2014) และการเอนแคปซูเลชัน เป็นวิธีในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ โดย

สามารถช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมภายในเซลล์ เมื่อต้องอยู่กับอาหารที่มีสภาวะไม่เหมาะสมต่อการรอดชีวิต และการห่อหุ้มช่วยให้เชื้อรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารที่มีสภาวะเป็นกรดสูงในกระเพาะอาหารและเกลือน้ำดีในลำไส้เล็กได้ดีขึ้น (Serna-Cock & Vallejo-Castillo, 2013)

Table 1 Growth performance of studied broilers fed with the experimental diet.

	T1	T2	T3	T4	SEM	P-value
Body weight: BW (g/bird)						
Weeks 1	198.71	198.43	203.29	202.96	10.56	0.59
Weeks 2	503.71	507.14	514.86	514.00	12.18	0.97
Weeks 3	938.71 ^B	978.00 ^A	988.86 ^A	1,010.00 ^A	46.06	<0.05
Weeks 4	1,335.26 ^B	1,382.86 ^B	1,489.71 ^A	1,498.00 ^A	81.63	<0.05
Weeks 5	1,694.47 ^B	1,750.07 ^B	1,865.13 ^A	1,991.93 ^A	99.79	<0.05
Average daily gain: ADG (g/bird)						
Weeks 1	20.50	20.44	20.96	21.23	1.30	0.99
Weeks 2	46.24	44.94	52.85	54.47	10.02	0.62
Weeks 3	64.76	63.19	66.29	64.93	7.84	0.98
Weeks 4	73.25 ^B	72.62 ^B	76.12 ^A	77.83 ^A	2.76	<0.05
Weeks 5	62.42 ^B	63.84 ^{AB}	64.63 ^A	65.53 ^A	1.83	<0.05
Feed conversion ratio: FCR						
Weeks 1	1.32	1.34	1.32	1.29	0.10	0.96
Weeks 2	1.23	1.30	1.18	1.14	0.18	0.82
Weeks 3	1.45	1.43	1.40	1.43	0.07	0.94
Weeks 4	1.80 ^B	1.90 ^A	1.73 ^B	1.72 ^B	0.02	<0.05
Weeks 5	1.76 ^B	1.93 ^A	1.73 ^B	1.72 ^B	0.03	<0.05
Feed intake: FI (g/bird)						
Weeks 1	27.09	25.92	26.31	26.06	2.45	0.99
Weeks 2	55.85	53.87	54.27	54.83	2.58	0.98
Weeks 3	93.35	89.70	90.63	90.83	3.18	0.96
Weeks 4	125.50	117.76	120.00	121.00	5.66	0.55
Weeks 5	121.03 ^B	111.72 ^A	112.84 ^A	115.28 ^A	1.89	<0.05

T1 = control T2 = Miang residues non encapsulated T3 = Miang residues encapsulated T4 = probiotics

^{A, B, C} Means in the same row followed by different letters are significantly different (P<0.05)

ผลการทดลองจาก Table 2 แสดงถึงคุณภาพซากของไก่เนื้อที่เสริมด้วยน้ำเมียงในรูปแบบที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำหนักรอดชีวิตกลุ่มที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันและโพรไบโอติกมีน้ำหนักรอดชีวิตมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) น้ำหนักซากอ่อนพบว่ากลุ่มที่ให้โพรไบโอติกมีน้ำหนักรอดชีวิตมากที่สุด สำหรับกลุ่มน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน ไม่

แตกต่างกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติก แต่กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักซากอ่อนน้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในส่วนของน้ำหนักซากเย็นพบว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีน้ำหนักซากเย็นมากที่สุดและไม่แตกต่างกับกลุ่มน้ำเมี่ยงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน แต่พบความแตกต่างกับกลุ่มที่เสริมน้ำเมี่ยงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และกลุ่มควบคุมที่มีน้ำหนักซากเย็นต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สำหรับเปอร์เซ็นต์ซากไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) เปอร์เซ็นต์ต่อวัยพบว่าแข่งและเท่าไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เครื่องในรวมกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ($P < 0.05$) และเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตัดแต่งได้แก่ ออก สะโพก น่อง ปีก โคนง ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Pelicano et al. (2005) พบว่าเป็นเปอร์เซ็นต์ซากและเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตัดแต่งไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มอาหารควบคุม กลุ่มที่ให้สารปฏิชีวนะ และกลุ่มที่ให้โปรไบโอติกซึ่ง Mohammadreza et al. (2015) ศึกษาผลของโปรไบโอติกต่อลักษณะซากของไก่เนื้อพบว่าการใช้โปรไบโอติกในอาหารที่ระดับ 0.01% ไม่มีผลต่อลักษณะของซาก แต่รายงานของ Abdel-Rahman et al. (2013) พบว่าโปรไบโอติกมีผลต่อผลผลิตและคุณภาพซากในสัตว์ปีกพบว่าอัตราผลตอบแทนของซากสัตว์ปีกเพิ่มขึ้น ตลอดจนเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารสัตว์ที่มีการที่เพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองนี้ ในส่วนของน้ำหนักมีชีวิตและน้ำหนักซากเย็นกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีและกลุ่มน้ำเมี่ยงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเนื่องจากสัตว์จึงสามารถดูดซึมสารอาหารได้อย่างเต็มที่ มีผลต่อค่าหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น (Chitanont et al., 2007) ทำให้คุณภาพซากดีขึ้นด้วย

Table 2 Carcass quality of studied broilers fed with the experimental diet.

	T1	T2	T3	T4	SEM	P-Value
Number of animals	70	70	70	70	-	-
Live weight (g)	1,694.47 ^B	1,750.07 ^B	1,865.13 ^A	1,991.93 ^A	99.79	<0.05
Hot carcass weight (g)	1,231.25 ^B	1,309.07 ^{AB}	1,365.73 ^{AB}	1,482.80 ^A	86.03	<0.05
Chill carcass weight (g)	1,197.27 ^B	1,274.25 ^B	1,329.13 ^{AB}	1,442.47 ^A	74.24	<0.05
Dressing percentage (%)	74.06	73.01	74.78	73.57	1.20	0.22
Organ percentage (%)¹						
Shank and feet	4.75	4.66	4.31	4.73	0.23	0.19
Visceral	13.88 ^B	13.56 ^B	12.33 ^B	15.10 ^A	0.86	<0.05
Cutting percentage (%)²						
Breast	29.04	33.18	36.89	32.88	2.94	0.08
Thigh	17.30	16.61	15.70	15.83	1.22	0.53
Drumstick	12.56	12.70	12.42	12.70	0.57	0.95

Wings	10.65	10.95	10.23	10.92	0.50	0.46
Skeleton	28.94	28.85	27.52	28.28	1.13	0.57

T1 = control T2 = Miang residues non encapsulated T3 = Miang residues encapsulated T4 = probiotics

^{A, B, C} Means in the same row followed by different letters are significantly different (P<0.05)

¹percentage of live weight, ²percentage of chill carcass weight

ผลการทดลองจาก Table 3 แสดงคุณภาพเนื้ออกของไก่ที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงในรูปแบบที่แตกต่างกัน ค่าองค์ประกอบทางเคมีพบว่าเปอร์เซ็นต์ค่าความชื้น กลุ่มที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันมีค่าน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีค่าเป็น 66.37% (P<0.05) ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนพบว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันมีค่ามากที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน สำหรับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) เปอร์เซ็นต์ไขมันเนื้ออกพบว่ากลุ่มควบคุมมีค่ามากที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) สอดคล้องกับ Nguyen et al. (2016) รายงานว่า ชาเขียวมีฤทธิ์ช่วยเพิ่มการเผาผลาญพลังงานไขมันและช่วยในระบบการดูดซึมอาหารทำให้ไขมันในเนื้อมีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

Table 3 Meat quality of breast muscle of studied broilers fed with the experimental diet.

	T1	T2	T3	T4	SEM	P-Value
Chemical composition; (%)						
Moisture	70.74 ^A	70.42 ^A	66.37 ^B	70.03 ^A	2.06	<0.05
Protein	26.75 ^C	27.98 ^B	32.05 ^A	26.31 ^C	0.76	<0.05
Fat	2.51 ^A	1.60 ^B	1.58 ^B	1.83 ^B	0.13	<0.05
pH value						
pH 45 min	6.29 ^{AB}	6.19 ^B	6.43 ^{AB}	6.51 ^A	0.13	0.034
pH 24 hr.	5.13	5.28	5.10	5.40	0.21	0.42
Colour³						
L* (lightness)	54.67	55.98	45.80	48.83	4.58	0.18
a* (redness)	2.27 ^C	4.74 ^B	6.79 ^A	3.37 ^{BC}	0.86	0.015
b* (yellowness)	9.85	7.58	9.10	6.54	1.29	0.11
Water holding capacity (%)						
Drip loss	3.34	4.62	7.29	4.31	3.23	0.48
Thawing loss	3.61 ^{AB}	5.13 ^A	2.42 ^B	6.18 ^A	0.98	0.024
Grilling loss	35.78	22.25	36.74	30.62	2.50	0.37

T1 = control T2 = Miang residues non encapsulated T3 = Miang residues encapsulated T4 = probiotics

^{A, B, C} Means in the same row followed by different letters are significantly different (P<0.05)

³L* = lightness, a* = red to green, b* = yellow to blue

ผลการทดลองจาก Table 4 คุณภาพเนื้อสะโพกของไก่ที่เสริมด้วยน้ำเมียงในรูปแบบที่แตกต่างกัน ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อพบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นไม่แตกต่างทางสถิติ แต่เปอร์เซ็นต์โปรตีนกลุ่ม ควบคุมมีค่าน้อยที่สุดคือ 18.72% เปอร์เซ็นต์ไขมันเนื้อสะโพกกลุ่มควบคุมมีค่ามากที่สุดคือ 6.94% แตกต่าง จากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สำหรับค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อสะโพกเมื่อทำการวัดที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายพบว่าที่ 45 นาที กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน มี ค่าความเป็นกรดต่างต่ำที่สุดคือ 6.15 แตกต่างจากกลุ่มการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และค่าความเป็นกรดต่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายไม่พบความแตกต่างสถิติ ในส่วนค่าสีของเนื้อพบว่าค่า ความสว่างของเนื้อ (L^*) ความเป็นสีเหลือง (b^*) ไม่พบความแตกต่างสถิติ แต่ค่าความเป็นสีแดง (a^*) พบว่า กลุ่มควบคุมไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และกลุ่มที่ได้รับ โปรไบโอติก แต่กลุ่มที่ได้รับกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน มีค่ามากที่สุดอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ พบว่าเปอร์เซ็นต์การ สูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา การสูญเสียน้ำจากการละลาย และการสูญเสียน้ำขณะปิ้งย่างไม่พบความแตกต่าง ทางสถิติ

Table 4 Meat quality of thigh muscle of studied broilers fed with the experimental diet.

	T1	T2	T3	T4	SEM	P- Value
Chemical composition; (%)						
Moisture	74.34	73.76	73.95	74.23	0.14	<0.05
Protein	18.72 ^B	21.03 ^A	20.07 ^A	20.1 ^A	1.86	<0.05
Fat	6.94 ^A	5.21 ^C	5.98 ^B	5.67 ^B	0.28	<0.05
pH value						
pH 45 min	6.39 ^B	6.15 ^C	6.46 ^B	6.65 ^A	0.09	<0.05
pH 24 hr.	5.17	5.10	5.32	5.60	0.17	0.08
Colour³						
L^* (lightness)	54.67	55.98	55.36	51.24	1.53	0.06
a^* (redness)	4.74 ^B	7.76 ^A	6.79 ^{AB}	5.32 ^B	0.59	<0.05
b^* (yellowness)	9.11	7.58	8.81	6.37	1.35	0.29
Water holding capacity (%)						
Drip loss	4.99	6.90	4.30	3.32	1.76	0.14
Thawing loss	3.76	3.61	4.18	3.13	1.96	0.69
Grilling loss	38.46	38.95	48.91	56.51	9.34	0.18

T1 = control T2 = Miang residues non encapsulated T3 = Miang residues encapsulated T4 = probiotics

^{A, B, C} Means in the same row followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$)

³ L^* = lightness, a^* = red to green, b^* = yellow to blue

ผลจาก Table 3 และ Table 4 สอดคล้องกับการศึกษาของ Laohaprasit (2014) รายงานว่าสาร คาเตชิน เพิ่มการใช้พลังงาน ลดการดูดซึมไขมันในลำไส้ ลดการสะสมของไขมันหน้าท้อง สำหรับค่าความ

เป็นกรดต่างของเนื้อเมื่อทำการวัดที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายพบว่าที่ 45 นาที กลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน มีค่าความเป็นกรดต่างต่ำที่สุดคือ 6.19 แตกต่างจากกลุ่มได้รับโพรไบโอติกมีค่าเป็น 6.51 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบว่าค่าความเป็นกรดต่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายไม่พบความแตกต่างสถิติ ในส่วนค่าสีของเนื้อพบว่าค่าความสว่างของเนื้อ (L^*) ความเป็นสีเหลือง (b^*) ไม่พบความแตกต่างสถิติ แต่ค่าความเป็นสีแดง (a^*) พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยน้ำเมียงผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันมีค่ามากที่สุดคือ 6.79 และ กลุ่มควบคุมมีค่าน้อยที่สุดคือ 2.27 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) Nguyen et al. (2016) เนื่องจากสารแคเทชินในใบชาซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลจะออกฤทธิ์จับกับอนุมูลอิสระได้ดีจึงช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากภาวะความเครียดของไก่ทำให้มีผลต่อค่าความเป็นกรดต่างในเนื้อได้ สำหรับค่าความเป็นสีแดง (a^*) สอดคล้องกับปริมาณไขมันหากมีปริมาณไขมันต่ำเนื้อจะมีค่าความเป็นสีแดงมาก นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำจากการละลายกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำขณะปิ้งย่างไม่พบความแตกต่างสถิติ จากการศึกษาที่มีคุณลักษณะเป็นโพรไบโอติก (Tanasupawat et al., 2007) สอดคล้องกับรายงานของ Popova (2017) รายงานว่าการใช้โพรไบโอติกในอาหารไก่สามารถปรับปรุงคุณภาพเนื้อส่งผลในการลดปริมาณ คอเลสเทอรอล และปริมาณไขมันในเนื้อไก่ได้ โดยโพรไบโอติกมีผลต่อการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโพรพิโอเนต ซึ่งควบคุมการลดการสร้างไขมันในตับ และการยับยั้งกระบวนการสร้างไขมัน ซึ่งมีผลต่อการลดปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์ จากรายงานของ Nopparatmaitree et al. (2018) รายงานว่าการเสริมโพรไบโอติกสำหรับพัฒนาคุณภาพเนื้อในไก่เนื้อจากหลายงานวิจัยให้ผลการทดลองที่ต่างกันอย่างค่อนข้างมาก คือ การพัฒนาคุณภาพเนื้อไก่ เมื่อเสริมโพรไบโอติก และการใช้โพรไบโอติกแล้วไม่แสดงผลต่อการพัฒนาคุณภาพเนื้อ โดยการวัดค่าคุณภาพเนื้อ คือ ความสามารถในการอุ้มน้ำ และ การสูญเสียน้ำจากการแช่เย็น นอกจากนี้การนำไปผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันก็เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของน้ำเมียงเพิ่มขึ้น

สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการเสริมน้ำเมียงที่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน ที่ระดับ 100 กรัม/กิโลกรัมอาหารสำหรับไก่เนื้อ (ROSS 308) ส่งผลให้ไก่เนื้อที่อายุ 4 และ 5 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น สำหรับประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวมีประสิทธิภาพดีกว่า ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกทางการค้า คือใช้อาหารได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกลุ่มที่เสริมน้ำเมียงโดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชัน สำหรับคุณภาพซากและเนื้อกลุ่มที่ได้รับการเสริมด้วยน้ำเมียง มีคุณภาพซากที่ดีกว่า และมีไขมันต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นแนะนำให้ใช้น้ำเมียงที่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันเนื่องจากประสิทธิภาพที่ดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการวิจัยสนองพระราชดำริการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ที่สนับสนุน

งบประมาณการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยและเลี้ยงสัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Rahman, H., Shawky, S., Ouda, H., Nafeaa, A. & Orabi, S. (2013). Effect of two probiotics and bioflavonoids supplementation to the broilers diet and drinking water on the growth performance and hepatic antioxidant parameters. *Global Veterinaria*. 10(6), 734–741.
- Afsharmanesh, M., & Sadaghi, B. (2014). Effects of dietary alternatives (probiotic, green tea powder and Kombucha tea) as antimicrobial growth promoters on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and immune response of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*. 23(3), 717-724.
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bai K., et al. (2018). Dietary effects of *Bacillus subtilis* fmbj on growth performance, small intestinal morphology, and its antioxidant capacity of broilers. *Poultry Science*. 97, 2312-2321.
- Chitanont, W., et al. (2007). Effects of probiotics on growth performance, carcass composition, meat cholesterol level and fat content level in broilers. In *Proceedings of 45th Kasetsart University Annual Conference*. (pp. 51-58).The Thailand Research Fund, Bangkok (Thailand).
- Dalloul, R., Lillehoj, H., Shellem, T., & Doerr, J. (2003). Enhanced mucosal immunity against *Eimeria* 325cervuline in broilers fed a *Lactobacillus*-based probiotic. *Poultry Science*. 82(1), 62–66.
- Gyawali, I., et al. (2022). Effect of novel *Lactobacillus paracaesi* microcapsule on growth performance, gut health and microbiome community of broiler chickens. *Poultry Science*. 101(8), 101912.
- Jaturasitha, S. (2004). *Kānċhatkān nūā sat* [Meat management]. Chiang Mai: Mingmuang Press.
- Jayaraman, S., et al. (2013). *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science*. 92(2), 370–374.
- Kabir, S.M.L. (2009). The Role of Probiotics in the Poultry Industry. *International Journal of Molecular Sciences*. 10, 3531-3546.
- Khaksefidi, A., & Rahimi, Sh. (2005). Effect of Probiotic Inclusion in the Diet of Broiler Chickens on Performance, Feed Efficiency and Carcass Quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 18(8), 1153-1156.
- Klayraung, S., Viernstein, H., Sirithunyalug, J., & Okonogi, S. (2008). Probiotic Properties of *Lactobacilli* Isolated from Thai Traditional Food. *Scientia Pharmaceutica*. 76(3), 485-503.
- Laohaprasit, N. (2014). *Khā the chin* [Catechin]. Retrieved from: <http://www.ujizen.com/blog/คาเทชิน>
- Malaithong, W. (2011). Phon khōng kān soēm miāng mak nai ‘āhān tō samatthana kānphalit khōng kai nūā [Effects of pickled tea supplementation in diets on productive performances of broilers]. In *The 2nd MJU-Phrae National Research Conference 1-2 September 2011*. MJU-Phrae campus.
- Mayra-Makinen, A. & Bigret M. (1993). *Industrial use and production of lactic acid bacteria*. In *Lactic Acid Bacteria*. (ed. By Salminen, S. and Wright, A. V.) New York. Marcel Dekkar.
- Murry, A.C., Hinton, A., & Morrison, H. (2004). Inhibition growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Clostridia perfringens* on chicken feed media by *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Poultry Science*. 3,603-607.
- Mohammadreza, P., Alireza, S., Leila, A., & res Martinez. (2015). Probiotic level effects on growth performance, carcass traits, blood parameters, cecal microbiota, and immune response of broilers. *The Journal of Agricultural Science*. 88(2), 78-89.

- National Research Council. (1994). **Nutrient Requirements of Poultry**: 9th revised ed., 1994. Washington, DC: The National Academies Press.
- Nguyen, H.T., Nguyen, T.V., Bui, H.D., & Pham, K.D. (2016). Effect of dietary supplementation with green tea powder on performance characteristic, meat organoleptic quality and cholesterol content of broilers. **Livestock Research for Rural Development**. 30(9), 224-228.
- Nopparatmaitree, M., et al. (2018). The Effects of Multi-Strain Bacillus Species Supplementation in Drinking Water of Broilers on Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, Cholesterol and Fatty Acid in Meat. **Journal of Science and Technology Mahasarakham University** 37(2), 192-200.
- Okada, S., Takahashi, N., Ohara, N., Uchimura, T., & Kozaki, M. (1996). Microorganisms in Fermentation of Goishi-cha, Japanese Fermented Tea Leaves (Microorganisms Involving in the Fermentation of Japanese Fermented Tea Leaves Part II). **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**. 43(9), 1019-1027.
- Pelicano, E.R.L., Souza, P.A., & Souza, H.B.A. (2005). Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 7, 221-229.
- Popova, T. (2017). Effect of probiotics in poultry for improving meat quality. **Current Opinion in Food Science**. 14, 72-77.
- Sampanvejsobha, S., Laohakunjit, N., & Sumonpun, P. (2012). **Khrōngkān phatthanākān phalit miāng plōtphai** [Development of safe processing of miang]. Report of Thailand Science Research and Innovation.
- Serna-Cock L, & Vallejillo-Castillo V. (2013). Probiotic encapsulation. **African Journal of Microbiology Research**. 7, 4743-53.
- Siriwan, P., Maneewan, B., & Wanchaitanawong, P. (2008). Effect of Lactobacillus reuterii supplementation in diets on production performance and digestibility of nutrients in broilers. In **Proceedings of 46th Kasetsart University Annual Conference: Animals and Veterinary Medicine**. The Thailand Research Fund, Bangkok.
- Szliszka, E., & Krol, W. (2011). The role of dietary polyphenols in tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis for cancer chemoprevention. **European Journal of Cancer Prevention**. 20(1), 63-9.
- Tanasupawat, S., Pakdeeto, A., Thawai, C., Yukphan, P., & Okada, S. (2007). Identification of lactic acid bacteria from fermented tea leaves (miang) in Thailand and proposals of Lactobacillus thailandensis sp. Nov., Lactobacillus camelliae sp. Nov., and Pediococcus siamensis sp. Nov. **The Journal of General and Applied Microbiology**. 53(1) 7-15.
- Tellez, G., Pixley, C., Wolfenden, R.E., Layton, S.L., & Hargis, B.M. (2012). Probiotics/direct fed microbials for Salmonella control in poultry. **Food Research International**. 45(2), 628-633.

วันรับบทความ (Received date) : 23 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 30 ต.ค. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65

การใช้เศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีกเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารไก่ไข่ต่อ สมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

Use of Poultry Offal Waste as a Protein Source to Substitute Fish Meal in Laying Hen Diet on Production Performance and Egg Quality

วรินทร์ธร สิทธิสอน¹, บุญล้อม ชีวะอิสระกุล¹ และ SUCHON ตั้งทวีวัฒน์^{1*}

Waruntorn Sitisorn¹, Boonlom Cheva-Isarakul¹ and Suchon Tangtaweewipat^{1*}

บทคัดย่อ

เศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีก (Poultry offal waste; POW) จากการฆ่าและสัตว์ปีก มีโปรตีนและไขมันสูง แต่ก่อให้เกิดปัญหาผลกระทบต่อชุมชน การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับที่เหมาะสมของการใช้ POW เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น (FM) ในอาหารไก่ไข่ โดยใช้ไก่พันธุ์ไฮไลน์บราวน์ อายุ 48 สัปดาห์ จำนวน 600 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 40 ตัว เลี้ยงในกรงดับแบบบรรจุ 4 ตัว/กรง ซึ่งอยู่ในโรงเรือนปิด ด้วยระบบ Evaporative cooling system ไก่แต่ละกลุ่มได้รับอาหารที่มี POW ทดแทน FM ในสูตรอาหารระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100% โดยทุกสูตรมีการปรับโปรตีนให้เท่ากันที่ 16% ส่วน ME มีปริมาณสูงขึ้นตามระดับการใช้ POW การทดลองใช้แผน Completely randomized design ทดลองเป็นเวลา 24 สัปดาห์ ปรากฏว่า POW ที่ได้จากโรงงานฆ่าและไก่เนื้อในจังหวัดเชียงใหม่ เมื่อนำไปนึ่งภายใต้แรงดันที่ 30 psi อุณหภูมิ 135° ซ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาอบให้แห้ง มีโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้าเท่ากับ 66.10, 24.80, 0.37 และ 5.19% of air dry ตามลำดับ ซึ่งพบว่าโปรตีนและไขมันสูงกว่า แต่มีเถ้าต่ำกว่า FM เมื่อนำ POW ไปใช้ทดแทน FM ที่ระดับ 75 และ 100% มีผลทำให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ด้านความหนาและความแข็งแรงของเปลือกไข่ด้อยลง ในขณะที่น้ำหนักไข่ และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) โดยสรุป POW สามารถใช้ทดแทน FM ในอาหารไก่ไข่ระยะก่อนปลดระวางได้สูงสุดที่ระดับ 50% โดยไม่มีผลเสียต่อต้นทุนการผลิต คุณภาพไข่ และการให้ผลผลิตไข่

คำสำคัญ: เศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีก ปลาป่น ไก่ไข่ สมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่

Abstract

Poultry offal waste (POW) containing high protein and fat, from poultry slaughterhouses creates a pollution problem in the community. This study aimed to assess the optimum level of POW as a protein source to substitute fish meal (FM) in laying hen diet. Six hundred heads of 48-week-old HyLine Brown laying hens were used in a completely randomized design experiment of 24 weeks long. The hens were randomly divided into 5 treatments with 3 replicates per treatment. Each replicate consisted of 40 birds randomly placed in battery wire cages which contained 4 heads/cage in an Evaporative cooling house. Experimental diets were 0, 25, 50, 75 and 100% of POW substitution for FM. All diets were adjusted to be iso-nitrogenous at 16% CP. It was found that POW from a broiler

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200.

¹ Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Muang Chiang Mai, Chiang Mai, 50200.

¹ Corresponding author: agani002@gmail.com

slaughterhouse in Chiang Mai, was autoclaved at 30 psi, 135 °C for 5 minutes, and then was dried in a hot air oven, with air dry basis 66.10% CP, 0.37% CF and 5.19% EE. It had higher CP and EE, but lower ash than FM. The use of 75 and 100% POW to substitute FM decreased egg production, eggshell thickness and eggshell breaking strength, while feed cost per dozen eggs and egg weight were significantly higher as compared to the control group ($P < 0.05$). In conclusion, POW can be used to substitute FM in laying hen diets, during the last period before culling, up to 50% without adverse effect on production cost, egg quality and egg production.

Keywords: poultry offal waste, fish meal, laying hen, production performance, egg quality

คำนำ

ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารไก่ไข่ แต่ทว่าปลาป่นมักจะมีการปลอมปนด้วยวัตถุดิบอื่น ๆ เช่น ยูเรีย ขนไก่ป่น แกลบกึ่ง ทราเยลเยียด เปลือกหอยป่น หรือเศษเปลือกหอย ถ้านำปลาป่นชนิดนี้ไปให้สัตว์กินอาจจะทำให้ขาดฟอสฟอรัส หากการปลอมปนมีในระดับสูง (Srikijkasemwat et al., 2016) กรณีที่โรงงานใช้ปลาที่ไม่สดมักจะต้องเติมเกลือในปริมาณมาก เนื่องจากการทำปลาป่นต้องรีบนำปลาที่ได้เข้าเครื่องทันทีโดยไม่มีการแยกคุณภาพของวัตถุดิบ (Department of Industrial Works [DIW], 2012) ทำให้ปลาป่นที่ได้เค็ม มีโปรตีนต่ำ มีปริมาณเถ้าสูง นอกจากนี้ยังมีกระแสรณรงค์ให้ลดการใช้ปลาป่นในอาหารสัตว์ เนื่องจากถูกเพ่งเล็งว่าเป็นสาเหตุหนึ่งของการทำลายทรัพยากรสัตว์น้ำและเป็นการแย่งชิงทรัพยากรปลาที่เป็นอาหารของมนุษย์ เพราะปลาเศรษฐกิจขนาดเล็กจำนวนมากถูกจับโดยบังเอิญขณะทำประมงเชิงพาณิชย์และนำมาผลิตปลาป่น (Plaipetch, 2014) จากเงื่อนไขดังกล่าวมาทำให้มีการคาดการณ์ว่าการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารสัตว์จะลดลง ในขณะที่เดียวกันปลาป่นก็จะมีราคาสูงขึ้นตามการขาดแคลนเช่นกัน การใช้แหล่งอาหารสัตว์ที่ไม่แข่งขันกับแหล่งอาหารของมนุษย์ (Hosseinzadeh et al., 2010) อาจเป็นทางเลือกใหม่ในการใช้โปรตีนอื่นมาแทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารไก่ เช่น ผลพลอยได้จากการชำแหละและตกแต่งซากสัตว์ปีก (Salami, 1997) เนื่องจากการผลิตสัตว์ปีกเพื่อการบริโภคของมนุษย์ ทำให้เกิดผลพลอยได้จากกระบวนการชำแหละและตกแต่งซากเป็นจำนวนมาก (Çayan & Şahin, 2021) มีทั้งส่วนที่กินได้ และส่วนที่กินไม่ได้ (Udedibie et al., 1988) เศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีก (Poultry offal waste; POW) เป็นหนึ่งผลพลอยได้หรือเป็นของเสียที่ได้จากการชำแหละและการแปรรูป โดยส่วนที่กินไม่ได้ของสัตว์ปีก ได้แก่ กระเพาะพัก กระเพาะจริง ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ไส้ติ่ง เป็นต้น ซึ่งยังสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อได้ (Sahraei et al., 2012) นอกจากนี้ POW ยังเป็นวัตถุดิบคุณภาพสูงซึ่งประกอบด้วย โปรตีน 60% ไขมัน 17% และเถ้า 15% DM (Ravindran & Blair, 1993) Potter & Fuller (1967) กล่าวว่า เศษเหลือจากสัตว์ปีกมีลักษณะทางกายภาพเหมาะสมสำหรับผสมในอาหารสัตว์ สำหรับการนำ POW มาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารไก่ไข่ยังไม่มีการศึกษาในประเทศ แต่ในต่างประเทศมีการใช้หลายรายงานที่บ่งว่าสามารถใช้เป็นอาหารในไก่ไข่ได้ โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสีย เช่น Udedibie et al. (1988) ใช้ POW ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0%, 10%, 15% และ 20% มีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นตามระดับ POW ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร นอกจากนี้การผลิตไข่และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้นตามระดับการเพิ่ม POW ในสูตรอาหาร Samli et al. (2006) ศึกษาในไก่ไข่พันธุ์โบวานส์ ไวท์ อายุ 40 สัปดาห์ พบว่าสามารถใช้ POW ได้ที่ระดับ 10% และ 5% ตามลำดับ โดยไม่มีผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิตไข่ คุณภาพไข่ และต้นทุนในการเลี้ยง Isika et al.

(2006) ใช้ POW ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0%, 50% และ 100% ในไก่ไขโลห์มันน์ บราวน์ ปรากฏว่าไม่มีผลเสียต่อผลผลิตไข่ ความหนาของเปลือกไข่ ปริมาณอาหารที่กิน และ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ ซึ่งมีความแตกต่างจากรายงานการศึกษาในต่างประเทศ รวมทั้ง POW ที่ใช้ในครั้งนี้ไม่มีส่วนของ gilet (หัวใจตับ และกึ้น) ปนอยู่ด้วย ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ประโยชน์ POW ที่ได้จากโรงฆ่าและไก่เนื้อมาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่ ซึ่งอาจจะเป็นอีกทางเลือกสำหรับการใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น รวมถึงเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและอาจช่วยลดต้นทุนค่าอาหารลงได้

วิธีการศึกษา

การเตรียมวัตถุดิบ

POW ที่ใช้ทดลองในครั้งนี้เป็นเศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีกจากโรงงานฆ่าและตัดแต่งเนื้อไก่ในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งประกอบด้วยกระเพาะพัก กระเพาะจริง ลำไส้เล็ก (บางส่วน) ไส้ติ่ง ลำไส้ใหญ่ และตับอ่อน นำมาฆ่าเชื้อโดยวิธีการนึ่ง Autoclave (Jackson & Fulton, 1971) ภายใต้แรงดันที่ 30 psi อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทำการกรองแยกส่วนของน้ำออกไป นำ POW ไปอบให้แห้งด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันหรือจนกว่าจะแห้ง ทำการบดละเอียด นำ POW และอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ซึ่งประกอบด้วยวัตถุแห้ง (DM) โปรตีนรวม (Crude Protein; CP) เยื่อใยรวม (Crude Fiber; CF) ไขมัน (Ether Extract; EE) ตามวิธีที่อ้างอิงไว้โดย AOAC (AOAC, 1990) และวิเคราะห์ค่าพลังงานโดยใช้เครื่อง Isoperibol bomb calorimeter รุ่น AC500 ก่อนนำไปผสมในสูตรอาหารเพื่อใช้เลี้ยงไก่ไข่ทดลอง ณ ฟาร์มสัตว์ปีก ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สัตว์ทดลองและการจัดการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ไฮไลน์ บราวน์ อายุ 48 สัปดาห์ จำนวน 600 ตัว เลี้ยงในกรงตบจุชของละ 4 ตัว อยู่ภายในโรงเรือนไก่ไข่ที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม (อุณหภูมิ ความชื้น และการระบายอากาศ) ด้วยระบบการระเหยน้ำ (Evaporative cooling system) จำนวน 150 กรง (ช่อง) แบ่งไก่ทดลองออกโดยสุ่มเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 40 ตัว (10 ช่อง) ระยะเวลาทดลอง 168 วัน แบ่งเป็น 6 ช่วง (period) ช่วงละ 28 วัน มีรางอาหารอยู่ด้านหน้า โดยให้กินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ส่วนรางน้ำอยู่ด้านบนของกรงยาวติดต่อกันตลอดทั้งแถว ไก่มีน้ำกินตลอดเวลาด้วยที่ให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวหยด และได้รับแสงสว่างวันละ 16 ชั่วโมง ในแต่ละเช้า (10 ช่อง) รางอาหารถูกกั้นแยกออกจากกันด้วยแผงไม้ เพื่อป้องกันไม่ให้ไก่กลุ่มอื่นเข้ามากินอาหาร ทำการเก็บไข่ไก่ทุกวันเป็นเวลา 08.00, 12.00 น. และ 16.00 น. ให้ไก่ทดลองได้รับอาหาร 5 สูตร Table 1 ดังนี้ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมได้รับอาหารไม่มี POW ส่วนกลุ่มที่ 2-5 ได้รับอาหารที่มี POW แทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารระดับ 25, 50, 75 และ 100% การศึกษานี้ได้ปฏิบัติตามข้อกำหนดจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สัตว์เกษตร) ของคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เลขที่ AG02002/2565 สำหรับค่า ME ของ POW ที่ใช้คำนวณในสูตรอาหารทดลองครั้งนี้ใช้ค่า 4038.79 kcal/kg ซึ่งศึกษาไว้โดย Pingkasun et al., (ข้อมูลอยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

การบันทึกข้อมูลและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลสมรรถภาพการผลิตไข่ ประกอบด้วยการบันทึกปริมาณอาหารที่กินทุก 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนไข่ทุกวัน ส่วนน้ำหนักไข่เฉลี่ย บันทึกจากจำนวนไข่ทุกฟองของแต่ละเช้าใน 3 วันสุดท้ายของแต่ละช่วง (ช่วงละ 28 วัน) จากนั้นคำนวณค่ามวลไข่ ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่ 1 กก. หรือต่อการผลิตไข่ 1 โหล และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 โหล ส่วนอัตราการตายและความผิดปกติของไก่ทดลองบันทึกทุกครั้งที่พบเห็น

ทำการบันทึกข้อมูล คุณภาพไข่ ได้แก่ ค่าฮอฟฟิยูนิต (Haugh unit) ความแข็งแรงเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ และสีไข่แดง บันทึกจากจำนวนไข่ 5 ฟองของแต่ละเช้าใน 3 วันสุดท้ายของแต่ละช่วง (วันที่ 26, 27 และ 28) โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพไข่อัตโนมัติระบบดิจิทัล (Digital Egg Tester รุ่น DET 6000) โดยจะวัดน้ำหนักไข่ ค่าฮอฟฟิยูนิต ความแข็งแรงเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว และสีไข่แดง ส่วนความหนาเปลือกไข่ที่ลอกเยื่อหุ้มเปลือกไข่ออก วัดด้วยเครื่อง Dial thickness gauge โดยวัดจาก 3 ตำแหน่งคือ ด้านแหลม ด้านข้าง และด้านป้าน จากนั้นเฉลี่ยเป็นความหนาเปลือกไข่ของแต่ละฟอง

นำข้อมูลสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

Table 1 Feed formulation and nutrient composition of experimental laying hen diet containing poultry offal waste (POW) substituted to fish meal (FM) at different levels.

POW in diet (%)	0	2	4	6	8
POW substituted to FM (%)	0	25	50	75	100
Ingredients ^{1/} :					
Ground yellow corn grain	59.35	59.43	59.52	59.61	59.70
Rice bran	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
Soybean meal (44% CP)	11.77	11.48	11.18	10.87	10.60
Fish meal (61% CP)	8.00	6.00	4.00	2.00	0.00
POW (66% CP)	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.10	0.12	0.13	0.14	0.15
L-Lysine	0.00	0.02	0.05	0.08	0.10
Dicalcium phosphate (14% P)	0.83	1.00	1.17	1.35	1.45
Calcium carbonate (38% Ca)	7.20	7.20	7.20	7.20	7.25
Premix ^{2/}	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Calculated chemical composition (% air dry basis)					
Crude protein	16.10	16.11	16.13	16.13	16.16
Ether extract	3.41	3.97	3.53	4.63	5.10
Crude fiber	5.35	5.35	5.91	5.39	5.38
Crude ash	14.60	13.62	13.19	12.70	13.08
Metabolizable energy (kcal/kg)	2,849	2,868	2,886	2,904	2,922
Feed price (THB/kg) ^{3/}	13.34	13.44	13.54	13.64	13.73

^{1/} All diets were added on top 0.002% canthaxanthin pigment.

^{2/}mg/kg feed unless otherwise noted: Vitamin; A 12,000 IU, D₃ 2,400 IU, E 8, K₃ 2, B₁ 1, B₂ 4, B₆ 3, B₁₂ 0.01, Nicotinic acid 15, Pantothenic acid 9.5, Folic acid 0.5, Biotin 0.09, Choline chloride 65.25; Minerals; Fe 60, Cu 6, Mn 60, Zn 40, I 0.35, Se 0.01; Favoring agent 25 and Preservative 6.25.

^{3/} Ingredient cost (THB/kg air dry): Ground yellow corn grain 10.30, Rice bran 10.20, Soybean meal 19.20, Fish meal 38.40, POW 43.48, DL-Met 67.00, L-Lys 62.00, Dicalcium phosphate 12.00, Calcium carbonate 1.80, Salt 4.90, Vitamin-mineral premix 64.00

ผลการศึกษาและวิจารณ์

องค์ประกอบทางโภชนาของเศษเหลือเครื่องในสัตว์ปีก

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาของ POW พบว่า มีวัตถุแห้ง (Dry matter; DM) 93.51% ส่วนโภชนาอื่นคิดเป็นร้อยละของ Air dry ดังนี้ โปรตีน 66.10% ไขมัน 24.80% เยื่อใย 0.37% เถ้า 5.19% และพลังงานทั้งหมด (GE) 5,8734 kcal/kg แสดงไว้ใน Table 2 จะเห็นได้ว่า POW มีปริมาณโปรตีน และไขมันในสัดส่วนที่สูงกว่าปลาป่นประมาณ 5% และ 16% ตามลำดับ (66.10% vs 61.28% และ 24.80% vs 8.89% air dry ตามลำดับ) แต่มีเถ้าต่ำกว่า ซึ่งแสดงว่ามีส่วนของแร่ธาตุต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปลาป่นมีส่วนของกระดูกและก้างปลารวมด้วย จึงทำให้มีแร่ธาตุโดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียมและฟอสฟอรัสสูงกว่า POW สำหรับค่า GE พบว่า POW มีค่าสูงกว่าปลาป่นมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากมีไขมันในสัดส่วนที่สูงกว่ามาก

Table 2 Nutrient chemical composition of POW compared to FM (air dry basis).

Composition	POW ^{1/}	FM ^{1/}
Dry matter (%)	93.51	90.69
Crude protein (%)	66.10	61.28
Crude fat (%)	24.80	8.89
Crude ash (%)	5.19	21.21
Crude fiber (%)	0.37	0.09
Gross energy (kcal/kg)	5,874	3,894

^{1/} Analyzed at feed laboratory, Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University.

สมรรถภาพการผลิตไข่

ผลการใช้ POW แทนที่ปลาป่นในอาหารไก่ไข่ที่ระดับต่างๆ เป็นระยะ 6 เดือน แสดงไว้ใน Table 3 ปรากฏว่า แม่ไก่กินอาหารได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ตามการเพิ่มระดับ POW ในสูตรอาหาร ซึ่งทำให้ผลผลิตไข่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) การที่ปริมาณอาหารที่กินของไก่ในกลุ่มที่ได้รับอาหารมี POW ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมนั้น อาจมีสาเหตุเนื่องจากสูตรอาหารที่มี POW มี GE สูงกว่าปลาป่น ดังแสดงใน Table 2 จึงมีผลทำให้พลังงานใช้ประโยชน์ (ME) สูงขึ้นตามการเพิ่ม POW ในสูตรอาหารด้วย (Table 1) โดย POW จะมีค่า GE สูงกว่า FM ประมาณ 1,980 kcal/kg (ข้อมูลอยู่ระหว่างรอกการตีพิมพ์) ไก่ทดลองจึงกินอาหารได้ลดลงเมื่อเพิ่มระดับการใช้ POW ในสูตรอาหาร สอดคล้องกับ Mbajjorgu et al. (2011) ที่รายงานไว้ว่า ไก่จะกินอาหารตามปริมาณพลังงานที่ร่างกายต้องการ เมื่อได้พลังงานตามต้องการแล้วไก่จะหยุดกินอาหาร ด้วยเหตุนี้ปริมาณโปรตีนที่แม่ไก่ได้รับต่อวัน จึงมีปริมาณลดลงตามจำนวนอาหารที่กิน ซึ่งไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ผลิตไข่ (Tangtaweewipat & Cheva-Isarakul, 1991) สอดคล้องกับ Samli et al. (2006) ที่ได้ศึกษาการใช้ POW ที่ระดับ 0, 5 และ 10% ในอาหารไก่ไข่ พบว่าผลผลิตไข่ลดลงตามระดับการใช้ POW ในอาหาร การที่ผลผลิตไข่และปริมาณอาหารที่กินลดลงเมื่อให้อาหารที่มี POW ตามการศึกษาครั้งนี้ ให้ผลขัดแย้งกับรายงานของ Hosseinzadeh et al. (2010) ที่ศึกษาการใช้ POW ระดับ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5% ทดแทนการใช้ปลาป่นในอาหารไก่ไข่ ปรากฏว่า การใช้ POW ในอาหารทุกระดับไม่มีผลเสียต่อผลผลิตไข่เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาดังกล่าว มีการปรับสมดุลของ ME ให้เท่ากันทุกกลุ่ม จึงไม่ส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินและปริมาณโปรตีนที่แม่ไก่ได้รับต่อวัน เมื่อนำค่ามวลไข่และปริมาณอาหารที่กิน ไปคำนวณอัตราการใช้อาหาร (Feed conversion ratio) พบว่า การใช้ POW ในอาหารไก่ไข่ทุกระดับช่วยให้ค่าอัตราการใช้อาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. หรือ 1 โหล ดีขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Udedibie et al. (1988) ที่ได้ใช้ POW เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 10, 15 และ 20% พบว่า POW ในอาหารไก่ไข่ทุกระดับมีอัตราการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับผลด้านน้ำหนักไข่ พบว่า มีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในกลุ่มที่ใช้ POW แทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารระดับ 75 และ 100% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อนำค่าผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ไปหาค่ามวลไข่ตามผลที่ได้จากการศึกษานี้ พบว่าทุกกลุ่มให้ผลไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) สำหรับต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตไข่ 1 โหล ปรากฏว่า กลุ่มที่ใช้ POW ที่ระดับ 75 และ 100% มีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตไข่ 1 โหล ได้จากการคำนวณราคาอาหารคูณด้วยปริมาณอาหารที่กิน ซึ่งราคาต้นทุนของอาหารเพิ่มขึ้นตามระดับการใช้ POW คือ 13.34, 13.44, 13.54, 13.64 และ 13.73 บาท/กก. ตามลำดับ (Table 1) จึงเป็นสาเหตุให้กลุ่มที่ใช้ POW ระดับ 75 และ 100% มีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตไข่ 1 โหลสูงขึ้น

Table 3 Production performance of laying hens fed diet containing varying level of POW during 48-72 weeks of age.

POW in diet (%)	0	2	4	6	8	P-	SEM
POW substituted to FM (%)	0	25	50	75	100	value	
Hen day egg production (%)	87.23 ^a	87.02 ^a	87.23 ^a	86.59 ^b	86.48 ^b	0.001	0.090
Egg weight (g)	58.58 ^b	59.30 ^{ab}	58.59 ^b	59.59 ^a	59.66 ^a	0.014	0.153
Egg mass (g/day)	51.10	51.60	51.11	51.60	51.60	0.174	0.094
Feed intake (g/day)	110.25 ^a	109.30 ^b	108.59 ^c	108.03 ^{cd}	107.61 ^d	0.001	0.261
Feed conversion ratio							
(kg feed /kg egg)	2.16 ^a	2.12 ^{bc}	2.13 ^b	2.09 ^{cd}	2.08 ^d	0.001	0.007
(kg feed /dozen eggs)	1.51 ^a	1.50 ^{ab}	1.49 ^c	1.50 ^{bc}	1.49 ^c	0.003	0.009
Feed cost per							
dozen eggs (THB)	20.23 ^b	20.25 ^b	20.23 ^b	20.42 ^a	20.50 ^a	0.011	0.036
Kg egg (THB)	28.77	28.46	28.77	28.55	28.62	0.218	0.052
Mortality rate (%)	0.00	0.00	2.50	1.67	1.67	0.547	0.029

^{a-d} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

SEM=standard error of the mean; POW= Poultry offal waste

คุณภาพไข่

การให้ POW ในอาหารไก่ไข่ตลอดระยะเวลา 6 เดือนต่อคุณภาพไข่ ผลแสดงไว้ใน Table 4 ปรากฏว่าไม่มีผลเสียต่อคุณภาพไข่ในด้านน้ำหนักเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว ความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟฟยูนิต และน้ำหนักไข่แดง แต่ค่าสีไข่แดงมีความเข้มข้นตามระดับการเพิ่ม POW ในอาหาร (P<0.05) สอดคล้องกับรายงานของ Hosseinzadeh et al. (2010) ที่ใช้ POW ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5% มีผลทำให้สีไข่แดงเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการใช้ POW ระดับ 7.5% มีค่าสีไข่แดงสูงกว่าที่ระดับอื่น โดยให้เหตุผลว่าปริมาณไขมันใน POW อาจเป็นสาเหตุของการเพิ่มสีของไข่แดงเพราะช่วยเพิ่มการดูดซึมเม็ดสีจากอาหาร ซึ่งในไข่แดงจะมีโปรตีนและไขมันเป็นองค์ประกอบ (Lokaewmanee et al., 2016) อย่างไรก็ตามการเพิ่มระดับการใช้ POW มีผลทำให้ค่าความหนาและความแข็งแรงของเปลือกไข่ลดลงตามการเพิ่ม POW ในอาหาร โดยเฉพาะการใช้ POW แทนที่ปลาป่นระดับ 75 และ 100% มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) อนึ่งมีข้อสังเกตได้ว่าเมื่อขนาดฟองไข่โตขึ้น ความหนาเปลือกไข่จะลดลงซึ่งสอดคล้องกับ Olugbermi et al. (2010) ที่รายงานว่า น้ำหนักไข่จะมีความสัมพันธ์ผกผันกับความหนาเปลือกไข่ จึงมีผลทำให้การใช้ POW แทนที่ปลาป่นระดับ 75 และ 100% มีความหนาเปลือกไข่และความแข็งแรงของเปลือกไข่น้อยกว่ากลุ่มอื่น นอกจากนี้ยังมีสาเหตุเนื่องจาก POW มีแร่ธาตุน้อยกว่า FM อีกด้วย ซึ่งปรากฏว่ามีไข่ที่ต่ำกว่าดังได้กล่าวมาแล้วใน Table 2

Table 4 Egg quality of laying hens feed diet containing varying level of POW during 48-72 weeks of age.

POW in diet (%)	0	2	4	6	8	P-value	SEM
POW substituted to FM (%)	0	25	50	75	100		
Shell weight (g)	6.40	6.38	6.48	6.46	6.36	0.913	0.040
Yolk weight (g)	16.06	16.12	16.08	16.19	16.17	0.882	0.042
Albumen weight (g)	36.81	37.39	37.02	37.16	37.10	0.657	0.113
Albumen height (mm)	9.12	9.03	9.11	9.03	9.08	0.425	0.018
Haugh unit	95.12	94.67	94.85	94.91	95.06	0.229	0.067
Egg yolk color (Score) ^{1/}	10.36 ^c	10.45 ^c	10.63 ^b	10.73 ^b	10.92 ^a	0.000	0.057
Egg shell thickness (mm)	0.385 ^a	0.385 ^a	0.382 ^{ab}	0.378 ^b	0.377 ^b	0.011	0.001
Egg shell strength (kg/cm ²)	4.39 ^a	4.42 ^a	4.34 ^{ab}	4.27 ^b	4.24 ^b	0.018	0.022

^{1/} Roche yolk color fan

^{a-d} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

SEM=standard error of the mean; POW= Poultry offal waste

สรุปผลการศึกษา

การใช้ POW ทดแทนปลาป่นในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0%, 25% และ 50% ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตไข่และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่การใช้ POW ที่ระดับ 75 และ 100% มีผลทำให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ด้านความหนาและความแข็งแรงแรงของเปลือกไข่ด้อยลง ในขณะที่ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 โทล และน้ำหนักไข่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้ POW เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารไก่ไข่ระยะก่อนปลดระวางได้สูงสุดที่ระดับ 50% โดยไม่มีผลเสียต่อต้นทุนการผลิต การให้ผลผลิตและคุณภาพไข่

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- A.O.A.C. (1990). **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Çayan, H., & Şahin, A. (2021). Laying hens behave as omnivores with poultry meal included in their diet. **South African Journal of Animal Science**. 51(3), 280-289. Doi: 10.4314/sajas.v51i3.1.
- Department of Industrial Works. (2012). **khūmā kānchatkān singwætloṃ samrap ‘utsāhakam kānphalit plā pon** [Environmental Management Manual for Fishmeal Production Industry]. Bangkok: Department of Industrial Works.
- Gümüş, E. & Aydın, B. (2013). Effect of poultry by-product meal on growth performance and fatty acid

- composition of carp (*Cyprinus carpio*) fry. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 13, 827-834. Doi: 10.4194/1303-2712-v13_5_06.
- Hosseinzadeh, M. H., Ebrahimnezhad, Y., Janmohammadi, H., Ahmadzadeh, A. R., & Sarikhan, M. (2010). Poultry byproduct meal: Influence on performance and egg quality traits of layers. **International Journal of Agriculture and Biology**. 12, 547-550. Retrieved from http://www.fspublishers.org/published_papers/18806_.pdf
- Jackson, N. & Fulton, R. B. (1971). Composition of feather and offal meal and its value as a protein supplement in the diet of broilers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 22(1), 38-42. Doi: 10.1002/jsfa.2740220112.
- Lokaewmanee, K., Pramul, A. & Kotmanee, A. (2016). phon khōng kǎn sǎm dōkthōng kwā wō phong nai 'āhān kai khai tōsāmatphāp kǎnphalit læ khunnaphāp khai [Effect of *butea monosperma* (lam.) taub flower powder supplementation in layer diet on egg production and egg quality]. **King Mongkut's Agricultural Journal**. 34 (3), 86-95. Retrieved from <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agritechjournal/article/view/180991/128421>.
- Mbajjorgu, C. A., Hgambi, J. W. & Norris, D. (2011). Effect of varying dietary energy to protein ratio level on growth and productivity of indigenous venda chickens. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**. 6(4), 344-352. Doi: 10.3923/ajava. 2011.344.352.
- Olugbemi, T. S., Mutayoba, S. K., & Lekule, F. P. (2010). Evaluation of *moringa oleifera* leaf meal inclusion in cassava chip based diets fed to laying birds. **Livestock Research for Rural Development**. 22 (6), 118. Retrieved from <https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd22/6/olug22118.htm>.
- Plaietch, P. (2014). kǎn thǎn thī plā pōn duāi kai pōn læ nuā læ krādūk pōn nai sūt 'āhān plāka phong khāo [Dietary fishmeal replacement with poultry by-product meal and meat and bone meal for asian sea bass]. **Thai Fisheries Gazette**. 69(4), 351-364. Retrieved from https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20170418143947_file.pdf.
- Potter, D. K. & Fuller, M. F. (1967). The nutritional value of poultry offal meal in chick diets. **Poultry Science**. 46, 255-257. Doi: 10.3382/ps.0460255.
- Ravindran, V. & Blair, R. (1993). Feed resources for poultry production in Asia and the Pacific. III. Animal protein sources. **World's Poultry Science Journal**. 49(3), 219-235. Doi: 10.1079/WPS19930020.
- Sahraei, M., Lootfollahian, H., & Ghanbari, A. (2012). Effect of poultry by product meal on performance parameters, serum uric acid concentration and carcass characteristics. **Iranian Journal of Applied Animal Science**. 2(1), 73-77. Retrieved from <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=268665>.
- Salami, R. I. (1997). Replacement value of poultry visceral offal meal for fish meal in layers' diets. **Nigerian Journal of Animal Production**. 24(1), 37-42. Doi: 10.51791/njap.v24i1.2348.
- Samli, H. E., Senkoğlu, N., Özduven, M. L., Akyurek, H., & Ağma, A. (2006). Effects of poultry by product meal on laying performance egg quality and storage stability. **Pakistan Journal of Nutrition**. 5(1), 06-09. Retrieved from <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.505.175&rep=rep1&type=pdf>.
- Srikijkasemwat, K., Klompanya, A., & Suksupath, K. (2016). kǎnpramōn khunnaphāp læ kǎn trūatkǎn plōmpon nai plā pōn thī chāi nai 'utsāhakam kǎnliāng sat [Quality evaluation and contamination testing in the fish meal used for livestock production industry]. **Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine**, 11(2), 91-100. Retrieved from <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/jmvm/article/view/133900>.
- Tangtaweewipat, S. & Cheva-Isarakul, B. (1991). kǎnchāi malet thāntawan radap sūng nai 'āhān kai khai [The use of high levels of sun-flower seed in layer diets]. **Journal of Agriculture**. 7(3), 275-288.

Retrieved from <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu/article/view/247695>.

Udedibie, A. B. I., Anyanwu, G., Ukpai, U. I. & Oyet, A. J. (1988). Poultry offal meal as protein supplement for laying hen and finisher broilers. **Nigerian Journal of Animal Production**. 15, 103-109. Doi: 10.51791/njap.v15i.1217.

วันรับบทความ (Received date) : 28 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 3 พ.ย. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65

สารเคลือบไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูต่อคุณภาพไข่และอายุการเก็บรักษาไข่ไก่

Chitosan and Clove Essential Oil Coating on Egg Quality and Shelf Life of Chicken Eggs

ณัฐา จรรย์มรรณกุล^{1*} และ นิภารัตน์ ศรีธเรศ¹Nattha Jariyapamornkoon^{1*} and Niparat Sritharet¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูต่อคุณภาพไข่และอายุการเก็บรักษาไข่ไก่ ทำการทดลองในไข่ไก่จำนวน 300 ฟอง เคลือบไข่ไก่ด้วยสารละลายไคโตซานเข้มข้น 2 % ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกานพลูเข้มข้น 1% 2.5% และ 5% เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าคุณภาพไข่ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก ค่าฮอกกยูนิต ดัชนีไข่แดง ดัชนีไข่ขาว ความสูงของช่องอากาศ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของไข่ขาว ในวันที่ 0 7 14 21 28 และ 35 ของการทดลอง ผลการทดลองพบว่า ไข่ไก่ที่ได้รับการเคลือบไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเข้มข้น 2.5% และ 5% มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และค่าความสูงของช่องอากาศต่ำกว่าไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในวันที่ 28 และ 35 นอกจากนี้ไข่ที่เคลือบสารประกอบของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเข้มข้น 2.5% และ 5% สามารถรักษาค่าฮอกกยูนิต ค่าดัชนีไข่ขาว ค่า pH ของไข่ขาวได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นในวันที่ 35 ผลดังกล่าวอาจเกิดจากความสามารถของสารเคลือบในการปิดรูพรุนบนผิวเปลือกไข่ จึงช่วยชะลอการสูญเสียน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางรูพรุน ดังนั้นการเคลือบไข่ไก่ด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่มีความเข้มข้น 2.5% และ 5.0% อาจรักษาคุณภาพไข่และยืดอายุการเก็บรักษาไข่ไก่ได้นานถึง 35 วัน

คำสำคัญ: ไคโตซาน น้ำมันหอมระเหยกานพลู การเคลือบ คุณภาพไข่ ไข่ไก่

Abstract

The purpose of this study was to examine the effects of chitosan and clove essential oil coating on egg quality and shelf life of chicken eggs. A total of 300 chicken eggs were tested by coating a 2% chitosan mixture with clove essential oil concentrations of 1, 2.5 and 5 % before being stored at room temperature. Egg quality in terms of percentages of weight loss, Haugh unit, yolk and albumen indices, pH of albumen and air cell height was determined at days 0, 7, 14, 21, 28, and 35 of the study. Results revealed that the chicken eggs with chitosan and clove essential oil coating at 2.5 and 5 % had significantly ($P<0.05$) lower percentages of weight loss and air cell height than the uncoated eggs at day 28 and 35. Furthermore, chicken eggs with chitosan and clove essential oil coating at 2.5 and 5 % can maintain the highest values of Haugh unit, albumen index and pH of albumen on the

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

¹ Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

* Corresponding author, Email: jnattha@tu.ac.th

thirty-fifth day, compared to the other groups. These results may be due to the coating blocking eggshell pores, thereby reducing evaporation and carbon dioxide loss. Therefore, coating of chitosan and clove essential oil at 2.5 and 5% can preserve chicken egg quality and shelf life for up to 35 days.

Keywords: chitosan, clove essential oil, coating, egg quality, chicken eggs

คำนำ

คุณภาพของไข่ไก่มักลดลงเมื่อเวลาผ่านไป เนื่องจากความเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เช่น การระเหยของน้ำ การสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านทางรูพรุนบนผิวเปลือกไข่ การแพร่เข้าของอากาศภายนอก ส่งผลทำให้คุณภาพของไข่ไก่เสื่อมลง เช่น การสูญเสียน้ำหนัก การลดลงของคุณภาพไข่ขาว ไข่แดง การเพิ่มขึ้นของขนาดช่องอากาศ (air cell) ภายในฟองไข่ (Stadelman, 2017) นอกจากระยะเวลาแล้ว ปัจจัยในการเก็บรักษาเช่น อุณหภูมิ ความชื้น ตลอดจนเชื้อจุลินทรีย์บนเปลือกไข่ ล้วนมีผลอย่างมากต่ออายุการเก็บรักษาของไข่ไก่ (Padron, 1990; Vlčková et al., 2019) การใช้สารเคลือบเพื่อปิดรูพรุนบนผิวเปลือกไข่เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยชะลอการเสื่อมของคุณภาพไข่ไก่ และยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น ปัจจุบันมีข้อมูลการใช้สารต่าง ๆ ในการเคลือบเปลือกไข่ไก่ เช่น น้ำมันพืช (Nongtaodum et al., 2013) น้ำมันแร่ (Jirangrat et al., 2010) ขี้ผึ้ง (Mudannayaka et al., 2016) รวมทั้งไคโตซาน (Suresh et al., 2015) เป็นต้น

ไคโตซานเป็นสารโพลีเมอร์ชีวภาพ ซึ่งสังเคราะห์มาจากกระบวนการ deacetylation ของไคติน โดยทั่วไปไคตินเป็นสารที่สกัดจากส่วนประกอบของสัตว์เช่น เปลือกกุ้ง ปู แกนปลาหมึก รวมทั้งสาหร่าย เชื้อรา ยีสต์ (Bhale et al., 2003) ไคโตซานมีคุณสมบัติในการแตกตัวได้ดีในกรดอินทรีย์และมีความสามารถในการละลายที่สูงกว่าไคติน (Winterowd & Sandford, 1995; Pirak, 2012) ทำให้ไคโตซานสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในรูปแบบหลายหลาย เช่น สารละลาย แผ่นฟิล์ม เส้นใย เป็นต้น นอกจากนี้ไคโตซานยังเป็นสารค่อนข้างปลอดภัย ไม่เป็นพิษ และมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *S. aureus*, *E. coli* (Zheng & Zhu, 2003) ฟิล์มของไคโตซานจะรบกวนการส่งผ่านสารเข้าออกเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติการเลือกผ่านสารของเซลล์ ส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ตาย (Zhong et al., 2011) และจากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า มีการใช้สารละลายไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น อบเชย โหระพา เพื่อเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร (Zivanovic et al., 2005; Vandyousefi & Bhargava, 2017)

น้ำมันหอมระเหยกานพลูมีส่วนประกอบสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียและเชื้อรา (Nuñez & Aquino, 2012; Hu et al., 2018, Wang et al., 2018) จากการศึกษา ก่อนหน้านีพบว่า ฟิล์มไคโตซานที่ผสมน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ขึ้นไป สามารถช่วยลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* ในหลอดทดลองได้ (Lekjing & Chinarak, 2018) ดังนั้นการประยุกต์ใช้สารละลายไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกานพลูในการเคลือบไข่ไก่ จึงอาจเป็นการช่วยเสริมฤทธิ์กันเพื่อเคลือบปิดรูพรุนที่เปลือกไข่และเพิ่มความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ให้ดียิ่งขึ้น อาจส่งผลช่วยรักษาคุณภาพไข่และยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีข้อมูลการใช้สารเคลือบไข่ไก่ที่ประกอบด้วยไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกานพลู การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูต่อคุณภาพไข่และอายุการเก็บรักษาไข่ไก่

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างไข่ไก่และการเตรียมสารเคลือบไข่ไก่

ไข่ไก่สดที่มีน้ำหนักต่อฟองระหว่าง 60-70 กรัม จำนวน 300 ฟอง ใช้แผนแบบการทดลองสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยจัดกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม ดังนี้ 1) ไข่ไก่ที่ไม่มีสารเคลือบ (กลุ่มควบคุม) 2) ไข่ไก่ที่เคลือบด้วยโคโตซาน 3) ไข่ไก่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากพลูที่ความเข้มข้น 1% 4) ไข่ไก่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากพลูที่ความเข้มข้น 2.5% และ 5) ไข่ไก่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากพลูที่ความเข้มข้น 5%

เตรียมสารละลายโคโตซาน 2.0 % (w/v) โดยทำละลายโคโตซาน (540 kDa) ด้วยสารละลายกรดอะซิติก 2.0 % (v/v) ทำการเติมสาร Tween 80 ลงไป และกวนจนกว่าสารละลายเข้ากันดี จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยจากพลู ที่ความเข้มข้น 1% 2.5% และ 5% กวนจนกว่าสารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

เคลือบไข่ไก่ตามกลุ่มทดลองที่กำหนดไว้ โดยทำการเคลือบด้วยแปรงซิลิโคน ทำให้สม่ำเสมอทั่วทั้งฟองและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง วางด้านแหลมลงบนชั้นวางไข่ที่กำหนดไว้ ไข่ทั้งหมดถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ทำการประเมินคุณภาพจากตัวอย่างไข่ไก่ 5 กลุ่ม กลุ่มทดลองละ 10 ฟอง ในวันที่ 0 7 14 21 28 และ 35 ของการทดลอง โดยทดสอบการสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ค่าฮอกยูนิท (Haugh Unit) ค่าดัชนีไข่แดง (yolk Index) ค่าดัชนีไข่ขาว (albumen Index) ค่ากรด-ด่างของไข่ขาว (pH of albumen) และค่าความสูงของช่องอากาศ (air cell height)

การวัดคุณภาพไข่

หาค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของไข่ไก่ทั้งฟองระหว่างการเก็บรักษา ใช้เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง เพื่อชั่งน้ำหนักไข่ (กรัม) แล้วคำนวณจากสูตร %การสูญเสียน้ำหนัก = $[(\text{น้ำหนักไข่เริ่มต้น} - \text{น้ำหนักไข่หลังการเก็บรักษา}) / \text{น้ำหนักไข่เริ่มต้น}] \times 100$

ทำการวัดค่าฮอกยูนิท (Haugh Unit) จากการวัดความสูงของไข่ขาวด้วยเครื่อง Tripod Micrometer (TSS ประเทศอังกฤษ) และวัดน้ำหนักไข่ไก่ เพื่อนำมาคำนวณจากสูตร Haugh unit (HU) = $100 \times \log (H - 1.7W^{0.37} + 7.57)$ (Haugh, 1937) แทนค่า H คือ ความสูงของไข่ขาว (มิลลิเมตร) และ W คือน้ำหนักของไข่ (กรัม)

วัดค่าดัชนีไข่แดง และไข่ขาว โดยทำการวัดความสูงของไข่แดงและไข่ขาวด้วยเครื่อง Tripod Micrometer (TSS ประเทศอังกฤษ) และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางไข่แดงและไข่ขาวด้วยเครื่องเวอร์เนียร์คาลิเปอร์แบบดิจิตอล เพื่อนำมาคำนวณหาค่าจากสูตร ค่าดัชนีไข่แดง = $\text{ความสูงของไข่แดง} / \text{ความกว้างของไข่แดง}$ (Bhale et al., 2003) และ ค่าดัชนีไข่ขาว = $\text{ความสูงของไข่ขาว} / ((\text{ความยาวของไข่ขาว} + \text{ความกว้างของไข่ขาว}) / 2)$ (Heiman & Carver, 1936)

วัดค่ากรด-ด่าง (pH) ของไข่ขาว ด้วยเครื่อง pH meter (Apera รุ่น PH 60 pH tester ประเทศจีน) และบันทึกค่าที่ได้ วัดค่าความสูงของช่องอากาศ (air cell height) ด้วยเครื่องเวอร์เนียร์คาลิเปอร์แบบดิจิตอล โดยวัดจากระยะห่างระหว่างเปลือกไข่และเยื่อหุ้ม (มิลลิเมตร)

นำค่าที่ได้จากการทดสอบคุณภาพไข่ของแต่ละกลุ่มทดลองมาคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics V22.0)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

จากการประเมินการสูญเสียน้ำหนักพบว่า การสูญเสียน้ำหนักของไข่จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง พบเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงสุดในวันที่ 35 โดยพบว่า ไข่ที่เคลือบเฉพาะโคโตซาน ไข่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5% มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบ (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 35 (Figure 1) ในขณะที่ผลการทดลองในวันที่ 21 พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบ (กลุ่มควบคุม) ไข่ที่เคลือบเฉพาะโคโตซาน ไข่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5% ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ซึ่งผลอาจเกิดจากน้ำหนักเริ่มต้นและลักษณะเฉพาะของไข่แต่ละฟองในกลุ่มทดลอง และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่างไข่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5% ในวันที่ 35 โดยไข่ที่เคลือบด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 5% มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่ากลุ่มอื่นเล็กน้อย ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่า การเคลือบไข่ด้วยโคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู อาจมีผลช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักของไข่ไก่ได้ เนื่องจากสารเคลือบลักษณะเป็นชั้นเคลือบผิวภายนอก จึงช่วยปิดรูพรุนบนเปลือกไข่ ทำให้ชะลอการระเหยของน้ำ การสูญเสียความชื้นออกจากฟองไข่ จึงช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้

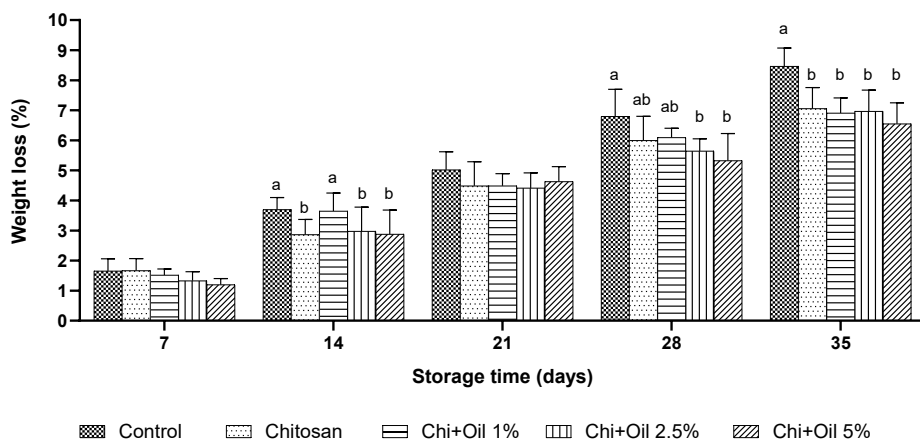


Figure 1 Percentage of weight loss of noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{ab} means significant difference ($P < 0.05$) among different treatments in the same day.

จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า การเคลือบไข่ด้วยไคโตซานสามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักของไข่ไก่ได้ (Kim et al., 2009) และการใช้สารเคลือบที่มีส่วนประกอบของไคโตซานและน้ำมันแร่สามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้มากกว่าการเคลือบด้วยไคโตซานเพียงอย่างเดียว (Torrico et al., 2011) และการเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยอบเชย (Vandyousefi & Bhargava, 2017) และน้ำมันถั่วเหลือง (Wardy et al., 2013) ในสารเคลือบไคโตซานสามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักของไข่ไก่ได้มากขึ้น

ค่าฮอกยูนิต (Haug unit, HU)

ค่าฮอกยูนิตเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณความสูงของไข่ขาวและน้ำหนักไข่ บ่งชี้ถึงคุณภาพ ความสด และเกรดของไข่ไก่ ค่าฮอกยูนิตที่สูงหมายถึงไข่ที่มีคุณภาพดี โดยทั่วไปค่าฮอกยูนิตจะลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา แปรตามค่าความสูงไข่ขาวและน้ำหนักไข่ที่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไปมากขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโอโวมิวซินและไลโซไซม์ (ovomucin – lysozyme complex) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาสภาพความหนืด (viscoelasticity) ของไข่ขาวขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษาไข่ไก่จะสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางรูพรุนบนผิวเปลือกไข่ ทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้นจนมีผลต่อความเสถียรของโปรตีนดังกล่าว ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของไข่ขาว จึงเป็นสาเหตุให้ไข่ขาวเหลวลง ความสูงไข่ขาวลดลง (Lucisano et al., 1996)

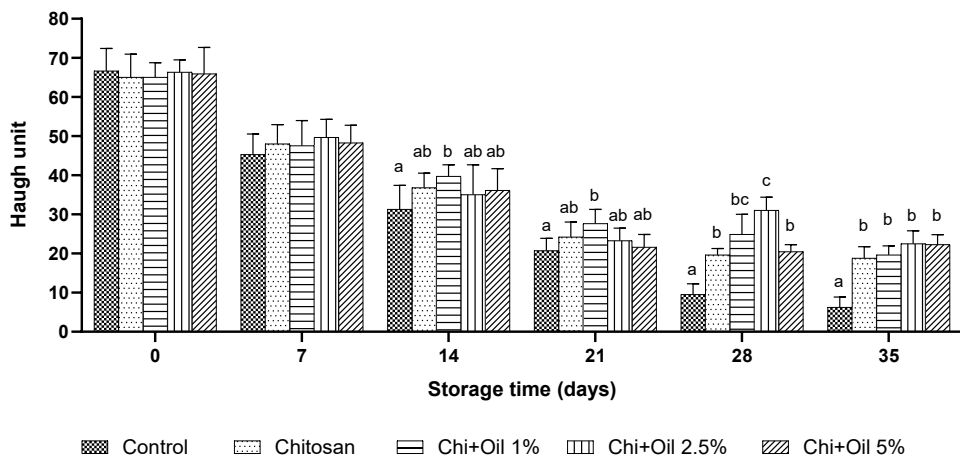


Figure 2 Haugh unit of noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{abc} means significant difference ($P<0.05$) among different treatments in the same day.

การทดลองนี้พบว่า ค่าฮอกยูนิตลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบ (กลุ่มควบคุม) มีค่าฮอกยูนิตต่ำกว่าไข่ที่ได้รับการเคลือบ (ไข่ที่เคลือบเฉพาะไคโตซาน ไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 28 และ 35 (Figure 2) โดยไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 2.5% และ 5% มีค่าฮอกยูนิตสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นที่ได้รับการเคลือบเล็กน้อยในวันที่ 35 จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า การเคลือบไข่ด้วยไคโตซานสามารถช่วยชะลอการลดลงค่าฮอกยูนิตของไข่ไก่ได้ (Xu et al., 2018) การใช้สารเคลือบที่มีส่วนประกอบของไคโตซานและน้ำมันระเหยอบเชยสามารถช่วยรักษาค่าฮอกยูนิตได้มากกว่าการ

เคลือบด้วยไคโตซานเพียงอย่างเดียว และการเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยอบเชยในสารเคลือบไคโตซาน มีผลช่วยชะลอการลดลงค่าฮอกยูนิตของไข่ไก่ได้มากขึ้น (Vandyousefi & Bhargava, 2017) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารเคลือบไข่ช่วยปิดรูพรุนบนเปลือกไข่ ทำให้ชะลอการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากฟองไข่ ค่า pH เปลี่ยนแปลงช้าลง ทำให้ไข่ขาวอ่อนตัวช้ากว่าไข่ที่ไม่มีการใช้สารเคลือบปิดรูพรุน

ค่าดัชนีไข่แดงและดัชนีไข่ขาว

ค่าดัชนีไข่แดงแสดงถึงคุณภาพและความสดของไข่ไก่ คำนวณจากความสูงและความกว้างของไข่แดง ซึ่งแปรตามคุณภาพของเยื่อหุ้มไข่แดง (vitelline membrane) โดยทั่วไปค่าดัชนีไข่แดงจะลดลงตามระยะเวลาเก็บรักษา เนื่องจากความสูงของไข่แดงลดลงจากการอ่อนตัวลงของเยื่อหุ้มไข่แดง และการแพร่เข้าของน้ำจากไข่ขาวตามแรงดันออสโมซิส (Xu et al., 2018) ส่วนค่าดัชนีไข่ขาวบ่งชี้ถึงคุณภาพและความสดของไข่ไก่เช่นกัน โดยค่าดัชนีไข่ขาวจะลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านไป มีการอ่อนตัวลงของไข่ขาวชั้น (Heiman & Carver, 1936) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโอโวมิวซินและไลโซไซม์ ซึ่งแปรตามค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Lucisano et al., 1996)

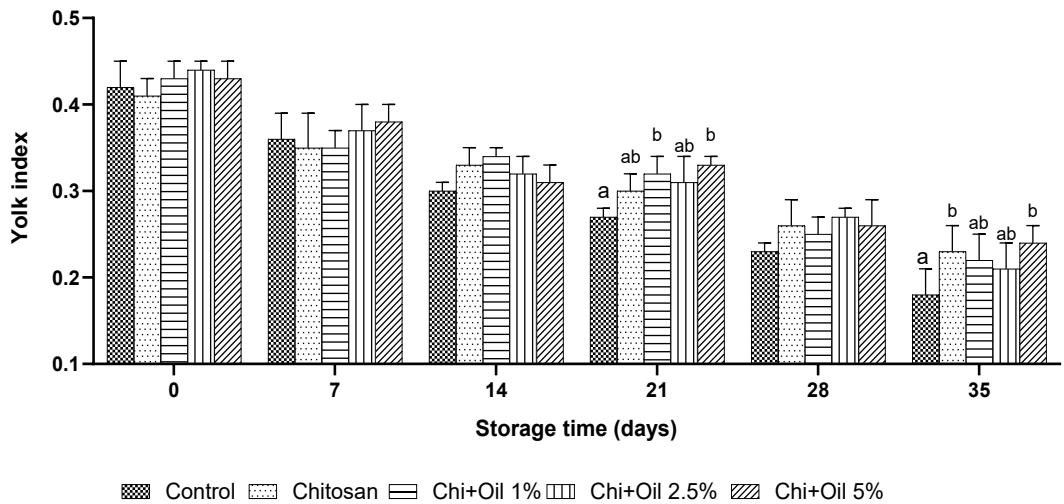


Figure 3 Yolk index of noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{ab} means significant difference ($P<0.05$) among different treatments in the same day.

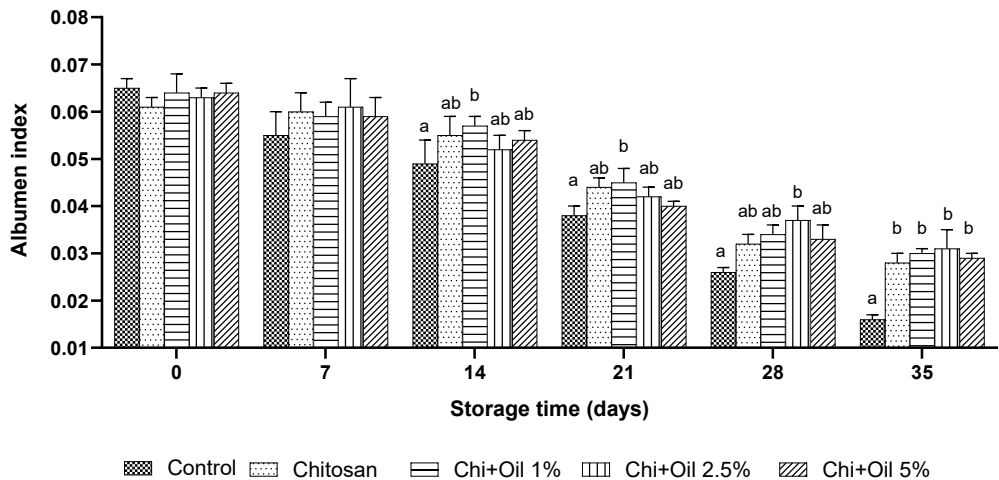


Figure 4 Albumen index of noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{ab} means significant difference ($P < 0.05$) among different treatments in the same day.

จากการศึกษาพบว่า ค่าดัชนีไข่แดงและไข่ขาวของทุกกลุ่มทดลองลดลงตามระยะเวลาเก็บรักษา (Figure 3 and 4) โดยพบว่า ค่าดัชนีไข่แดงของไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบ (กลุ่มควบคุม) มีค่าต่ำกว่าไข่ที่ได้รับการเคลือบ (ไข่ที่เคลือบเฉพาะไคโตซาน ไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5%) ในวันที่ 21 และ 35 ของการทดลอง และพบว่า ไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 5% มีค่าดัชนีไข่แดงสูงกว่ากลุ่มอื่นที่ได้รับการเคลือบเล็กน้อยในวันที่ 21 และ 35 ของการทดลอง แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่างไข่ที่ได้รับการเคลือบ ส่วนค่าดัชนีไข่ขาวของไข่ที่ไม่ได้รับการเคลือบ (กลุ่มควบคุม) มีค่าต่ำกว่ากลุ่มไข่ที่ได้รับการเคลือบ (ไข่ที่เคลือบเฉพาะไคโตซาน ไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5%) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในวันที่ 14 21 28 และ 35 และพบว่า ไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 2.5% มีค่าดัชนีไข่ขาวสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นที่ได้รับการเคลือบเล็กน้อย ในวันที่ 28 และ 35 การศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า ไข่ไก่ที่เคลือบไคโตซานมีการลดลงของค่าดัชนีไข่แดงช้ากว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเคลือบ หลังจากเก็บรักษานาน 5 สัปดาห์ (Bhale et al., 2003; Wardy et al., 2013) บ่งชี้ว่า การเคลือบไข่ด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู อาจมีผลช่วยชะลอการเสียสภาพของไข่แดงและไข่ขาว เนื่องจากสารเคลือบช่วยลดการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางรูพรุนบนเปลือกไข่ จึงชะลอการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนในไข่ขาว และลดการแพร่ของน้ำจากไข่ขาวเข้าสู่ไข่แดง (Xu et al., 2018)

ค่า pH ของไข่ขาว

ค่า pH ของไข่ขาวแสดงถึงคุณภาพไข่และความสดของไข่ ไข่สดที่เพิ่งออกมาจากแม่ไก่ ครมมีค่าระหว่าง 7.6 - 8.7 (Keener et al., 2001) และเมื่อเวลาผ่านไป ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในฟองไข่จะแพร่ออกสู่ภายนอก ทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น อาจพบค่า pH ได้ถึง 9.6-9.7 ในระหว่างการเก็บรักษา (Torrico et al., 2011) ผลการทดลองนี้พบว่า ตัวอย่างไข่ไก่มีค่า pH ของไข่ขาว ตั้งแต่ 8.44 - 9.68 ในระยะเวลา 35 วันของการทดลอง (Figure 5) โดยกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นไข่ที่ไม่มีการเคลือบ มีค่า pH มากกว่ากลุ่มไข่ที่ได้รับการ

เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 14 21 และ 35 แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่างไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานเพียงอย่างเดียว และไข่ที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 1% 2.5% และ 5% การศึกษาก่อนหน้าพบว่า สารเคลือบไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า pH ของไข่ขาวได้ (Vandyousefi & Bhargava, 2017) และสารเคลือบไคโตซานผสมน้ำมันถั่วเหลืองสามารถช่วยลดค่า pH ของไข่ขาวระหว่างเก็บรักษาไข่ไก่ได้ เนื่องจากสารเคลือบช่วยชะลอการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Wardy et al., 2011)

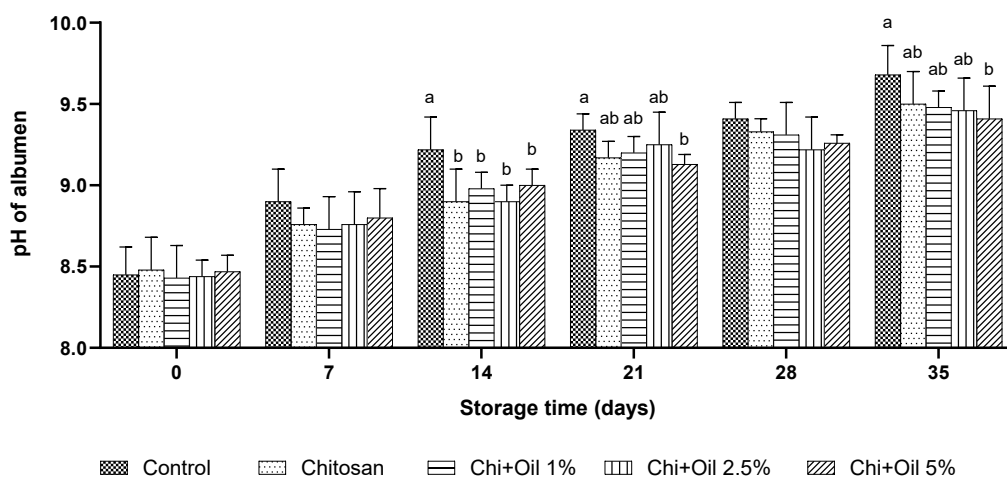


Figure 5 pH values of albumen in noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{ab} means significant difference ($P < 0.05$) among different treatments in the same day.

ค่าความสูงของช่องอากาศ (air cell height)

ความสูงของช่องอากาศ (air cell) เป็นค่าที่วัดระหว่างเปลือกไข่และเยื่อหุ้ม บ่งชี้ถึงความสดของไข่ ในระหว่างเก็บรักษา ขนาดของช่องอากาศจะเพิ่มขึ้นจากการแยกกันของเยื่อหุ้มเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นใน เนื่องจากการสูญเสียน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไป และมีอากาศภายนอกเข้ามาแทน อายุการเก็บรักษาที่นาน ส่งผลให้ความสูงของช่องอากาศเพิ่มขึ้น (Samli et al., 2005)

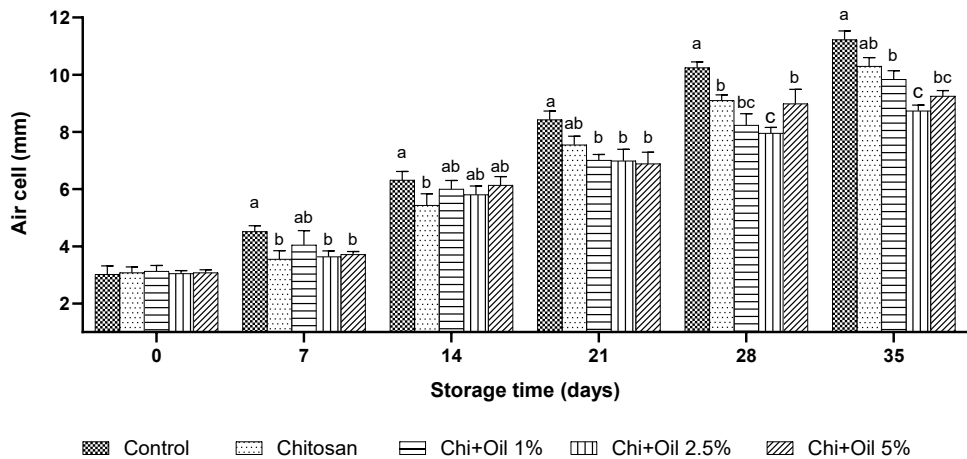


Figure 6 Air cell height of noncoated and coated eggs in 5 treatments. ^{abc} means significant difference ($P < 0.05$) among different treatments in the same day.

ผลการทดลองนี้พบว่า ค่าความสูงของ air cell เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษาไข่ โดยกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นไข่ที่ไม่มีเคลือบ มีค่า air cell มากที่สุดในวันที่ 7 14 21 28 และ 35 (Figure 6) และพบว่า ตัวอย่างที่เคลือบด้วยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลู 2.5 และ 5 % ในวันที่ 28 และ 35 มีค่า air cell ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและตัวอย่างที่เคลือบด้วยไคโตซานเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การเคลือบไข่ไก่ด้วยไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยอบเชย (Vandyousefi & Bhargava, 2017) และการเคลือบไข่ไก่ด้วยน้ำมันมะพร้าว น้ำมันถั่วเหลือง (Nongtaodum et al., 2013) สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า air cell ได้

การศึกษานี้พบว่า การใช้แปรงซิลิโคนในกระบวนการเคลือบไข่ไก่สามารถช่วยรักษาความหนาและความสม่ำเสมอในการเคลือบได้ดี เนื่องจากสารเคลือบมีความหนืดเมื่อทำการเคลือบผิวเปลือกไข่ นอกจากนี้ผลการทดลองพบว่า การใช้สารเคลือบสามารถช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนัก และลดความสูงของช่องอากาศได้ โดยไข่ที่เคลือบสารที่มีส่วนประกอบของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเข้มข้น 2.5 และ 5% สามารถรักษาค่าออกซิเจน ค่าดัชนีไข่ขาว ค่า pH ของไข่ขาวได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นในวันที่ 35 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติการเคลือบผิวภายนอกเปลือกไข่ของไคโตซาน และคุณสมบัติต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกานพลู ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าผันแปรตามระดับความเข้มข้น ดังนั้นการศึกษาต่อไปอาจทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารเคลือบไข่ไก่ที่มีส่วนประกอบของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเพื่อเติมเต็มและพิสูจน์คุณสมบัติดังกล่าวของน้ำมันหอมระเหยกานพลูให้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

สรุปผลการศึกษา

การใช้สารเคลือบไข่ไก่ที่มีส่วนประกอบของไคโตซานเข้มข้น 2% น้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ความเข้มข้น 1% 2.5% และ 5.0% สามารถช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักและลดความสูงของช่องอากาศได้ โดยไข่ที่เคลือบสารที่มีส่วนประกอบของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเข้มข้น 2.5% และ 5% สามารถ

รักษาค่าออกยูนิต ค่าดัชนีไข่ขาว ค่า pH ของไข่ขาวได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นในวันที่ 35 ดังนั้นสารเคลือบไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ความเข้มข้น 2.5% และ 5.0 % อาจช่วยถนอมคุณภาพไข่และยืดอายุการเก็บรักษาไข่ไก่ได้นานถึง 35 วัน

ผลงานวิจัยนี้อยู่ระหว่างยื่นจดทะเบียนอนุสิทธิบัตร เลขคำขอ 2203001220

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่สนับสนุนอุปกรณ์และห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

- Bhale, S., No, H. K., Prinyawiwatkul, W., Farr, A. J., Nadarajah, K., & Meyers, S. P. (2003). Chitosan Coating Improves Shelf Life of Eggs. *Journal of Food Science*. 68(7), 2378-2383. doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb05776.x
- Haugh, R. (1937). A new method for determining the quality of an egg. *US Egg Poultry*. 39, 27-49.
- Heiman, V., & Carver, J. S. (1936). The Albumen Index as a Physical Measurement of Observed Egg Quality. *Poultry Science*. 15(2), 141-148. doi:10.3382/ps.0150141
- Hu, Q., Zhou, M., & Wei, S. (2018). Progress on the Antimicrobial Activity Research of Clove Oil and Eugenol in the Food Antisepsis Field. *Journal of Food Science*. 83(6), 1476-1483. doi:10.1111/1750-3841.14180
- Jirangrat, W., Torrico, D. D., No, J., No, H. K., & Prinyawiwatkul, W. (2010). Effects of mineral oil coating on internal quality of chicken eggs under refrigerated storage. *International journal of food science and technology*. 45(3), 490-495. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02150.x
- Keener, K.M., LaCrosse, J.D. & Babson, J.K. (2001). Chemical method for determination of carbon dioxide content in egg yolk and egg albumen. *Poultry Science*. 80(7), 983-983. doi: 10.1093/ps/80.7.983. PMID: 11469666.
- Kim, S., Youn, D., No, H., Choi, S., & Prinyawiwatkul, W. (2009). Effect of chitosan coating and storage position on quality and shelf life of eggs. *International journal of food science and technology*. 44, 1351-1359. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.01964.x
- Lekjing, S., & Chinarak, K. (2018). Effect of Clove Essential Oil on Film Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chitosan Film. *KKU Research Journal (Graduate Studies)*. 19(4), 172-189.
- Lucisano, M., Hidalgo, A., Comelli, E. M., & Rossi, M. (1996). Evolution of Chemical and Physical Albumen Characteristics during the Storage of Shell Eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(5), 1235-1240. doi:10.1021/jf950485o
- Mudannayaka, A., Rajapaksha, D. S., & Kodithuwakku, H. (2016). Effect of Beeswax, Gelatin and Aloe vera Gel Coatings on Physical Properties and Shelf Life of Chicken Eggs Stored at 30°C. 6-13. *Journal of World's Poultry Research*. 6(1), 171-179.
- Nongtaodum, S., Jangchud, A., Jangchud, K., Dhamvithee, P., No, H. K., & Prinyawiwatkul, W. (2013). Oil coating affects internal quality and sensory acceptance of selected attributes of raw eggs during storage. *Journal of Food Science*. 78(2), S329-335. doi:10.1111/1750-3841.12035
- Nuñez, L., & Aquino, M. D. (2012). Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian journal of microbiology*. 43(4), 1255-1260. doi:10.1590/S1517-83822012000400003

- Padron, M. (1990). Salmonella typhimurium penetration through the eggshell of hatching eggs. **Avian Disease**. 34(2), 463-465.
- Pirak, T. (2012). Chitosan: Alternative choice of antimicrobial agent and antioxidant in meats and meat products. **Food Journal**. 42(1), 24-29.
- Samli, H. E., Agna, A. & Senkoylu, N. (2005). Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**. 14(3), doi:548-533. 10.1093/japr/14.3.548
- Stadelman, W. (2017). Quality identification of shell eggs. In: Stadelman, W.J., and Cotterill, O.J. **Egg science and technology** (pp. 39-66). Florida: CRC Press.
- Suresh, P., Raj, K. R., Nidheesh, T., Pal, G. K., & Sakhare, P. (2015). Application of chitosan for improvement of quality and shelf life of table eggs under tropical room conditions. **Journal of Food Science and Technology**. 52(10), 6345-6354. doi: 10.1007/s13197-015-1721-7
- Torrico, D. D., No, H. K., Sriwattana, S., Ingram, D., & Prinyawiwatkul, W. (2011). Effects of initial albumen quality and mineral oil–chitosan emulsion coating on internal quality and shelf-life of eggs during room temperature storage. **International journal of food science and technology**. 46(9), 1783-1792. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02665.x
- Vandyousefi, S., & Bhargava, K. (2017). Formulation and application of cinnamon oil–chitosan emulsion coating to increase the internal quality and shelf-life of shelled eggs. **Journal of Food Processing and Preservation**. 41(2), e12859.
- Vlčková, J., Tůmová, E., Miková, K., Englmaierová, M., Okrouhlá, M., & Chodová, D. (2019). Changes in the quality of eggs during storage depending on the housing system and the age of hens. **Poultry Science**. 98(11), 6187-6193. doi:10.1111/jfpp.12859
- Wang, Y.-F., Jia, J.-X., Tian, Y.-Q., Shu, X., Ren, X.-J., Guan, Y., & Yan, Z.-Y. (2018). Antifungal effects of clove oil microcapsule on meat products. **LWT - Food Science and Technology**. 89, 604-609. doi:10.1016/j.lwt.2017.11.042
- Wardy, W., Torrico, D. D., Herrera Corredor, J. A., No, H. K., Zhang, X., Xu, Z., & Prinyawiwatkul, W. (2013). Soybean oil–chitosan emulsion affects internal quality and shelf-life of eggs stored at 25 and 4 C. **International journal of food science and technology**. 48(6), 1148-1156. doi:10.1111/ijfs.12068
- Wardy, W., Torrico, D. D., Jirangrat, W., No, H. K., Saalia, F. K., & Prinyawiwatkul, W. (2011). Chitosan-soybean oil emulsion coating affects physico-functional and sensory quality of eggs during storage. **LWT - Food Science and Technology**. 44(10), 2349-2355. doi:10.1016/j.lwt.2011.07.009
- Winterowd, J. G., & Sandford, P. A. (1995). **Chitin and chitosan**. New York: Marcel Dekker.
- Xu, D., Wang, J., Ren, D., & Wu, X. (2018). Effects of chitosan coating structure and changes during storage on their egg preservation performance. **Coatings**. 8(9), 317. doi:10.3390/coatings8090317
- Zheng, L.-Y., & Zhu, J.-F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate polymer**. 54(4), 527-530. doi:10.1016/j.carbpol.2003.07.009
- Zhong, Z., Aotegen, B., & Xu, H. (2011). The influence of the different inductivity of acetyl phenyl–thiosemicarbazone–chitosan on antimicrobial activities. **International journal of biological macromolecules**. 48(5), 713-719. doi:10.1016/j.ijbiomac.2011.01.029
- Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of Food Science**. 70(1), 45-51. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb09045.x

วันรับบทความ (Received date) : 20 มี.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 26 ต.ค. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65