



วารสาร เกษตรพระวรุณ

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 ธันวาคม 2561

PRAWARUN

AGRICULTURAL JOURNAL

Vol. 15 No. 2 / DECEMBER 2018

Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University



ISSN 1685-8379

การพัฒนาผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

ศนันธร พิชัย* และ ปาริชาติ ราชมนี

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตนมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพ เคมี การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสและสารก่อภูมิแพ้ (กลูเตน) ของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ ผลการศึกษาพบว่าแครกเกอร์จากแป้งไรซ์เบอร์รีมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าสูงกว่าแครกเกอร์จากแป้งควินัว แป้งบัควีท แป้งข้าวเจ้า โดยมีปริมาณร้อยละ 5.96, 14.14 และ 4.52 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแครกเกอร์จากแป้งบัควีทมีปริมาณความชื้นสูงสุด (8.80) คุณสมบัติทางกายภาพของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในด้านความแข็ง อัตราการแผ่ตัวและความหนา โดยแครกเกอร์จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รีมีความแข็ง (30.66 นิวตัน) และอัตราการแผ่ตัว (6.55%) สูงสุด การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของแครกเกอร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในด้านสี ความกรอบ และความชอบรวม โดยแครกเกอร์จากแป้งบัควีทมีคะแนนความชอบรวมสูงสุด เมื่อทำการศึกษาสารก่อภูมิแพ้จากกลูเตนด้วยวิธี ELISA พบว่าแครกเกอร์จากแป้งบัควีทมีปริมาณกลูเตนเท่ากับ 1.8 ppm ซึ่งอยู่ในระดับตามมาตรฐานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา และมาตรฐานของ CODEX (Codex Alimentarius Commission)

คำสำคัญ : แป้งสาลี แครกเกอร์ กลูเตน

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: sananthorn.p@gmail.com

Product development of gluten-free cracker

Sananthorn Pichai^{*} and Parichart Ratmanee

*Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang District, Maha Sarakham
44000*

Abstract

The development of gluten-free crackers was to study the physical, chemical, organoleptic evaluation and allergens (gluten) of product. The experimental result showed that riceberry cracker has higher content of protein, lipid and ash than the other crackers, which having value are 5.96, 14.14 and 4.52, respectively. However, buckwheat cracker has the highest moisture content (8.80). The physical properties of gluten-free crackers were significance difference of hardness, spreading rate and thickness ($p \leq 0.05$). The riceberry cracker has the highest of hardness (30.66 N) and spreading rate (6.55%). The organoleptic evaluations of crackers have significant difference in term of color, crispiness and overall acceptant ($p \leq 0.05$). Buckwheat cracker has the highest score of overall acceptance. Gluten allergens of buckwheat cracker measure by ELISA method showed that the amount of allergens from gluten is 1.8 ppm, which in gluten-free cracker standard product according to "US Food and Drug Administration" and CODEX standard.

Keywords: Wheat flour, Cracker, Gluten

^{*} Corresponding author : E-mail : sananthorn.p@gmail.com

บทนำ

โรคแพ้กลูเตน (Coeliac disease) เป็นโรคซึ่งระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ โดยร่างกายจะผลิตแอนติบอดี (Antibody) ออกมาทำลายเนื้อเยื่อของลำไส้เล็ก เมื่อได้รับไกลอะดินในกลูเตนเข้าไป ซึ่งกลูเตนคือโปรตีนที่พบในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และข้าวโอ๊ต ผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้ลำไส้เล็กจะมีการอักเสบและมีผลต่อเนื้อเยื่อบริเวณผนังลำไส้เล็กทำให้พื้นที่ในการดูดซึมอาหารลดลง แต่อาการดังกล่าวจะไม่เป็นอันตรายถึงชีวิต โดยอาการของโรคโดยทั่วไป คือจะมีการท้องบวมและมีการท้องร่วงเรื้อรัง น้ำหนักลด อูจาระมีสีซีดและมีกลิ่นเหม็นเน่า เป็นตะคริว เหนื่อยง่าย ปวดกระดูกและข้อต่อ ขาดความรูสึก เพราะเส้นประสาทถูกทำลาย มีแผลพุพองในปาก มีผื่นคันที่ผิวหนัง หรือเรียกว่า Dermatitis herpetiformis สำหรับผู้หญิงจะมีการประจำเดือนมาไม่ปกติ (Rubio-Tapia *et al.*, 2013) ผู้ป่วยเป็นโรคนี้จึงไม่สามารถรับประทานอาหารที่มีส่วนประกอบของกลูเตนได้เลยตลอดชีวิต อาหารที่ไม่มีกลูเตนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่เป็นโรคภูมิแพ้กลูเตน วัตถุดิบที่ไม่มีส่วนประกอบของกลูเตน เช่น ข้าว พืชจำพวกพืชหัวหรือพืชตระกูลถั่ว จึงเป็นแหล่งของวัตถุดิบที่น่าสนใจที่จะใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะอาหารที่ใช้แป้งสาลีเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าอาการของผู้ที่ได้รับกลูเตนถึงแม้จะไม่รุนแรงถึงชีวิต แต่ก็สร้างความกังวลและเป็นอุปสรรคต่อการดำรงชีวิตในแต่ละวันในแต่ละวัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของแป้งปราศจากกลูเตน 4 ชนิด คือ แป้งควินัว แป้งบัควีท แป้งข้าวเจ้า และแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ต่อคุณภาพของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน และเพื่อเพิ่มความหลากหลายในการใช้ประโยชน์จากแป้งปราศจากกลูเตนชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นวัตถุดิบภายในประเทศ นอกจากนั้นยังเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตนอีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

นำแป้งปราศจากกลูเตน 4 ชนิด คือ แป้งควินัว แป้งบัควีท แป้งข้าวเจ้า และแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ มาทดแทนปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2561

แป้งสาลีในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ในปริมาณร้อยละ 100 ของน้ำหนักแป้งในการทำแครกเกอร์โดยมีแครกเกอร์สูตรควบคุม คือ ใช้แป้งสาลีร้อยละ 100 แล้วนำแครกเกอร์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมี ดังนี้

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและของแข็งรวม (Moisture and total solids) (AOAC, 2000)

1.2 การหาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนหรือโปรตีนโดยวิธีเจดดาห์ (Crude protein, Kjeldahl method) (AOAC, 2000)

1.3 การหาปริมาณไขมันด้วยวิธีชอกห์เลท (Extractable lipid, Soxhlet method) (AOAC, 2000)

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Dry ashing) (AOAC, 2000)

1.5 ความแข็งด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer รุ่น TA-XT2i)

1.6 ค่าอัตราการแผ่ตัว (Spread ratio) (AACC, 2000)

1.7 ค่าความหนาที่เพิ่มขึ้นของแครกเกอร์ (Thickness increase) โดยใช้ไมโครมิเตอร์

2. คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยให้ผู้ทดสอบทั่วไปที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคแครกเกอร์ โดยนำแครกเกอร์หลังนำออกจากกรอบ 2 ชั่วโมง โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 40 คน ทั้งผู้หญิงและผู้ชาย อายุระหว่าง 20-35 ปี ประเมินระดับการยอมรับโดยใช้การทดสอบแบบ 9-point scale (Lazaridou *et al.*, 2007) ระดับจาก 1 คือไม่ชอบที่สุด ระดับ 9 คือ ชอบมากที่สุด โดยการทดสอบคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี รสชาติ ความนุ่ม กลิ่น และความชอบโดยรวม เตรียมแครกเกอร์ชิ้นขนาด 5×5 เซนติเมตร บรรจุในภาชนะพลาสติกปิดสนิท ทำการประเมินในห้องปฏิบัติการภายใต้แสงสีขาว

3. ปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

นำผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ที่ผลิตได้จากแป้งปราศจากกลูเตนที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดมาวิเคราะห์ปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ ELISA Test Kit (Codex Alimentarius Commission, 2006)

4. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อทดสอบสมมติฐานใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ สถิติที่ใช้ คือ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) หรือ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์การวิจัย

1. ผลองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์

แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

การศึกษารายละเอียดองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน (Table 1) ของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตนที่ผลิตจากแป้งทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณความชื้น พบว่า แครกเกอร์แป้งข้าวเจ้ามีปริมาณความชื้นมากที่สุด คือร้อยละ 8.80 ± 0.06 รองลงมาได้แก่ แครกเกอร์แป้งคิวนัว แครกเกอร์แป้งข้าวเจ้า และแครกเกอร์แป้งไรซ์เบอร์รี่คือร้อยละ 7.10 ± 0.01 , 7.05 ± 0.00 และ 3.25 ± 0.06 ตามลำดับ พิจารณารายละเอียดพบว่า แป้งไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวเจ้า แป้งคิวนัว และแป้งข้าวเจ้า มีปริมาณเถ้า คือร้อยละ 4.52 ± 0.02 , 3.33 ± 0.02 , 1.63 ± 0.01 และ 1.02 ± 0.11 ตามลำดับ เมื่อพิจารณารายละเอียดโปรตีนพบว่าแป้งไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวเจ้า แป้งคิวนัว และแป้งข้าวเจ้ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5.96 ± 0.20 , 6.06 ± 0.02 , 5.12 ± 0.02 และ 4.26 ± 0.05 ตามลำดับ ส่วนปริมาณไขมันพบว่า แป้งไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวเจ้า แป้งคิวนัว และแป้งข้าวเจ้า มีปริมาณไขมันร้อยละ 14.14 ± 0.01 , 13.25 ± 0.03 , 1.09 ± 0.01 และ 1.01 ± 0.01 ตามลำดับ

Berghofer and Schoenlechner (2002) ได้ศึกษาการใช้แป้งคิวนัวทดแทนแป้งสาลีร้อยละ 40 พบว่าขนมปังมีคุณภาพดี เนื้อขนมปังมีความเหนียวนุ่ม และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง Alvarez-Jubete *et al.* (2009) รายงานว่าการใช้แป้งคิวนัว ผลิตขนมปังปราศจากกลูเตน ทำให้ขนมปังมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใย และแร่ธาตุสูงกว่าขนมปังที่ปราศจากแป้งคิวนัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน Pagamunci *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษารายละเอียดการเปรียบเทียบแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน พบว่าแครกเกอร์ปราศจากกลูเตนมีปริมาณ

โปรตีนและไขมัน อยู่ระหว่าง 85.58 - 97.55 และ 121.69 - 166.19 กรัมต่อ กิโลกรัม ตามลำดับ

Table 1 The chemical composition of gluten-free crackers.

Crackers	Chemical Composition (%)			
	Moisture	Ash	Protien	Lipid
Quinoa Cracker	7.10 ± 0.01^b	1.63 ± 0.01^c	5.12 ± 0.02^b	1.09 ± 0.01^c
Buckwheat Cracker	8.80 ± 0.06^a	1.02 ± 0.11^d	6.06 ± 0.02^a	1.01 ± 0.01^d
Rice Flour Cracker	7.05 ± 0.00^b	3.33 ± 0.02^b	4.26 ± 0.05^c	13.25 ± 0.03^b
Riceberry Cracker	3.25 ± 0.06^c	4.52 ± 0.02^a	5.96 ± 0.20^a	14.14 ± 0.01^a

Note: Value in the column for each sample with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$), according to Duncan's Multiple Range test.

Sedej *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษารายละเอียดแครกเกอร์แป้งข้าวเจ้า 2 ประเภท คือ Refined buckwheat cracker และ Whole grain buckwheat cracker พบว่าแครกเกอร์ (Refined buckwheat และ Whole grain buckwheat) มีปริมาณเถ้าสูงกว่าแครกเกอร์แป้งสาลี และแครกเกอร์ Wholegrain buckwheat มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า Refined buckwheat cracker อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bonafaccia *et al.* (2003) และ Skrabanja *et al.* (2004) นอกจากนี้ปริมาณไขมันของแครกเกอร์ Wholegrain buckwheat มีปริมาณสูงกว่าแครกเกอร์จากแป้งสาลีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Lin *et al.* (2016) ได้รายงานว่าการนำแป้งข้าวเจ้ามาผลิตเป็นซีฟฟ่อนเค้ก พบว่าปริมาณโปรตีนของแป้งข้าวเจ้าลดลงจาก 6.88 ± 0.02 เป็น 6.56 ± 0.22 นอกจากนั้น Yodmanee *et al.* (2011) รายงานว่าปริมาณเถ้าของข้าวที่มีสีคล้ำจะมีปริมาณธาตุเหล็กอยู่ระหว่าง 0.91-1.66 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และในข้าวที่มีสีม่วงจะมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าข้าวที่มีสีน้ำตาลแดง

ผลของแป้งปราศจากกลูเตนต่อสมบัติของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตนที่ผลิตจากแป้งทั้ง 4 ชนิด (Table 2)

พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาด้านความแข็งของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ พบว่าแครกเกอร์แป้งไรซ์เบอร์รีมีค่าความแข็งมากที่สุด คือ 30.66 ± 0.01 รองลงมาได้แก่ แครกเกอร์แป้งข้าวเจ้า แครกเกอร์แป้งบัวควี และแครกเกอร์แป้งควินัว คือ 29.55 ± 0.02 , 29.39 ± 0.16 และ 14.55 ± 0.06 นิวตัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาด้านการแผ่ตัวของผลิตภัณฑ์ พบว่าแครกเกอร์แป้งไรซ์เบอร์รีมีค่าความแผ่ตัวมากที่สุด คือร้อยละ 6.55 ± 0.02 รองลงมาได้แก่ แครกเกอร์แป้งควินัว แครกเกอร์แป้งข้าวเจ้าและแครกเกอร์แป้งบัวควี ซึ่งมีแนวโน้มไปทางเดียวกัน คือร้อยละ 5.73 ± 0.03 , 4.13 ± 0.03 และ 4.12 ± 0.02 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาด้านความหนาที่เพิ่มขึ้นหรือการพองตัวของผลิตภัณฑ์พบว่า แครกเกอร์แป้งข้าวเจ้ามีค่าความหนาที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.86 ± 0.01 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ แครกเกอร์แป้งบัวควี แครกเกอร์แป้งควินัว และแครกเกอร์แป้งไรซ์เบอร์รีคือ 0.73 ± 0.01 , 0.68 ± 0.00 และ 0.63 ± 0.01 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Samavandhana (2006) ที่พบว่าปริมาณโปรตีนส่งผลต่อการขยายตัวในเชิงปริมาตรของแครกเกอร์ข้าวเหนียว

Table 2 The physical properties of gluten-free crackers.

Crackers	Hardness (N)	Spreading rate (%)	Thickness (cm)
Quinoa Cracker	14.55 ± 0.06^d	5.73 ± 0.03^b	0.68 ± 0.00^c
Buckwheat Cracker	29.39 ± 0.16^c	4.12 ± 0.02^c	0.73 ± 0.01^b
Rice Flour Cracker	29.55 ± 0.02^b	4.13 ± 0.03^c	0.86 ± 0.01^a
Riceberry Cracker	30.66 ± 0.01^a	6.55 ± 0.02^a	0.63 ± 0.01^d

Note: Value in the column for each sample with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$), according to Duncan's Multiple Range test.

2. การประเมินคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไปที่นิยมบริโภคแครกเกอร์ (Table 3) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 40 คน ผลการทดลองพบว่าคะแนนด้านลักษณะปรากฏ ด้านรสชาติ และด้านกลิ่น ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ส่วนด้านสีและความกรอบของแครกเกอร์ทั้ง 4 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยผู้ทดสอบชิมมีความชอบแครกเกอร์จากแป้งข้าวเจ้าในด้านสีสูงสุด (6.25 ± 0.75) ส่วนด้านความกรอบนั้นผู้บริโภคมีความชอบในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์แป้งบัวควีสูงสุด (6.33 ± 0.65) เมื่อพิจารณาความชอบรวมต่อผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ทั้ง 4 ชนิดนั้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยผู้ทดสอบชิมมีความชอบผลิตภัณฑ์แครกเกอร์แป้งบัวควีสูงสุด และมีความชอบในด้านสี รสชาติ ความกรอบ กลิ่นและความชอบรวมสูงกว่า 6 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Torbica *et al.* (2010) ที่ได้ทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของขนมปังที่ผลิตจากแป้งบัวควี พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนด้านกลิ่นรส ลักษณะปรากฏ ความนุ่ม และรสชาติ มากกว่า 6 ซึ่งแสดงถึงการยอมรับในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากแป้งบัวควี

ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบรวมแครกเกอร์แป้งควินัวต่ำกว่าแครกเกอร์ที่ผลิตจากแป้งอื่นๆ เนื่องจากแป้งควินัวมีรสขมเมื่อเติมในปริมาณมากกว่าร้อยละ 30 ซึ่ง Lorenz and Coulter (1991) ได้ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของขนมปังและคุกกี้ที่ผลิตจากแป้งควินัว พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เมื่อเติมแป้งควินัวร้อยละ 5-10 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brito *et al.* (2015) ที่ทำการผลิตคุกกี้ที่ปราศจากกลูเตน โดยสูตรที่ดีที่สุดใช้แป้งควินัวไม่เกินร้อยละ 30

สำหรับผลิตภัณฑ์แครกเกอร์แป้งไรซ์เบอร์รีมีคะแนนความชอบรวมต่ำกว่าแครกเกอร์แป้งข้าวเจ้าและแป้งบัวควี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sirichokworakit *et al.* (2015) ที่ได้ศึกษาการใช้แป้งไรซ์เบอร์รีต่อคุณภาพเนื้อสัมผัสและลักษณะทางประสาทสัมผัสของก๋วยเตี๋ยว พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแป้งไรซ์เบอร์รี ทำให้ความเหนียวของก๋วยเตี๋ยวลดลง มีสีคล้ำ และผู้ทดสอบให้คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสน้อยกว่าสูตรควบคุม

Table 3 Sensory score of gluten-free crackers

Crackers	Sensory score of gluten-free crackers					
	Appearance	Color	Taste	Crispiness	Flavor	Overall liking
Quinoa Cracker	5.75±0.75 ^{ns}	5.50±1.00 ^{ab}	5.83±0.79 ^{ns}	5.25±0.87 ^b	6.96±1.50 ^{ns}	5.42±0.79 ^b
Buckwheat Cracker	5.83±1.11 ^{ns}	6.17±0.72 ^a	6.16±0.58 ^{ns}	6.33±0.65 ^a	6.58±1.91 ^{ns}	6.33±0.65 ^a
Rice Flour Cracker	5.83±0.94 ^{ns}	6.25±0.75 ^a	6.00±0.74 ^{ns}	6.00±0.85 ^a	6.65±1.19 ^{ns}	6.17±0.72 ^a
Riceberry Cracker	6.00±0.74 ^{ns}	5.33±1.07 ^b	6.08±0.79 ^{ns}	5.53±0.83 ^{ab}	6.64±1.10 ^{ns}	5.92±0.90 ^{ab}

Note: Values in a column for each sample with different superscripts are significantly different ($p \leq 0.05$) and ns are not significantly different ($p > 0.05$).

3. ปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

การทดสอบปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน โดยคัดเลือกแครกเกอร์แบ่งบักวีทตามสูตรดังนี้ แบ่งบักวีท 180 กรัม แบ่งข้าวโพด 170 กรัม โยเกิร์ต 114 กรัม นมข้นหวาน 1/4 ถ้วย เนยพัฟเฟรสตี 50 กรัม และเนยสด 55 กรัม เมื่อนำแครกเกอร์แบ่งบักวีทมาตรวจสอบสารก่อภูมิแพ้จากกลูเตน (Gluten Allergen) โดยวิธี ELISA พบว่าแครกเกอร์แบ่งบักวีทมีปริมาณสารก่อภูมิแพ้จากกลูเตน 1.8 ppm ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาและมาตรฐานของ CODEX (Codex Alimentarius Commission) ที่กำหนดให้อาหารที่ปราศจากกลูเตน ต้องมีปริมาณสารก่อภูมิแพ้จากกลูเตนต่ำกว่า 20 ppm (Sharma *et al.*, 2015)

สรุปผลการวิจัย

1. คุณสมบัติของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตนที่ผลิตจากแป้งทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณความชื้น พบว่าแครกเกอร์แบ่งบักวีทมีปริมาณความชื้นมากที่สุด คือร้อยละ 8.80±0.06 พิจารณาปริมาณเถ้า พบว่าแครกเกอร์แบ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณเถ้ามากที่สุด คือร้อยละ 4.52±0.02 พิจารณาปริมาณโปรตีน พบว่าแครกเกอร์แบ่งบักวีทมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด คือร้อยละ 6.06±0.02 และเมื่อพิจารณาปริมาณไขมัน พบว่าปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

แครกเกอร์แบ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณไขมันมากที่สุด คือร้อยละ 14.14±0.01

ผลของแป้งปราศจากกลูเตนต่อสมบัติของแครกเกอร์ปราศจากกลูเตนที่ผลิตจากแป้งทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาถึงความแข็งของผลิตภัณฑ์แครกเกอร์พบว่าแครกเกอร์แบ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่มีความแข็งมากที่สุด คือ 30.66±0.01 นิวตัน พิจารณาการแผ่ตัวของผลิตภัณฑ์พบว่าแครกเกอร์แบ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่มีความแผ่ตัวมากที่สุด คือ 6.55±0.02 ร้อยละ และเมื่อพิจารณาความหนาที่เพิ่มขึ้นหรือการพองตัวของผลิตภัณฑ์พบว่าแครกเกอร์แบ่งข้าวเจ้ามีความหนาที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.86±0.01 เซนติเมตร

2. ความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อแครกเกอร์ปราศจากกลูเตน

โดยการทดสอบคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี รสชาติ ความกรอบ กลิ่น และ ความชอบโดยรวม พบว่าคะแนนด้านลักษณะปรากฏ ด้านรสชาติ และด้านกลิ่น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยผู้ทดสอบชิมให้คะแนนที่ใกล้เคียงกัน

คะแนนด้านสีและด้านความกรอบ พบว่าผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ที่ผลิตจากแป้งบักวีทและแป้งข้าวเจ้า ไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาคะแนนด้านความชอบโดยรวม พบว่าผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ที่ผลิตจากแป้งบักวีทและแป้งข้าวเจ้า ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกับแครกเกอร์ที่ผลิตจากแป้งข้าวไรซ์

วารสารเกษตรพระวรุณ 294

เบอร์รี่ ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบรวมแครกเกอร์แป้ง
ควินัวต่ำกว่าแครกเกอร์ที่ผลิตจากแป้งอื่นๆ

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการสนับสนุน
เงินอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏ
มหาสารคาม ปีงบประมาณ 2559 ที่ได้ให้โอกาสในการ
ทำงานวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างสูงมาในโอกาสนี้

3. ปริมาณกลูเตนในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์ปราศจากกลูเตน
จากแครกเกอร์แป้งบัควีทเมื่อนำแครกเกอร์
แป้งบัควีทมาตรวจสอบสารก่อภูมิแพ้จากกลูเตน (Gluten
Allergen) โดยวิธี ELISA พบปริมาณสารก่อภูมิแพ้จาก
กลูเตน 1.8 ppm ซึ่งถือได้ว่าแครกเกอร์แป้งบัควีทเป็น
ผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากกลูเตนตามมาตรฐานของสำนักงาน
คณะกรรมการอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา และ
มาตรฐานสากลของ CODEX (Codex Alimentarius
Commission)

References

- AACC. 2000. Approved Methods of the AACC. 10th Ed. St Paul : American Association of Cereal Chemists.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Gaithersburg : The Association of Official Analytical Chemists.
- Alvarez, J. L., Arendt, E. K., and Gallagher, E. 2009. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60(4) : 240-257.
- Berghofer, E., and Schoenlechner, R. 2002. Grain Amaranth. In : Belton, P., and Taylor, J. (eds). Pseudocereals and less common cereals, grain properties and utilization potential. New York : Springer-Verlag, pp.219-260.
- Bonafaccia, G., Marocchini, M., and Kreft, I. 2003. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*. 80 : 9–15.
- Brito, J. P., Nofal, A.A., Montori, V.M., Hay, I. D., and Morris, J. C. 2015. The impact of subclinical disease and mechanism of detection on the rise in thyroid cancer incidence : A population-based study in Olmsted county. *Thyroid*. 25(9) : 999-1007.
- Codex Alimentarius Commission. 2003. International food standard. Rome : FAO and WHO.
- Kim, S.K. 1996. In Kruger, J.E., Mastuo, R.B., and Dick, J.W. (Eds.). Pasta & Noodle Technology. Saint Paul : American Association of Cereal Chemists, Inc.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., and Biliaderis, C. G. 2007. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*. 79 : 1033-1047.

- Lin, H. F., Chiung, M. L., Reming, Y., and Shih, H. C. 2016. Physicochemical property and glycemic response of chiffon cakes with different rice flours. *Food Hydrocolloids*. 53 : 172-179.
- Lorenz, K., and Coulter, L. 1992. Quinoa flour in baked products. *Plant Foods for Human Nutrition*. 41: 312-223.
- Pagamunici, L. M., Souza, A. H. P., Gohara, A. K., Souza, N. E., Gomes, S. T. M., Matsushita, M. 2014. Development, characterization and chemometric analysis of a gluten-free food bar containing whole flour from a new cultivar of amaranth. *Ciência e Agrotecnologia*. 38(3) : 270-277.
- Rubio-Tapia, A., Hill, I. D., Kelly, C.P., Calderwood, A. H., and Murray, J. A. 2013. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *American College of Gastroenterology*. 108(5) : 656-676.
- Samavandhana, K. 2006. Alternative : Effect of gelatinization and retrogradation on rice cracker qualities. Bangkok : Kasetsart University.
- Sedej, I., Saka, M., Mandi, A., Misan, M., Tumbas, V., and Hadnaev, M. 2011. Assessment of antioxidant activity and rheological properties of wheat and buckwheat milling fractions. *Journal of Cereal Science*. 54 : 347-353
- Sharma, R., Rani, D., Jain, N., Katwa, S. M., and Jaitawat, A. 2015. Healthy pregnancy with potato : A review. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*. 2(3) : 35-46.
- Skrabanja, V., Kreft, I., Golob, T., Modic, M., Ikeda, S., Ikeda, K., Kreft, S., Bonafaccia, G., Knapp, M., and Kosmelj, K. 2004. Nutrient content in buckwheat milling fractions. New York : CRC Press.
- Sirichokworakita, S., Phetkhuta, J., and Khommoona, A. 2015. Effect of partial substitution of wheat flour with riceberry flour on quality of noodles. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. 97: 1006-1012.
- Torbica, A., Hadnaev, M., and Dapcevi, T. 2010. Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour. *Food Hydrocolloids*. 24 : 626-632.
- Yodmanee, S., Karrila, T. T., and Pakdeechanuan, P. 2011. Physical, chemical and antioxidant properties of pigmented rice grown in southern Thailand. *International Food Research Journal*. 18(3) : 901-906.

Anaesthetic Effects of Piper Betle Extracts on Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*

Puttachat Imjai^{1,2*}, Penpun Srisakultiew², Nilubol Rujinanont² and Somsamol Kaewborisut²

¹Program in Aquaculture Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham, 44000, Thailand

²Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

Abstract

Study on *Piper betle* extracts as an alternative herbal anaesthetic in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (1.44±0.20 g in BW and 4.39±1.97 cm in TL). Acute toxicity of *Piper betle* extracts with LC₅₀ value was 40.25 mL/L for 24 hr at 95% confidence intervals from 36.49-44.29 mL/L. *Piper betle* extracts concentrations were tested at 0, 5, 10, 20, 30 and 40 mL/L. The result showed that the concentration of 30 mL/L was suitable as anaesthetic because tested fish began to show stage 1 (sedation) within 5 min after exposure and fish began to die in 6 hr exposure. The recovery tested fish after exposure in 20, 30 and 40 mL/L were average 4.33±1.52 min.

Keywords: Anaesthetic, *Piper betle*, *Oreochromis niloticus*

* Corresponding author: E-mail: puttachat_im@hotmail.com

ประสิทธิภาพของสารสกัดพืเป็นยาสลับในปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

พุทธิชาติ อิ่มใจ^{1,2*}, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดี่ยว², นิลุบล รุจินานนท์² และ สมสมร แก้วบริสุทธิ²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืเป็นยาสลับในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) น้ำหนักเฉลี่ย 1.44 ± 0.20 กรัม ความยาวเฉลี่ย 4.39 ± 0.19 เซนติเมตร มีค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC_{50}) มีค่าเท่ากับ 40.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (อยู่ในช่วง 36.49 – 44.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเชื่อมั่นที่ 95%) และทำการศึกษารสสกัดพืเป็นยาสลับที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นยาสลับเพราะสามารถทำให้ปลาในการทดลองเข้าสู่ระยะ 1 คือ นิ่งซึมไม่เคลื่อนไหวสูญเสียการทรงตัว ในเวลา 5 นาที และเริ่มพบการตายในชั่วโมงที่ 6 จึงเหมาะสมในการทำกิจกรรมด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง และระยะเวลาการฟื้นฟูของปลานิลหลังจากการสลับที่ 2 ชั่วโมงในความเข้มข้นของสารสกัดพืที่ 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เวลาฟื้นฟูเฉลี่ย 4.33 ± 1.52 นาที

คำสำคัญ : ยาสลับ พื ปลานิล

* ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ: E-mail: puttachat_im@hotmail.com

Introduction

Anaesthetic is an agent act on the central nervous system at electrical signals by inhibiting neuro electrical signals which resulted in loss of sensation (Heavner, 1981). Normally, the brain's electrical signals are a chaotic chorus at different parts of the brain communicate with each other. Several common anesthetics bind to the GABA-A receptor in the brain's neurons. They hold the gateway open and let negative charged particles flow into the cell. The negative charge builds up and acts like a log jam by keeping the neuron from transmitting electrical signals. The nervous system (reticular activating system) has lots of these gated channels, controlling pathways for movement, memory, and consciousness. This part of the brain is the most important position within the central nervous system to make an anaesthetic in animals and humans (Muir and Hubbell, 1989).

An early anaesthetic was recorded in Egypt, Asia and Middle East medical text books in the 12th century (Hirst, 2004). It was a compound which a part consisted of either opium poppy, mandrake fruit and alcohol. In 1540 AC, Paracelsus discovered diethyl ether and began experiments on animal anaesthesia. He reported that the diethyl ether could force poultry to sleep. Sir Humphrey Davy, in 1800 AC, reported the use of nitrous oxide to anaesthetize an animal. In 1824 AC, H.H. Hickman used nitrous oxide combined with carbondioxide by inhalation during a dog operation in order to reduce pain. Next, the nitrous oxide anaesthetic was began to apply in human since 1840 AC (Euliano and Gravenstein, 2004).

Application of anaesthetic in aquaculture had been established about 60 years ago for reducing stress and injury during breeding,

handling, transportation and other activities which effected fish health and production (Brown, 2011). There are many anaesthetics used in aquatic animals. Their efficacy depends on species and methodology (Chandroo *et al.*, 2004; Huntingford *et al.*, 2006; Rose, 2002). The well-known anaesthetics are chemicals, for example, MS-222 (TMS, tricaine methane sulfonate), benzocaine, phenoxyethanol and quinaldine etc (Ross and Ross, 2008). Most of the chemical residues might accumulated in the aquatic animal products which might affected to consumers (Amani and James, 2007). In addition, the chemical anaesthetics have side effect to users, for example, irritate at direct contact on to body or headache after inhalation because of blood circulating interruption and affecting to the central nervous. Thus, Amani and James (2007) suggested herbal anaesthetic as an alternative to reduce the chemical residue in aquatic animals. For example, *Erythroxylum coca*, *Spilanthes acmella*, *Acorus calamus* and *Syzygium aromaticum* contained cocain (Ruetsch *et al.*, 2001.), spilanthal (Barbasa *et al.*, 2016), acorin (Panchal *et al.*, 1989) and eugenol (Sarkar *et al.*, 2008), respectively. These are active ingredients to CNS (Mylonas *et al.*, 2005). In Thailand, the eugenol from clove oil (*S. aromaticum*) is the most popular and widely use as herbal anaesthetic in aquaculture (Roubach *et al.*, 2005; Mylonas *et al.*, 2005). However, the eugenol is also found in *P. betle* leaf in Piperaceae. This leaf is one of the third compositions for chewing betel nut, a traditional chewing in Asian countries as well as Thailand. Thus, the leaf is common found locally at low price. Therefore, this research would like to investigate efficacy of the *P. betle* leaf extract as a new alternative herbal anaesthetic and appropriate dosage for tilapia.

Materials and methods

1. Experimental animals

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) about 30 days old were bought from fish farm in Maha Sarakham. The fish were similar age and size at 1.44 ± 0.20 g in BW; 4.39 ± 1.97 cm in TL. They were 100 in total and stocked in a 400 L tank (1 fish/L). The tank had an air stone. The tanks were changed 75% water every day in order to remove wastes and keep suitable water quality. The fish were fed 30% protein pellet 15% BW twice a day. They were acclimatized about 2 weeks before starting experiment.

2. Preparation of *Piper betel* extract

Piper betel leaves were collected locally in Muang district, Maha Sarakham province. They were extracted by following Leng *et al.* (2011) instruction. The leaves were washed in tap water for clean up all dirt. Next, they were air dried and then crushed into a fine piece. The 1 kg fine crushed leaf was weighed and put into an aspirator bottle. Three liters (w/v 1:3) of ethanol (95%) were added and soaked the leaf at room temperature for 72 hr with occasionally shaking. Then, the solution was filtered through No.1 Whatman filter paper. The ethanol in solvent was removed by rotary vacuum evaporator (BuchiSyncore) at 45°C. All the remaining was crude extract stored in refrigerator (4°C) until further use.

3. Experiment I : 50% Lethal concentration (LC₅₀) of *P. betle* extract on Nile tilapia

Toxicity of *P. betle* extract was investigated by static bioassay followed APHA (1998) and Dhara *et al.* (2016) in 21 containers (2L). The *P. betle* extract solutions were prepared

at 7 concentrations including 0, 10, 20, 40, 60, 80 and 100 ml/L, 3 containers/concentration for each concentration. The 10 prepared fish were randomly counted and put into each container. Next, the fish behavior was observed. Dead fish were recorded and removed during 24 hr experimental period. All data were computed for 50% lethal concentration (LC₅₀) of the extract solution using Probit analysis at 95% confidence.

2. Experiment II : *P. betle* extract induced Nile tilapia anesthesia and recovery

Diluted the LC₅₀ concentration from experiment I into 0, 5, 10, 20, 30 and 40 ml/L with 3 replicates/concentration. The experiment was run in static bioassay the same as experiment I. Ten fish were randomly added into each container and observed anaesthetized behaviors every 5 min for the first hour and then every 2, 4, 6, 12, 18 and 24 hr. The fish behaviors were classified into 4 stages of anaesthetized behaviors including:

Stage 0 : No effect = Normal fish

Stage 1 : Sedation = Motion & breathing reduced

Stage 2 : Anaesthesia = Total loss of equilibrium no reaction to touch stimuli

Stage 3 : Death = No movement of operculum and death

Periods in either minutes or hours of the anaesthetized behaviors were recorded in each concentration along experimental duration. Recovery stage was determined after fish became stage 2 (Anaesthesia). Data were analyzed to find appropriate concentration of *P. betle* extracts to use safely for Nile tilapia.

Results and Discussion

Results

1. Acute toxicity of *P. betle* extract on Nile tilapia

In control (0 mL/L) and 10 mL/L of the *P. betle* extract found no fish die in 24 hr. While the high concentration at 60 mL/L onward, all the fish died in 1 hr. For the 40 mL/L extract found the fish reduced movement and stay tranquility in the first 5 minutes prior to die in the 4 hr onward. Probit analysis found the LC_{50} of the extract was 40.25 mL/L (range = 36.49 - 44.29 mL/L; Figure 1).

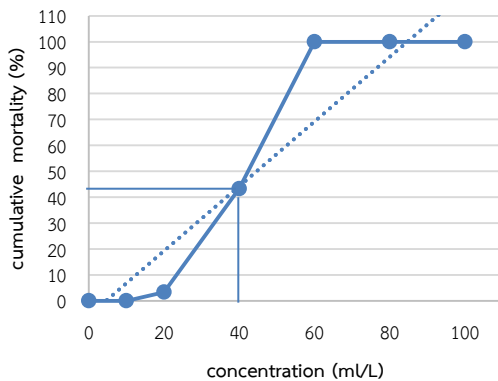


Figure 1. Cumulative mortality of Nile Tilapia after exposure to various dosages of *P. betle* extract in static bioassay for 24 hr.

2. Anesthesia induction and recovery of *P. betle* extracts exposed to Nile tilapia

In control treatment (0 mL/L) the fish showed no effect of the extract though out the 24 hr experimental period. The 5 mL/L extracts, some fish began to show stage 1 (sedation) after 18 hr exposure. While at 10 mL/L extract, the fish started sedation and anaesthesia in 2 and 6 hr exposure, respectively. There were no dead fish found in this concentration. At the 20 mL/L extract the fish

started stage 1 (sedation), 2 (anaesthesia) and 3 (death) in 30 min, 2 and 8 hr, respectively (Table 1). All the fish in this concentration died at 12 hr exposure. The 30 and 40 mL/L extracts, the fish began sedation in 5 min while started stage 2 anaesthesia in 20 and 15 min. The death fish were observed at 6 and 4 hr exposure, respectively. All the dead fish from 20, 30 and 40 mL/L concentrations could be recovery after immersed in a new fresh water at 4.33 ± 0.57 , 4.83 ± 0.28 and 5.33 ± 0.28 min, respectively.

Discussion

P. betle contained eugenol (0.16 % w/w; Hadzir and Hadzuin, 2012; Sarkar *et al.*, 2008) which is part of the bioactive compound affected as an alternative fish anaesthetic. In the study, the low extract at 10 mL/L concentration affected the fish began sedation and anaesthesia in 2 and 6 hr, respectively without any death in 24 hr. The 20 mL/L extract affected the fish to calm in sedation (stage 1), anaesthesia (stage 2) and death (stage 3) in 30 min, 2 and 8 hr, respectively. The high dosages as 30 and 40 mL/L extract, the fish calmed in sedation in 5 min before went to anaesthesia in 20 and 15 min, respectively. Death fish was recorded in 6 and 4 hr of the 30 and 40 mL/L extract, respectively. Thus, the 30 mL/L extract was the effective and suitable dose for Nile tilapia. Because it was a lowest concentration that could induced anaesthesia in fish (shawn *et al.*, 2004; Brown, 2011).

As Chantong *et al.* (2010) have reported that eugenol could serve as anaesthetic for carp (*Cyprinus carpio*). In addition, eugenol can reduce stress in Nile tilapia assessed by cortisol and glucose level including spontaneous superoxide anion, percent phagocytosis and antibody in Nile tilapia (Areechon *et al.*, 2011). Effects of anaesthetic on fish depend on external and

internal factors of each fish species (Ross, 2001).
Anaesthetic are widely used in aquaculture to

reduce stress and mortality. Thus, betel extract
could serve as suitable alternative fish anaesthetic.

Table 1. Behavioral events of *O. niloticus* exposed to various concentrations of *P. betel* extract in static bioassay

Concentration (mL/L)	Stages of anesthesia according to exposure periods														
	(min)								(hour)						
	5	10	15	20	30	40	50	1	2	4	6	8	12	18	24
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	1
10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1,2	2	2	2	2
20	0	0	0	0	1	1	1	1	1,2	2	2	2,3	3	3	3
30	0,1	1	1	1,2	2	2	2	2	2	2	2,3	3	3	3	3
40	0,1	1	1,2	2	2	2	2	2	2	2,3	3	3	3	3	3

* Stages of anesthesia : 0 = No effect, 1 = Sedation, 2 = Anesthesia, 3 = death

Conclusion

Efficiency of *P. betle* extract as anaesthetic in Nile tilapia was studied. The result showed that the concentration of 30 mL/L was suitable as anaesthtic because tested fish began to show stage 1 (sedation) within 5 min after exposure and fish began to died in 6 hr exposure. The recovery tested fish after exposure in 20, 30 and 40 mL/L were average 4.33 ± 1.52 min.

Acknowledgements

Authors with to thanks faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University for providing necessary facilities for the research. Special Thanks to Food Technology program for preparing herb extracts and Assist. Prof. Dr. C. Kanchan and B. Sawasdee, Aquaculture Technology Program for moral supports.

References

- Areechon, N., Chantasart, D., and Srisapoome, P. 2011. Application of eugenol as anesthetic for aquatic animals. Bangkok : Kasetsart University.
- Amani, A.Y., and James, C.M. 2007. Anesthetics in aquaculture: the emerging popularity of clove oil. *Aquaculture Asia Pacific Magazine*. 32-34.
- APHA. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C. : APHA.
- Barbosa, A. F., Carvalho, M. G., Smith, R. E., and Armando, U.O. 2016. Spilanthol : Occurrence, extraction, chemistry and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 26(1) : 128-133.
- Browm, L.A. 2011. Anesthesia for fish. *Aquaculture*. 8(2) : 68-70.
- Chandroo, K. P., Duncan, I. J. H. and Moccia, R.D. 2004. Can fish suffer perspectives on sentience, pain, fear, and stress. *Applied Animal Behaviour Science*. 86 : 225-250.
- Chantong, B., Buranasinsup, S., Toniti, P., Suttiyotin, P., Sirimanapong, W. and Nusuetrong, P. 2010. Efficacy of extracts of Thai medicinal plants as an anesthetics on carp fish (*Cyprinus carpio*). *Planta Medica*. 76 : 593.
- Dhara, K., Biswas, S. J., and Karmakar, S. R. 2016. Study on the toxicity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaf extracts as phytopiscicide on three life stages of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) with special reference to their ethological responses. *Experimental Research and Review*. 3 : 7-13.
- Euliano T. Y., and Gravenstein, J. S. 2004. Essential anesthesia from science to practice. Cambridge : Cambridge Medicine.
- Hadzir, N., and Hadzuin, N. 2012. Extraction of eugenol from betel leaves (*Piper betle* L.) using hydrodistillation and supercritical carbon dioxide technique. Malaysia : Universiti Putra.
- Heavner, J. E. 1981. Animal models and methods in anesthesia research. In : Gay. W. I. (ed.). Methods in animal experimentation. New York : Academic press.
- Hirst, R. 2004. From out of the primordial soup: A brief history of anaesthesia. *The Internet Journal of Anesthesiology*. 10(1) : 1-12.
- Hoskonen, P., and Pirhonen, J. 2004. The effect of clove oil sedation on oxygen consumption of six temperate-zone fish species. *Aquaculture Research*. 35 : 1002-1005.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandoe, P., and Turnbull, J. F. 2006. Current issues in fish welfare. *Fish Biology*. 68 : 332-372.
- Leng, T. C., Ping, N. S., Lim, B. P., and Keng, C. L. 2011. Detection of bioactive compounds from *Spilanthus acmella* (L.) plants and its various in vitro culture products. *Medicinal Plants Research*. 5(3) : 371-378.

- Mylonas, C. C., Cardinaletti, G., Sigelaki, J. and Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*. 246(1-4) : 467-481.
- Muir, W. W., and Hubbell, J. A. E. 1989. Handbook of veterinary anesthesia. St. Louis : Mosby.
- Panchal, G. M., Venkatakrishna, B. H., Doctor, R. B., and Vajpayee, S. 1989. Pharmacology of *acorus calamus*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 27(6) : 561-567.
- Raymond, M. 1987. Probit Analysis Program. Montpellier Cedex : Institut des Sciences de L' Evolution.
- Rose, J. D. 2002. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Reviews in Fisheries Science*. 10 : 1-38.
- Ross, L.G. and Ross, B. 2008. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. 3rd. ed. Cornwall : Blackwell Science.
- Roubach, R., Gomes, L. C., Val, A. L., and Fonseca, F. A. L. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture research*. 36(11) : 1056-1061.
- Ruetsch, Y. A., Böni, T., and Borgeat, A. 2001. From cocaine to ropivacaine : The history of local anesthetic drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 1(3) : 175-182.
- Sarkar, D., Saha, P., Gamre, S., Bhattacharjee, S., Hariharan, C., Ganguly, S., Sen, R., Mandal, G., Chattopadhyay, S., Majumdar, S., and Chatterjee, M. 2008. Anti-inflammatory effect of allylpyrocatechol in LPS induced macrophages is mediated by suppression of iNOS and COX-2 via the NF-kB pathway. *International Immunopharmacology*. 8 : 1264-1271.
- Shawn, D. C., Robert, M. D., and James, H. T. 2004. Anesthetics in aquaculture. New York : United States Department of Agriculture, Cooperative State Research, Education, and Extension Service.

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล (DDCP) ในสูตรอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตในแพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทย

คณิน บรรณกิจ *

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด ต. เกาะแก้ว อ. เสลภูมิ จ. ร้อยเอ็ด 45120

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มุ่งศึกษาระดับกากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล (DDCP) ในสูตรอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของแพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทย โดยสัตว์ทดลอง คือแพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทยเพศผู้ ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 14.28 ± 2.60 กิโลกรัม อายุเฉลี่ย 210.5 ± 69.97 วัน จำนวน 12 ตัว ทำการสุ่มจัดเข้าทดลองตามแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) กำหนดให้ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับ DDCP ที่แตกต่างกันดังนี้ คือ 1) 0% DDCP (สูตรควบคุม), 2) 20% DDCP และ 3) 40% DDCP โดยใช้ฟางแห้งเป็นอาหารหยาบหลักให้กินแบบเต็มทีตลอดระยะเวลา 60 วัน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้ทั้งหมด ($538.95, 550.80$ และ 511.91 gDM/d; $P > 0.05$) ไม่มีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มทดลอง ส่วนความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ ($66.36, 65.69$ และ 59.60 %) และความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ ($67.27, 66.59$ และ 60.65 %) ลดลงทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.01$) และเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P < 0.01$) เมื่อเพิ่มระดับ DDCP ไปที่ 40% แต่ในกลุ่มที่ได้รับระดับ 20% DDCP และกลุ่มควบคุมให้ผลไม่แตกต่างกันทั้งในส่วนความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบและอินทรีย์วัตถุ ผลต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักพบว่า ความเข้มข้นแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ($12.29, 12.31$ และ 15.84 mg%) เพิ่มขึ้นทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.01$) และเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P < 0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษาระดับ DDCP 20% DDCP ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม โดยที่ระดับ 40% มีค่าสูงกว่าทุกกลุ่ม ส่วนความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมด ($85.03, 83.16$ และ 75.1 mM/L) ลดลงแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักพบว่า ประชากรแบคทีเรีย [$2.25, 2.24$ และ 1.98 ($\times 10^{10}$ cell/ml)] และโปรโตซัว [$2.07, 2.07$ และ 1.84 ($\times 10^5$ cell/ml)] ลดลงทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.01$) และเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P < 0.01$) เมื่อเพิ่มระดับ DDCP ไปที่ 40% แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับ 20% DDCP และกลุ่มควบคุม และการศึกษาผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตพบว่า อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ($74.51, 72.77$ และ 60.15 g/d) ลดลงแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น คือกลุ่มที่ได้รับสูตร 40% DDCP มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันต่ำกว่าทุกกลุ่ม โดยที่กลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน ส่วนอัตราการเพิ่มน้ำหนักต่ออาหารที่ใช้ (G:F) ($0.14, 0.13$ และ 0.12 kg of gain/kg of DMI) มีผลไปในทางเดียวกันคือ ลดลงแบบเส้นตรง (linear, $P < 0.05$) ตามระดับที่เพิ่มขึ้นของ DDCP แต่ไม่มีผลแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับ 20% DDCP และกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองครั้งนี้สรุปว่า สามารถใช้ DDCP ได้ 20% ในสูตรอาหารชั้นโดยไม่กระทบต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของแพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทย

คำสำคัญ : กากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล แพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทย

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: kaninbunnakit@hotmail.com

Effects of Using Distillers Dried Cassava Pulp (DDCP) from Ethanol Production on Growth Performance of Growing Thai Native Goats

Kanin Bunnakit^{*}

*Faculty of Liberal Arts and Science, Roi-et Rajabhat University,
Kohkaew, Selaphum, Roi-Et, 45120, Thailand.*

Abstract

This study was to evaluate the effects of using distillers dried cassava pulp (DDCP) from ethanol production on growth performance of growing Thai Native goats. Twelve Thai Native male goats (14.28±2.60 kgBW and 210.5±69.97 days of age) were used in a randomized complete block design (RCBD). The treatments were the three levels of distillers dried cassava pulp (DDCP) in the concentrate mixes at 0%, 20% and 40% of diet DM. All animals were fed rice straw *ad libitum* as roughage. The results showed that total dry matter (DM) intake was not significantly different among dietary treatments (538.95, 550.80 and 511.91 gDM/d; $P>0.05$). Increase in level of DDCP caused decreased linearly ($P<0.01$) and quadratically ($P<0.01$) in dry matter digestibility (66.36, 65.69 and 59.60 %) and organic matter (OM) digestibility (67.27, 66.59 and 60.65 %) and were lowest in goats fed at 40% DDCP. Ruminal ammonia-N ($\text{NH}_3\text{-N}$) concentration (12.29, 12.31 and 15.84 mg%) was highest in goats fed 40% DDCP and showed that with increasing level of DDCP in the diet caused increased linearly ($P<0.01$) and quadratically ($P<0.01$) in ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration. Moreover, total volatile fatty acid (TVFAs) linearly decreases ($P<0.01$) (85.03, 83.16 and 75.1 mM/l) reflecting increases in level of DDCP. Bacteria [$2.25, 2.24$ and 1.98×10^{10} cell/ml] and protozoa [$2.07, 2.07$ and 1.84×10^5 cell/ml] populations also decreased linearly ($P<0.01$) and quadratically ($P<0.01$) as the level of DDCP increased, but, goats fed at 0% and 20% DDCP were not differ. Average daily gain (ADG) (74.51, 72.77 and 60.15 g/d) was decreased linearly ($P<0.01$) as the level of DDCP was increased. Moreover, Gain to Feed ratio (G:F) (0.14, 0.13 and 0.12 kg of gain/kg of DMI) decreased linearly ($P<0.05$) as DDCP increased in the ration and were lowest in goats fed 40% DDCP, but at 0 and 20% DDCP were not differ. It could be concluded that DDCP inclusion in concentrate for growing Thai Native goat at 20% without any negative effect on growth performance.

Keywords: Distillers dried cassava pulp from ethanol production (DDCP), Growing Thai Native goats

* Corresponding author: E-mail : kaninbunnakit@hotmail.com

บทนำ

ปัจจุบันทุกประเทศทั่วโลกได้ให้ความสนใจในการศึกษาหาแหล่งพลังงานทดแทนในรูปแบบต่างๆ กันอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะพลังงานเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ซึ่งในอดีตที่ผ่านมาได้จากน้ำมันปิโตรเลียมเป็นส่วนใหญ่ส่งผลให้ทุกแหล่งต่างๆ ทั่วโลกมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วและมีราคาเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้การเผาผลาญพลังงานดังกล่าวยังก่อให้เกิดมลภาวะกับสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ดังนั้นการหาพลังงานทางเลือกที่มีราคาถูกและมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่น้อยกว่า คือทางออกของปัญหาดังกล่าว วัตถุประสงค์สำหรับผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงที่ได้รับความนิยมมากขึ้นจากทั่วโลก คือ เอทานอล ซึ่งสามารถผลิตได้จากส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็นจากเมล็ดธัญพืช พืชน้ำตาลและพืชหัว เป็นต้น สำหรับประเทศไทยนั้นในแต่ละปีมีการผลิตพืชดังกล่าวได้ในปริมาณมากและเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะมันสำปะหลัง ซึ่งนำเข้าเป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นทุกปี ขณะเดียวกันก็มีเศษเหลือออกมาเพิ่มขึ้นเป็นเงาตามตัวเช่นกัน ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้มากหากมีการจัดการที่ไม่ถูกวิธี จากสถานการณ์ดังกล่าว Sriroth *et al.* (2012) ได้แนะนำทางออกโดยศึกษาข้อมูลจากหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นทุกปีเช่นกัน แต่ใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตมากกว่า 60% โดยเรียกเศษเหลือนี้ว่า “dried distillers grain with solubles (DDGS)” และมีวิธีการหนึ่งในการจัดการกับเศษเหลื่อดังกล่าว คือ หลังจากกลั่นแยกเอทานอลออกไปแล้วจะนำไปเป็นอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ซึ่งการศึกษาของ Luepp *et al.* (2009) รายงานว่าสามารถใช้ในสูตรอาหารโคเนื้อเพศผู้ได้ถึง 30% โดยไม่กระทบกับประสิทธิภาพการผลิตแต่อย่างใด ส่วน Schauer *et al.* (2008) ได้ศึกษาในแกะรุ่นเพศผู้พบว่าสามารถใช้ได้ถึง 60% โดยไม่กระทบต่อคุณภาพซาก นอกจากนี้ Felix *et al.* (2012) รายงานว่าการใช้ที่ระดับไม่เกิน 20% ในสูตรอาหารแกะรุ่นเพศผู้ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต จากข้อมูลดังกล่าวจึงนำมาเป็นแนวคิดในการจัดการกับเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเอทานอลในประเทศไทย เนื่องจากเศษเหลือทั้งสองชนิดมีความคล้ายกัน คือ ทั้ง DDGS และกากมันสำปะหลังคือ เศษเหลือจากกระบวนการผลิตเอทานอล ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักของยีสต์เหมือนกัน จึงน่าจะสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนและพลังงานแก่สัตว์ได้เช่นเดียวกัน

นักวิชาการหลายกลุ่มในประเทศไทยได้ศึกษาหาแนวทางการนำมาเป็นอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะการใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง แต่ก็อยู่ในวงจำกัดและได้ข้อมูลที่ยังไม่ชัดเจนเพียงพอเพื่อขยายผลสู่เกษตรกรที่จะนำไปใช้ในการผลิตปศุสัตว์อย่างจริงจัง นอกจากนี้ข้อมูลทางวิชาการรายงานว่ากากมันสำปะหลังที่เหลือจากกระบวนการผลิตเอทานอล (distillers dried cassava pulp; DDCP) มีโปรตีนต่ำกว่า DDGS จากข้าวโพดมาก โดยมีโปรตีนหยาบประมาณ 11-14% และอาจเป็นโปรตีนคุณภาพต่ำอีกด้วย ส่วน DDGS จากข้าวโพดมีโปรตีนหยาบประมาณ 30% (Sriroth *et al.*, 2012) ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ที่สุด เนื่องจากในปัจจุบันยังมีรายงานการศึกษาย้อย่างจำกัด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ถึงข้อมูลแนวทางการนำกากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอลมาเป็นอาหารแพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทยในการเพิ่มสมรรถภาพการผลิต ลดต้นทุนการค่าอาหารแพะเนื้อแก่เกษตรกรได้ และลดมลภาวะของสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

สัตว์ทดลองที่ใช้ คือ แพะรุ่นพันธุ์พื้นเมืองไทยเพศผู้ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 14.28 ± 2.60 กิโลกรัม และอายุเฉลี่ย 210.5 ± 69.97 วัน จำนวน 12 ตัว โดยมีวิธีการจัดการสัตว์ทดลองดังนี้

1.1 ระยะก่อนทดลอง (preliminary period) ซึ่งแพะทุกตัวในคอกรวมประมาณ 3 สัปดาห์ ที่มีรางอาหารและรางน้ำเพียงพอ โดยได้รับฟางแห้งเต็มที่ (*adlib*) ร่วมกับอาหารขั้นสูตรควบคุม (control) ทำการถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีนป้องกันโรค และทำเครื่องหมายโดยการติดเบอร์หู และดูแลให้แพะทุกตัวมีสุขภาพสมบูรณ์ที่สุด

1.2 ระยะปรับสัตว์ (adjusting period) สุ่มจัดแพะเข้าคอกขังเดี่ยวคอกละตัว รวม 12 คอก ตามแผนการทดลองแบบ สุ่ม ใน บล็อก สมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) ช่วงนี้อาหารขั้นที่ให้คือ สูตรควบคุม (control) ที่กำหนดไว้ วันละ 2 ครั้ง เช้า (07.00 น.) และเย็น (16.00 น.) โดยให้อาหารขั้น ในระดับ 1.5% BW โดยคำนวณให้มีระดับโปรตีน 16% ได้รับอาหารหยาบคือฟางแห้งเต็มที่ (*adlib*) ให้น้ำสะอาดอย่างเพียงพอตลอดเวลา เพื่อปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยว

การจัดการดูแล และสภาพแวดล้อมในโรงเรือนทดลองนานประมาณ 15 วัน

1.3 ระยะเวลาทำการทดลอง (experimental period) แพะทุกตัวได้รับอาหารที่กำหนดตามแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) โดยแบ่งแพะออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัวโดยใช้ความแตกต่างด้านอายุและน้ำหนักตัวสัตว์ในการจัดกลุ่ม (blocks) กำหนดให้แพะทดลองได้รับอาหารชั้นที่มีระดับกากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล (distillers dried cassava pulp, DDCP) ที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1) 0% DDCP (กลุ่มควบคุม), 2) 20% DDCP และ 3) 40% DDCP โดยให้วันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้า (07.00 น.) และเย็น (16.00 น.) โดยให้อาหารชั้นที่คำนวณให้มีระดับโปรตีน 16% ในระดับ 1.5% BW และได้รับอาหารหยาดคือฟางแห้งแบบเต็ม (adlib) โดยให้น้ำสะอาดอย่างเพียงพอตลอดเวลา เพื่อปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยว รูปแบบการจัดการดูแล และสภาพแวดล้อมในโรงเรือนทดลองนานประมาณ 15 วัน และปรับระดับปริมาณอาหารที่ให้อาหารทุกวัน 15 วัน โดยปรับตามน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในแต่ละช่วงหลังจากได้ข้อมูลน้ำหนัก

2. การเก็บข้อมูล

2.1 บันทึกปริมาณการกินได้ของอาหารหยาดและอาหารชั้น โดยการนำอาหารทั้งหมดที่เหลือในแต่ละวันมาชั่งน้ำหนักก่อนการให้อาหารเช้าเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้ต่อวัน

2.2 บันทึกข้อมูลน้ำหนักตัว โดยทำการชั่งน้ำหนักเป็นประจำทุกๆ 15 วัน ในตอนเช้ามืดให้อาหารเพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต

2.3 อาหารทดลองจะถูกสุ่มเก็บตัวอย่างในช่วงของการทดลองทุกสัปดาห์ และนำมาผสมรวมกันในสัดส่วนที่เท่ากันก่อนนำเข้าอบที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำหนักคงที่ เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณวัตถุแห้งและใช้ในการคำนวณหาปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อวันและอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำหนักคงที่เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ เถ้า (Ash), โปรตีนหยาด (CP) ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (2000) และหา neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL) ตามวิธีการของ Van Soest *et al.* (1991) และ acid

insoluble ash (AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1997)

2.4 การสุ่มเก็บตัวอย่างมูล เริ่มสุ่มเก็บ 5 วันติดต่อกันในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยเก็บแบบทั้งหมด (total collection) ด้วยการใช้ถาดรองมูลใต้กรงมูลสดทั้งหมดซึ่งน้ำหนักเป็นรายตัวในแต่ละวัน โดยทำการเก็บในช่วงเช้ามืดให้อาหาร จากนั้นคลุกทุกส่วนให้เข้ากัน ส่วนที่ 1 สุ่มเก็บประมาณ 1 กิโลกรัม นำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักจะคงที่เพื่อคำนวณหาวัตถุแห้งในมูล และนำไปคำนวณหาความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (DM) และมูลส่วนที่ 2 ทำการสุ่มเก็บไว้ประมาณ 5% ของแต่ละวัน นำมาคลุกเคล้ากัน และสุ่มเก็บไว้ นำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในมูลเช่นเดียวกับอาหาร เพื่อนำไปคำนวณหาความสามารถในการย่อยได้ของโภชนาในอาหาร

2.5 สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน ทุกๆ 15 วันของการทดลอง เพื่อศึกษากระบวนการหมักในรูเมน โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ (stomach tube) ที่เวลา 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมงหลังการให้อาหารเช้า ของเหลวที่ได้นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทันทีหลังการสุ่มเก็บด้วยเครื่อง pH meter จากนั้นสุ่มส่วนที่ 1 เพื่อเก็บไว้สำหรับตรวจนับจำนวนและชนิดของประชากรแบคทีเรียและโปรโตซัว ตามวิธีการของ Galyean (1989) และส่วนที่ 2 สุ่มเก็บในปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำไฮโดรคลอริก (6 N HCl) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อเก็บรักษาและเป็นการหยุดชะงักกิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ก่อนการนำไปเหวี่ยงใสและแช่แข็งที่อุณหภูมิ -16 องศาเซลเซียสเพื่อรอทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ตามวิธีการของ Bremner and Keeney (1965) และกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายทั้งหมดด้วยวิธีการกลั่นและไทเทรตตามวิธีการของ Briggs *et al.* (1957)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษามาหาความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ โดยการใช้ Duncan New's Multiple Range Test (Proc GLM of SAS; SAS, 1996) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) และศึกษา

แนวโน้มนการตอบสนองของการเพิ่มระดับ DDCP ด้วยวิธี
Orthogonal Polynomial (Steel and Torries, 1980)

ผลการวิจัย

1. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

อาหารหยาบที่ใช้ในงานทดลองครั้งนี้คือ ฟางแห้ง
เมื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 2)
พบว่า มีโปรตีนหยาบ (CP) 2.1%, เยื่อใยที่ไม่ละลายในสาร
ฟอกที่เป็นกลาง (NDF) 64.5%, เยื่อใยที่ไม่ละลายในสาร
ฟอกที่เป็นกรด (ADF) 46.1% และลิกนิน (acid detergent
lignin, ADL) 9.2% ส่วนอาหารชั้น ผลจากการวิเคราะห์ใน
สูตรอาหารทดลอง พบว่ามีโปรตีนหยาบ (CP) 16.3%,

16.3% และ 16.2% สำหรับสูตรควบคุม, สูตร 20% DDCP
และ 40% DDCP ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับระดับที่คำนวณ
ไว้ที่ 16% CP ส่วน NDF มีค่าเท่ากับ 16.7%, 17.3% และ
18.9%, ADF มีค่าเท่ากับ 8.8%, 9.4% และ 10.6% และ
ระดับของลิกนินที่ได้จากการวิเคราะห์ค่า ADL มีค่าเท่ากับ
3.7%, 3.9% และ 4.4% ตามลำดับ ซึ่งทั้ง NDF, ADF และ
ADL ในสูตร 40% DDCP มีค่าสูงกว่าทุกสูตรเล็กน้อย ส่วน
กากมันสำปะหลังซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิต
เอทานอล (DDCP) ที่นำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ามี
ค่าเฉลี่ยของโปรตีนหยาบ (CP) 9.8%, NDF 40.2%, ADF
20.5% และ ADL 4.9% ตามลำดับ

Table 1 Ingredients of dietary treatment containing in varying amounts of DDCP (%DM basis)

Ingredient	Dietary treatment (DDCP, %)		
	0	20	40
DDCP	0.0	20.0	40.0
Cassava pulp	49.3	38.3	6.3
Rice bran	20.0	14.0	10.0
Soybean meal	14.0	11.0	7.0
Palm meal	7.0	7.0	7.0
Molasses	6.0	6.0	6.0
Sulfur	0.2	0.2	0.2
Urea	2.0	2.0	2.0
Lime stone	0.5	0.5	0.5
Salt (NaCl)	0.5	0.5	0.5
Mixed mineral	0.5	0.5	0.5
Total	100.0	100.0	100.0

DDCP: distillers dried cassava pulp from ethanol production

Table 2 Chemical composition of dietary treatment

Chemical composition (%) ²	Dietary treatment (DDCP, %) ¹			Rice straw	DDCP
	0	20	40		
DM	91.4	90.8	90.3	95.8	91.6
.....%DM.....					
OM	92.2	91.8	91.4	92.6	93.1
CP	16.3	16.3	16.2	2.1	9.8
NDF	16.7	17.3	18.9	64.5	40.2
ADF	8.8	9.4	10.6	46.1	20.5
ADL	3.7	3.9	4.4	9.2	4.9
Ash	7.8	8.2	8.6	7.4	6.9

¹Level of DDCP = 0%, 20% and 40%²Based on analysis of composite feed sample; DM: dry matter, OM: organic matter, NDF: neutral detergent fiber, ADF: acid detergent fiber, ADL: acid detergent lignin, AIA: acid insoluble ash, CP: crude protein**Table 3** Effect of levels of DDCP on feed intake and digestible nutrient intake of goats

Items	Dietary treatment (DDCP, %)			SEM	P-value	Contrast*	
	0	20	40			L	Q
Feed intake (gDM/d)	N=4	N=4	N=4				
Concentrate	114.13 ^a	109.85 ^a	84.69 ^b	6.48	0.04	0.02	0.24
Roughage	424.82	440.95	427.21	14.44	0.71	0.91	0.43
Total intake	538.95	550.80	511.91	14.04	0.21	0.22	0.19
Total intake (%BW)	3.25	3.27	3.23	0.08	0.93	0.80	0.77
Total intake (g/kgBW ^{0.75})	65.52	66.05	64.26	1.58	0.72	0.62	0.57
Nutrient intake (g/d)							
OM	498.61	509.16	473.01	13.01	0.21	0.22	0.19
CP	27.53 ^a	27.17 ^a	22.69 ^b	1.02	0.03	0.02	0.15
Digestible nutrient intake (g/d)							
OM	335.49 ^a	339.28 ^a	286.7 ^b	10.89	0.03	0.02	0.08
MCP	43.61 ^a	44.11 ^a	37.27 ^b	1.42	0.03	0.02	0.08

SEM = standard error of the mean, *Orthogonal polynomial contrast L= linear and Q= quadratic, MCP (microbial crude protein) = 0.13 x kgDOMI (ARC, 1984)

2. ปริมาณการกินได้อย่างอิสระ

ปริมาณการกินได้ของอาหารข้น อาหารหยาบ และปริมาณการกินได้ทั้งหมด (ตารางที่ 3) พบว่าระดับของ DDCP ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ทั้งหมด (538.95, 550.80 และ

511.91 gDM/d; $P>0.05$) และปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบ (424.82, 440.95 และ 427.21 gDM/d, $P>0.05$) แต่เมื่อพิจารณาถึงปริมาณการกินได้ของอาหารข้น (114.13, 109.85 และ 84.69 gDM/d) โดยเมื่อเพิ่มระดับ DDCP ใน

อาหารทดลองจาก 20% ไปที่ 40% พบว่าปริมาณการกินได้ของอาหารของชั้นลดลงเป็นแบบเส้นตรง (linear, $P<0.05$) โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีปริมาณการกินได้ของอาหารของชั้นต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับปริมาณการกินได้ของโปรตีนหยาบ คือ 27.53, 27.17 และ 22.69 g/d ที่ลดลงเป็นแบบเส้นตรง (linear, $P<0.05$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุม ส่วนปริมาณการกินได้ของโภชนะที่ย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (OM) คือ 335.49, 339.28 และ 286.7 g/d และจุลินทรีย์โปรตีน (MCP) ที่ได้รับ คือ 43.61, 44.11 และ 37.27 g/d สำหรับสูตรควบคุม, สูตร 20% DDCP และ 40% DDCP ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณการกินได้ลดลงเป็นแบบเส้นตรง (linear, $P<0.05$) โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีปริมาณการกินได้ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่ไม่มีแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุม

3. ความสามารถในการย่อยได้

ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะ (ตารางที่ 4) พบว่าความสามารถในการย่อยได้ทั้งในส่วนของวัตถุดิบแห้ง

(dry matter digestibility) คือ 66.36, 65.69 และ 59.60% และอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility) คือ 67.27, 66.59 และ 60.65% ซึ่งลดลงทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P<0.01$) และแบบเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P<0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีความสามารถในการย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่ม 20% DDCP ไม่แตกต่างกัน

4. สมรรถภาพการเจริญเติบโต

เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) (ตารางที่ 4) พบว่ากลุ่มที่ได้รับระดับ 20% DDCP และกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ขณะที่กลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) คือ 74.51, 72.77 และ 60.15 g/d โดยลดลงในลักษณะแบบเส้นตรง (linear, $P<0.01$) นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อปริมาณอาหารที่ใช้ (Gain to Feed ratio, G:F) คือ 0.14, 0.13 และ 0.12 kg of gain/kg of DMI ลดลงแบบเป็นเส้นตรง (linear, $P<0.05$)

Table 4 Effect of levels of DDCP on digestibility and growth performance of goats

Items	Dietary treatment (DDCP, %)			SEM	P-value	Contrast*	
	0	20	40			L	Q
	N=4	N=4	N=4				
Digestibility (%DM)							
DM	66.36 ^a	65.69 ^a	59.60 ^b	0.43	<0.01	<0.01	<0.01
OM	67.27 ^a	66.59 ^a	60.65 ^b	0.42	<0.01	<0.01	<0.01
Body weight (kg)							
Initial weight	14.35	14.79	14.22	-	-	-	-
Final weight	18.82 ^{ab}	19.17 ^a	17.83 ^b	0.29	0.04	0.05	0.06
ADG (g/d)	74.51 ^a	72.77 ^a	60.15 ^b	1.93	<0.01	<0.01	0.06
Gain to Feed ratio (G:F)	0.14 ^a	0.13 ^{ab}	0.12 ^b	0.005	0.06	0.03	0.42

SEM = standard error of the mean, *Orthogonal polynomial contrast L= linear and Q= quadratic, ADG = average daily gain

5. ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมัก

ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมัก (ตารางที่ 5) จากผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวจากกระเพาะหมัก คือ 6.34, 6.48 และ 6.56 ซึ่งพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P<0.05$) และแบบเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P<0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่ากลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าทุกกลุ่ม ทำนองเดียวกับระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ในกระเพาะหมัก คือ 12.29, 12.31 และ 15.84 mg% ซึ่งพบว่าเพิ่มขึ้นทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P<0.01$) และ แบบเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P<0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น โดยจะเห็นว่าทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ในกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP สูงกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ในทางตรงกันข้ามกับระดับของกรดไขมันที่ระเหยได้ง่ายรวมทั้งหมด (total volatile fatty acid, TVFAs) คือ 85.03, 83.16 และ 75.1 mM/L มีลักษณะการลดลงเป็นแบบเส้นตรง (linear, $P<0.01$) เมื่อเพิ่มระดับ DDCP จาก 20%

เป็น 40% โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีระดับความเข้มข้นต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) แต่กลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุมมีระดับความเข้มข้นที่ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$)

6. ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

จากการตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ทั้งในส่วน of ประชากรแบคทีเรีย และประชากรโปรโตซัวจากของเหลวในกระเพาะหมัก (ตารางที่ 5) พบว่ามีประชากรแบคทีเรีย คือ 2.25, 2.24, 1.98 ($\times 10^{10}$ cell/ml) และประชากรโปรโตซัว คือ 2.07, 2.07, 1.84 ($\times 10^5$ cell/ml) ซึ่งลดลงทั้งแบบเส้นตรง (linear, $P<0.01$) และเส้นโค้งกำลังสอง (quadratic, $P<0.01$) ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างในกลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุม พบว่าไม่แตกต่างกัน โดยที่กลุ่ม 40% DDCP มีประชากรทั้งในส่วน of แบคทีเรีย และโปรโตซัว ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

Table 5 Effect of levels of DDCP on rumen fermentation and microbe population of goats

Items	Dietary treatment (DDCP, %)			SEM	P-value	Contrast*	
	0	20	40			L	Q
	N=4	N=4	N=4				
pH	6.34 ^b	6.48 ^b	6.56 ^a	0.01	<0.01	0.02	<0.01
$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg%)	12.29 ^b	12.31 ^b	15.84 ^a	0.10	<0.01	<0.01	<0.01
TVFAs (mM/L)	85.03 ^a	83.16 ^a	75.10 ^b	1.30	<0.01	<0.01	0.10
Bacteria ($\times 10^{10}$ cell/ml)	2.25 ^a	2.24 ^a	1.98 ^b	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Protozoa ($\times 10^5$ cell/ml)	2.07 ^a	2.07 ^a	1.84 ^b	0.01	<0.01	<0.01	<0.01

SEM = standard error of the mean, *Orthogonal polynomial contrast L= linear and Q= quadratic , TVFAs= total volatile fatty acid

1. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง เมื่อพิจารณาถึงปริมาณเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (NDF) พบว่าสูตร 40% DDCP มีค่าสูงกว่าสูตรเล็กน้อยคือ 18.9% ซึ่งเป็นผลมาจาก DDCP มีระดับ NDF ค่อนข้างสูง เมื่อเพิ่มปริมาณ DDCP ในสูตรอาหารทำให้ NDF มีระดับสูงขึ้นในสูตรอาหารตามไปด้วย โดยจากผลการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า DDCP มีระดับ NDF ค่อนข้างสูง คือ 40.2% และมีโปรตีน 9.8% ต่ำกว่าที่ Sriroth *et al.* (2012) รายงานไว้คือมีโปรตีนอยู่ในช่วงประมาณ 11-14% ส่วนที่รายงานโดย Phonsean *et al.* (2016), Pornjantuek *et al.* (2015) และ Laorodphan *et al.* (2013) คือมีระดับ NDF ประมาณ 49.7% และมีโปรตีนประมาณ 5-6% ดังนั้น จึงชี้ให้เห็นว่า องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังที่เหลือจากกระบวนการผลิตเอทานอลสำหรับประเทศไทยยังมีความแปรปรวนสูง (Sriroth *et al.*, 2012) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากมันสำปะหลังที่มีความแตกต่างด้านสายพันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว และแหล่งที่ปลูก นอกจากนี้ ในส่วนมาตรฐานวิธีการผลิตเอทานอลของแต่ละโรงงานที่แตกต่างกัน รวมทั้งวิธีการกักเก็บเศษเหลือที่ได้หลังจากกลั่นแยกเอทานอลออกแล้ว ซึ่งปกติจะมีความชื้นสูง ซึ่งถ้าหากเก็บกองในที่โล่งแจ้ง และปล่อยให้เกิดการทับถมกันในปริมาณมากๆ เป็นเวลานาน โดยไม่กำจัดความชื้นและทำการบรรจุหีบห่อที่เหมาะสม ก็อาจเกิดการหมักบูดเน่าเสีย และสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นประโยชน์ในที่สุด โดยเฉพาะโปรตีนหยาบ

2. ปริมาณการกินได้อย่างอิสระ

เมื่อพิจารณาปริมาณการกินได้อย่างอิสระในส่วนของการกิน โดยพบว่าเมื่อเพิ่มระดับ DDCP ไปที่ 40% ส่งผลให้ปริมาณการกินได้ของอาหารชั้นลดลง ทำนองเดียวกับปริมาณการกินได้ของโปรตีนหยาบพบข้อมูลไปในทางเดียวกัน คือลดลงตามระดับที่เพิ่มขึ้นของ DDCP ในสูตรอาหาร ส่งผลให้ปริมาณการได้รับโภชนาที่ย่อยได้ในส่วนอินทรีย์วัตถุ (OM) และปริมาณการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (MCP) ลดลงตามมาอีกด้วย ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มระดับ DDCP ทำให้สูตรอาหารมีความฟามสูงทำให้มีความน่ากินต่ำ สอดคล้องกับรายงานของ Sriroth *et al.* (2012) ที่ว่าเมื่อคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (non-structural carbohydrate; NSC) คือ แป้งและน้ำตาลส่วนปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2561

ใหญ่ในมันสำปะหลังถูกหมักย่อยกลายเป็นเอทานอลจะส่งผลให้กากที่เหลือจากกระบวนการหมักส่วนใหญ่ที่ทำให้แห้งและนำมาเป็นอาหารสัตว์นั้นจะเป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (structural carbohydrate) ส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลสซึ่งเป็นเยื่อใยที่ย่อยสลายช้าและมีความฟามสูง ซึ่ง Lammers *et al.* (1995) รายงานว่า เมื่อปริมาณเยื่อใยในอาหารเพิ่มขึ้นทำให้อาหารมีความฟามสูงเมื่อเข้าสู่กระเพาะสัตว์จะรู้สึกอิ่มเร็วส่งผลให้กินอาหารได้น้อยลง นอกจากนี้ Van Soest (1994) รายงานว่า เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีเยื่อใยที่มีลักษณะเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่สูงจะส่งผลให้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักย่อยได้น้อยลง และต้องใช้เวลาในการย่อยนานขึ้น จึงเกิดการไหลผ่านออกจากกระเพาะหมักช้า ทำให้กระเพาะไม่มีพื้นที่เพียงพอสำหรับอาหารที่จะรับเข้าไปใหม่ และ Chen and Gomest (1992) กล่าวว่าสาเหตุดังกล่าว ยังส่งผลต่อการสร้างเซลล์ของจุลินทรีย์ และปริมาณจุลินทรีย์โปรตีนที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ลดลงอีกด้วย ซึ่งการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน สามารถประเมินได้จากปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM) ที่ย่อยได้ ซึ่งถ้า OM ย่อยได้แตกต่างกัน การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนก็จะแตกต่างกันด้วย ดังนั้นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลที่นำมาผสมในสูตรอาหารชั้นจึงควรใช้ในระดับที่เหมาะสมซึ่งมีรายงานการศึกษาในโคนมโดย Kalscheur (2006) ว่าเมื่อผสม DDGS ในสูตรอาหารชั้นมากกว่า 20% พบว่าโคนมมีปริมาณการกินได้ลดลง ยิ่งไปกว่านั้นหากเพิ่มระดับไปที่ 30% ปริมาณการกินได้ยิ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอีกด้วย

3. ความสามารถในการย่อยได้

ความสามารถในการย่อยได้ที่พบจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าความสามารถในการย่อยได้ทั้งในส่วนของวัตถุแห้ง (dry matter digestibility) และอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility) ลดลง ตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีความสามารถในการย่อยได้ต่ำกว่าทุกกลุ่ม แต่ในกลุ่ม 20% DDCP ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม ซึ่งได้ข้อมูลที่สอดคล้องกับ Pornjantuek *et al.* (2015) ที่ศึกษาในแพะเนื้อโดยใช้กากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอลพบว่าหากใช้ในสูตรอาหารมากกว่า 20% จะส่งผลให้ความสามารถในการย่อยได้ลดลงทั้งในวัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ และโปรตีน โดยมีข้อมูลทางวิชาการรายงานไว้ว่าหากสูตรอาหาร มีระดับโภชนาที่ย่อยสลายได้สมดุลกันโดยเฉพาะโปรตีนและพลังงาน ซึ่งอาศัยกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์นั้นเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จะส่งผลให้เกิดการย่อยได้ของวัตถุแห้งและ

อินทรีย์วัตถุ รวมทั้งเกิดการปลดปล่อยโภชนาที่สำคัญต่อตัวสัตว์เองและในจุลินทรีย์มากขึ้น และจุลินทรีย์จะสามารถเพิ่มการขยายจำนวนและสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนมากตามไปด้วย (Chen and Gomes, 1992) นอกจากนี้ NRC (2001) รายงานว่าหากอาหารหยาบที่มีผนังเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 50% ขึ้นไป ทำให้ปริมาณการกินได้และการย่อยได้ลดลง

4. สมรรถภาพการเจริญเติบโต

สมรรถภาพการเจริญเติบโต จากการศึกษาในครั้งนี้นับพบว่า อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) ของกลุ่มที่ได้รับระดับ DDCP 20% ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม แต่กลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำกว่าทุกกลุ่ม นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อปริมาณอาหารที่ใช้ (Gain to Feed ratio, G:F) ลดลงแบบเป็นเส้นตรง (linear, $P < 0.05$) ซึ่งให้เห็นว่าการเพิ่มระดับ DDCP จาก 20% เป็น 40% ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษา โดย Pornjantuek *et al.* (2015) ที่รายงานว่าการเพิ่มการใช้ในสูตรอาหารแพะเนื้อจาก 10% เป็น 20% ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ส่วนรายงานของ Maynard (2015) ได้ศึกษาการใช้ DDGS ในอาหารแพะพบว่า กลุ่มที่ได้รับ DDGS มากกว่า 30% มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นเมื่อพิจารณาผลจากการศึกษาครั้งนี้จึงพอจะให้เหตุผลสนับสนุนได้ว่าแพะในกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP นั้นมีปริมาณการกินอาหารขึ้นได้ต่ำ โดยถึงแม้ว่าจะสามารถกินอาหารหยาบได้มาก ซึ่งก็คือฟางแห้ง ที่มีปริมาณโภชนาต่ำ โดยเฉพาะมีโปรตีนหยาบเพียง 2.1% ในขณะที่มีเยื่อใยสูงโดยพิจารณาจากระดับ NDF 64.5% จึงส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ เพราะจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ต้องใช้เวลาย่อยสลายนาน จึงเกิดโภชนาที่สัตว์จะได้รับเพื่อสร้างการเจริญเติบโตได้น้อย ทั้งนี้สามารถพิจารณาได้จากอัตราการเจริญเติบโตต่อปริมาณอาหารที่ใช้ (Gain to Feed ratio, G:F) ในกลุ่ม 40% DDCP คือ 0.12 กิโลกรัมต่ออาหารที่ได้รับ 1 กิโลกรัม นั่นแสดงว่าสัตว์กินอาหารได้มาก แต่สามารถนำไปสร้างการเจริญเติบโตได้น้อย นอกจากนี้แหล่งโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ยังต้องมีอัตราการย่อยสลายที่ประสานกันอย่างสมดุลด้วย จุลินทรีย์จึงจะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเกิดการผลิตโภชนาออกมาอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโต และขยายจำนวนของจุลินทรีย์ รวมทั้งการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนที่มากขึ้นด้วย (Maeng *et al.*, 1997)

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

5. ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมัก

ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการหมัก พบว่าทั้งความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ในของเหลวจากกระเพาะหมัก เพิ่มขึ้นตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น โดยทั้งค่า pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ และ TVFAs ในกลุ่มที่ได้รับ 20% DDCP และกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรด-ด่างในทุกกลุ่ม ถือว่าอยู่ในช่วงปกติคืออยู่ในช่วงประมาณ 6 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Pornjantuek *et al.* (2015) ที่รายงานไว้คือมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.3-6.8 สำหรับแพะเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล ส่วน Phonsean *et al.* (2016) รายงานว่า ในโคเนื้อที่ได้รับอาหารผสมกากเอทานอลหมักยีสต์ มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6-7 นอกจากนี้ยังมีรายงานทางวิชาการว่า ความเป็นกรด-ด่างเกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ โดยถ้ามีประสิทธิภาพสูงสามารถผลิตกรดไขมันที่ระเหยง่ายได้สูงด้วย และมีผลให้ระดับค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นในเวลาต่อมา อย่างไรก็ตามตัวสัตว์เองจะมีกลไกควบคุมความเป็นกรดในกระเพาะหมักให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมด้วยการดูดซึมกรดไขมันที่ระเหยง่ายเพื่อนำไปเป็นแหล่งพลังงานสำหรับตัวสัตว์ต่อไป (Volden *et al.*, 2002) ส่วนค่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับ DDCP จาก 20% เป็น 40% ซึ่งความสอดคล้องกับรายงานของ Pornjantuek *et al.* (2015) ว่าในแพะเนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอลในสูตรอาหารผสมสำเร็จมากกว่า 20% พบว่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นแบบเส้นโค้งกำลังสอง แต่ถือว่ามีความอยู่ในช่วงปกติ โดยมีค่าใกล้เคียงกับรายงานทางวิชาการว่า ในกระเพาะหมักมีความต้องการแอมโมเนีย-ไนโตรเจน เพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประมาณ 15 mg% (Wanapat, 2000; Song and Kenelly, 1990) ส่วน Preston and Leng (1984) ได้รายงานว่า แอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ 23.8 mg% เป็นระดับที่มีการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนสูงที่สุด นอกจากนี้มีรายงานโดย Erdman *et al.* (1986) ว่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ 17-25 mg% เป็นระดับที่มีการย่อยได้ของวัตถุดิบสูงที่สุด ซึ่ง Kolver *et al.* (1998) ให้เหตุผลทางวิชาการเพิ่มเติมว่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อนำไปสังเคราะห์กรดอะมิโนร่วมกับกรดคีโต (keto acid) ได้ส่วนประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ และเปลี่ยนเป็นจุลินทรีย์โปรตีนสำหรับสัตว์นำไปใช้ประโยชน์ต่อไป อย่างไรก็ตามถ้ามีระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สูงเกินกว่าที่จุลินทรีย์จะใช้ประโยชน์ได้จะเกิด

วารสารเกษตรพระวรุณ 314

การสะสม ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในของเหลวจาก กระเพาะหมักเพิ่มสูงขึ้นระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของ จุลินทรีย์ และยังเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ด้วย ผลกระทบนี้ จะต่อเนื่องมาถึงตัวสัตว์ในเวลาต่อมา คือ ปริมาณโภชนะที่เป็นประโยชน์สำหรับตัวสัตว์จะลดลง โดยถึงแม้ตัวสัตว์เอง จะมีกลไกควบคุมให้มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในระดับที่เหมาะสมด้วยการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อเปลี่ยนเป็น ยูเรียซึ่งมีความเป็นพิษลดลง และขับออกทางปัสสาวะ แต่ถ้า มีระดับที่สูงเกินไปสัตว์ก็ไม่สามารถขับออกได้ทันจึง ก่อให้เกิดอันตรายต่อตัวสัตว์ได้ ซึ่ง Preston *et al.* (1965) รายงานว่า ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในกระเพาะหมักจะ มีความสัมพันธ์กันสูงกับระดับยูเรียในเลือด (BUN) โดยถ้า แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะหมักสูง BUN จะสูงตาม ไปด้วย ส่วนระดับความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ง่าย รวมทั้งหมด (Total volatile fatty acid, TVFAs) ที่พบจาก การศึกษาครั้งนี้ พบว่า ลดลงเมื่อเพิ่มระดับ DDCP จาก 20% เป็น 40% โดยกลุ่มที่ได้รับ 40% DDCP มีระดับความ เข้มข้นต่ำกว่าทุกกลุ่ม แต่ในกลุ่ม 20% DDCP และกลุ่ม ควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาของ Pornjantuek *et al.* (2015) พบว่า ในแพะเนื้อ ที่ได้รับกาก มันสำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล ในสูตร อาหารมากกว่า 20% ค่าความเข้มข้นกรดไขมันที่ระเหยได้ ง่ายรวมทั้งหมดจะลดลง และมีข้อมูลที่ยืนยันไว้โดย Volden *et al.* (2002) ว่าถ้าจุลินทรีย์ทำงานมีประสิทธิภาพ สูงสามารถผลิตกรดไขมันที่ระเหยง่ายได้สูงด้วย ซึ่งเป็นผล มาจากสัตว์ได้รับอาหารที่มีระดับโภชนะที่เหมาะสมจึงส่งผล ให้เกิดปัจจัยที่สำคัญต่างๆ ที่เพียงพอทั้งปริมาณและคุณภาพ ต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ Sinclair *et al.* (1993) และ Witt *et al.* (1999) กล่าวว่า การเพิ่มของจำนวนจุลินทรีย์จะมีผลเพิ่มการผลิตกรดไขมันที่ ระเหยง่าย ซึ่งจะเป็แหล่งของโครงกระดูก (C-skeleton) สำหรับสร้างจุลินทรีย์โปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตที่ถูกสัตว์นำไปใช้ ประโยชน์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงานและโปรตีนต่อไป

6. ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ประชากรจุลินทรีย์ทั้งในส่วน ของ แบคทีเรีย และ โปรโตซัว พบว่าลดลงตามระดับ DDCP ที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่ แตกต่างกันระหว่างในกลุ่ม 20% DDCP และกลุ่มควบคุม

โดยพบว่ากลุ่ม 40% DDCP มีประชากรทั้งในส่วน ของ แบคทีเรีย และโปรโตซัว ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทางสถิติ ($P < 0.01$) จากข้อมูลที่พบมีความเป็นไปได้ว่า การ เข้าย่อยสลายโภชนะของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของแพะ ที่ได้รับสูตรอาหาร 40% DDCP มีประสิทธิภาพต่ำกว่าใน แพะที่ได้รับสูตรอื่นๆ จึงอาจส่งผลให้เกิดโภชนะที่ไม่สมบูรณ์ เพียงพอต่อการเจริญ และขยายจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่ง Herrera-Saldana *et al.* (1990) รายงานว่าถ้าหากสัตว์ ได้รับอาหารที่มีแหล่งพลังงาน และโปรตีนที่มีสัดส่วนที่ใช้ ประโยชน์ได้ไม่สมดุลกันจะส่งผลให้จุลินทรีย์ในกระเพาะ หมักเกิดการเข้าย่อยสลายที่ขาดประสิทธิภาพ และเกิดการ ปลดปล่อยโภชนะต่างๆ เช่น แหล่งของโครงกระดูก (C-skeleton) และแหล่งไนโตรเจนซึ่งจำเป็นสำหรับสร้างเซลล์ และการขยายจำนวนของจุลินทรีย์ที่ไม่สมดุลกัน จึงส่งผลให้ การขยายจำนวนของจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในที่สุด

สรุปผลการวิจัย

ผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าแพะรุ่นพันธุ์พื้น เมืองไทยเพศผู้ในกลุ่มที่ได้รับสูตรอาหารชั้นที่มีกากมัน สำปะหลังที่เหลือจากการผลิตเอทานอล (DDCP) ที่ระดับ 20% มีสมรรถภาพการผลิตไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่ได้รับ สูตรควบคุม โดยพิจารณาได้จากปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ ผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการ หมัก ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก และอัตราการ เจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันที่ไม่แตกต่างกัน จึงมีข้อเสนอแนะว่า การใช้ DDCP ในระดับไม่เกิน 20% คือระดับที่เหมาะสม อย่างไรก็ดีตามการวิจัยในครั้งนี้ได้เพียงข้อมูลบางส่วนเพื่อ ขยายผลสู่การวิจัยด้านอื่นๆ ในอนาคตที่เกี่ยวข้องกับการใช้ DDCP ในสูตรอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิตอื่นๆ รวมถึง นิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ผลต่อสุขภาพ ระบบสืบพันธุ์ คุณภาพซากและการยอมรับของผู้บริโภค จึงควรมีการศึกษา เพิ่มเติมอีกต่อไปในอนาคต เพราะนอกจากจะเป็นการเพิ่ม มูลค่าเศษเหลือราคาถูกแล้วยังช่วยลดต้นทุนการผลิตสัตว์ แก่ เกษตรกรอีกด้วย รวมทั้งช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จากเศษเหลือชนิดนี้ที่จะมีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วใน อนาคตอันใกล้สำหรับประเทศไทยอีกด้วย

References

- AOAC. 2000. Official Analytical Method of Analysis. 15th ed. Washington, D.C. : The Association of Official Analytical Chemistry.
- Briggs, P. K., Hogan, J. F., and Reid, R. L. 1957. The effect of volatile fatty acid, lactic acid, and ammonia on rumen pH in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 8 : 674-710.
- Bremner, J.H., and Keeney D.R. 1965. Steam distillation methods of determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta*. 32 : 485-495.
- Chen, X.B., and Gomest, M. J. 1992. Estimate for microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives on overview of technical detail. Aberdeen : International Feed Resources Unit.
- Erdman, R.A., Proctor, G.H., and Vandersall, J.H. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 69 : 2312-2320.
- Felix, T. L., Zerby, H. N., Moeller, S. J., and Loerch, S. C. 2012. Effects of increasing dried distillers grain with solubles on performance, carcass characteristics, and digestibility of feedlot lambs. *Journal of Animal Science*. 90 : 1356-1363.
- Galyen, M. 1989. Laboratory Procedure in Animal Nutrition Research. Newmexico : Department of Animal and Rang Sciences.
- Herrera-Saldana, R., Gomez-Alarcon, R., Torabi, M., and Huber, J. T. 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *Journal of Dairy Science*. 73 : 142-148.
- Kalscheur, K. F. 2006. Feeding distillers grains to dairy cattle: Impact on milk fat, protein, and yield. *Distillers Grains Quarterly*. 1(3):20-21 and Part 2. 1(2):24-27.
- Kolver, E., Muller, L. D., Vaga, G. A., and Cassidy, T. J. 1998. Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 81 : 2017-2028.
- Lammers, B. P., Buckmaster, D. R., and Heinrichs, A. J. 1995. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*. 79 : 922-928.
- Luepp, J. L., Lardy, G. P., Karges, K. K., Gibson, M. L., and Caton, J. S. 2009. Effects of increasing level of corn distillers dried grains with soluble on intake, digestion, and ruminal fermentation in steers fed seventy percent concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 87 : 2906-2912.
- Laorodphan, N., Mikled, C., Chongkasikit, N., and Phatsara, C. 2013. Effects of the level of dried cassava pulp from ethanol process in the ration on rumen fermentation and digestibility in fistulated Thai native bull. *Journal of Agriculture*. 29 : 89-98.
- Maeng, W. J., Park, H., and Kim, H. J. 1997. The role of carbohydrate supplementation in microbial protein synthesis in the rumen. Tokyo : Japan Scientific Societies Press.

- Maynard, J. N. 2015. Live and carcass characteristics of Boer- and Savannah-cross kid buckling goats fed dried distillers grain with solubles. Louisiana : Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington, D.C. : Academic Science.
- Phonsean, K., Wachirapakorn, C., Wongnen, C., and Daenseekaew, W. 2016. Effect of Yeast-fermented Bio-ethanol Waste on Feed Intake, Digestibility and Rumen fermentation in Thai Native Cattle. *Prawarun Agricultural Journal*. 13 : 105-115.
- Pornjantuek, B., Wachirapakorn, C., Cherdthong, A., Suphrap, N., and Wongnen, C. 2015. Effect of Cassava Pulp from Ethanol Production in Total Mixed Ration on Feed Intake, Digestibility and Growth Performance of Meat Goat. *Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine*. 10(2) : 81-97.
- Preston, T.R., and Leng, R.A. 1984. Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Armidale : Penambul Book.
- Preston, R. L., Schnakanberg, D. D., and Pfander, W. H. 1965. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. *Journal of Nutrition*. 86 : 281-287.
- SAS. 1996. SAS User's Guide: Statistics. Version 6. 14th ed. Cary NC: SAS Inst.
- Schauer, C. S., Stamm, M. M., Maddock, T. D. and Berg, P. B. 2008. Feeding of DDGS in lamb rations Feeding dried distillers grains with solubles as 60 percent of lamb finishing rations results in acceptable performance and carcass quality. *Sheep & Goat Research Journal*. 23 : 15-19.
- Sinclair, L. A., Garnsworthy, P. C., Newbold, J. R., and Buttery, P. J. 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of Agricultural Science*. 120 : 251-263.
- Song, M. K., and Kennelly, J. J. 1990. Ruminal fermentation pattern, bacterial population and ruminal degradation of feed ingredients as influenced by ruminal ammonia concentration. *Journal of Animal Science*. 68 : 1110-1120.
- Sriroth, K., Wanlapatit, S., and Piyachomkwan, K. 2012. Cassava Bioethanol. [Online]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/bioethanol/-cassava-bioethanol> [2018, February 5].
- Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics with special reference to the biological sciences. New York : McGraw Hill.
- Van Keulen, J., and Young, B. A. 1997. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*. 44(2) : 282-287.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., and Lewts, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74(10) : 3583-3597.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutrition ecology of the ruminants. 2nd ed. New York : Cornell University Press.
- Volden, H., Mydland, L. T., and Olaisen, V. 2002. Apparent ruminal degradation and rumen escape of soluble nitrogen fraction in grass and grass silage administered intraruminally to

lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*. 80 : 2704-2716.

Wanapat, M. 2000. Rumen manipulation to increase the efficient use of local feed resources and productivity of ruminants in the tropics *Journal of Animal Science*. 13 : 59-67.

Witt, M. W., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., and Buttery, P. J. 1999. The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the production and metabolism of sheep: food characterization and growth and metabolism of ewe lambs given food *ad libitum*. *The British Society of Animal Science*. 69 : 223-235.

Effect of dietary *Piper samentosum* (Wild betal) leaves on activity of antioxidant enzymes in chicken meat

Umaporn Pastsart*

*Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University,
Surat Thani Campus, 84000, Thailand*

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the effect of *Piper samentosum* leaves (PSL) in broiler diets on antioxidant activities in meat. The meat samples (drumsticks) were taken from 60 broilers at 42 days old which were treated with 5 different levels of PSL; 1) fed by basal feed (8 birds per cage) 2) fed by basal feed (10 birds per cage) 3) fed by basal feed supplemented with 1% PSL (10 birds per cage) 4) fed by basal feed supplemented with 2% PSL (10 birds per cage) and 5) fed by basal feed supplemented with 3% PSL (10 birds per cage). Then the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were analyzed. The results showed that the activity of SOD were significantly different among all groups ($P < 0.01$). The supplementation of 3% PSL in broiler diets increased the activities of SOD compared to 0 and 1% PSL but no difference from 2% PSL. There was no significant difference in activity of CAT in meat ($P > 0.05$). However, the CAT activity from 2% PSL group tended to be higher than other groups ($P = 0.15$). Therefore, it can be concluded that the supplementation of PSL 2 and 3 % in broiler diets can be positive effect on the activities of antioxidant enzymes in meat.

Keywords: *Piper samentosum*, Chicken, Antioxidant enzymes

* Corresponding author : E-mail : umaporn.p@psu.ac.th

ผลของการเสริมไบเซพลูในอาหารต่อกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อไก่

อุมพร แพทย์ศาสตร์*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84000

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมไบเซพลูในอาหารไก่เนื้อต่อกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อไก่ โดยทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อไก่ส่วนน่องของไก่เนื้ออายุ 42 วัน จำนวน 60 ตัว ที่ทำการเลี้ยงโดยการเสริมไบเซพลูในอาหารไก่เนื้อที่ระดับต่างๆ 5 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว ดังนี้ 1) อาหารควบคุมเลี้ยงจำนวน 8 ตัวต่อกรง 2) อาหารควบคุมเลี้ยงจำนวน 10 ตัวต่อกรง 3) อาหารควบคุมที่เสริมด้วยไบเซพลูผง 1% เลี้ยงจำนวน 10 ตัวต่อกรง 4) อาหารควบคุมที่เสริมด้วยไบเซพลูผง 2% เลี้ยงจำนวน 10 ตัวต่อกรง และ 5) อาหารควบคุมที่เสริมด้วยไบเซพลูผง 3% เลี้ยงจำนวน 10 ตัวต่อกรง จากนั้นนำเนื้อมาทำการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และ catalase (CAT) ผลการทดลองพบว่าการเสริมไบเซพลูในอาหารไก่เนื้อ มีผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการเสริมไบเซพลูในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 3% มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงที่สุดเมื่อเทียบกับระดับ 0 และ 1% แต่ไม่แตกต่างจากระดับ 2% สำหรับค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในเนื้อไก่ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามเนื้อไก่ที่เสริมไบเซพลูที่ระดับ 2% มีแนวโน้มค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT สูงที่สุด ($P = 0.15$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเสริมไบเซพลูในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 2 และ 3% ช่วยส่งเสริมให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อไก่สูงขึ้น

คำสำคัญ : ไบเซพลู เนื้อไก่ เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ

* ผู้เขียนให้ติดต่อ : E-mail : umaporn.p@psu.ac.th

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

Introduction

Wild betel (*Piper sarmentosum*) is an edible plant and widely found in tropical and subtropical countries, including Thailand. Prior studies have shown that extracts of this plant exhibit antimicrobial, antioxidant and antimutagenic activities *in vitro* (Hafizah *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2014; Boonla *et al.*, 2014). The natural antioxidant from *Piper sarmentosum* leaves (PSL) is a superoxide scavenger, naringenin (Subramaniam *et al.*, 2003; Chanwitheesuk *et al.*, 2005), which is supposed to protect cells from oxidative stress by inhibiting production of reactive oxygen species (ROS) including hydrogen peroxide (H_2O_2) (Hafizah *et al.*, 2010).

Oxidative deterioration in meat leads to a loss of nutritional value and reduced sensory quality. There are several mechanisms to protect muscle *in vivo* and post-mortem against oxidative processes, including the endogenous antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) (Chan and Decker, 1994). SOD is the first line antioxidant enzyme catalysing the dismutation of the highly reactive superoxide anion to O_2 and to the less reactive species H_2O_2 . The resultant H_2O_2 is detoxified to O_2 and H_2O by CAT or GSH-Px (Matés *et al.*, 1999). Activity of these enzymes in muscle post-mortem has been measured in several studies (Renner *et al.*, 1996; Qwele *et al.*, 2013). Moreover, Pradhan *et al.* (2000) demonstrated that CAT seems to play a role in modulating lipid oxidation in post-mortem muscle from different species.

The objective of the present study was to determine the influence of *Piper sarmentosum* leaves with an abundance of antioxidant activities, in broiler diets on antioxidant activities (CAT and SOD) of muscles post-mortem.

Materials and methods

1. Animals

In the experiments, totally 144 commercial broiler chicks at 1 day old (about 50:50 mixtures of males and females) were randomly assigned to 5 treatment groups (3 replicate cages/group). The cage size was 1x1 m. The treatment groups were: 1) CONTROL. Basal feed supplemented with 0% *Piper sarmentosum* leaves (PSL) powder (8 birds/cage), 2) Control. Basal feed supplemented with 0% PSL powder (10 birds/cage), 3) Basal feed supplemented with 1% PSL powder (10 birds/cage), 4) Basal feed supplemented with 2% PSL powder (10 birds/cage) and 5) Basal feed supplemented with 3% PSL powder (10 birds/cage). Feed and water were supplied for consumption *ad libitum*. Basal starter (23% protein) (1 to 3 week) and finisher (20% protein) (4 to 6 week) diets were formulated according to the nutrient requirement recommendations of NRC (1994) for broiler chickens. The duration of dietary treatments was 42 days.

2. Meat samples

At the end of the rearing period (42 days), 4 birds (2 females and 2 males) with body weights near the group average from each replicate were slaughtered and cooled according to common practices. Then leg muscle (drumstick) samples were collected for determining the antioxidant activities. The meat samples were stored frozen until use.

3. Antioxidant enzyme activity assays

During the analysis, the muscle samples were kept on ice. A 5 g sample was homogenized in 10 ml of 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) and centrifuged at 4°C for 20 min at 7000g. The supernatant fraction was filtered through glass wool before determining enzyme activities.

The SOD activity assay was performed as described by Marklund and Marklund (1974) by measuring the inhibition of pyrogallol autoxidation. A unit of enzyme activity was defined as the amount of sample needed to inhibit the reaction by 50%.

The CAT activity was determined according to the method of Aebi (1983). One unit of CAT activity was defined as the amount of sample required to decompose 1 μmol of H_2O_2 per min at room temperature.

4. Statistical analysis

The data were analyzed by General Linear Model procedures to test for the effect of treatment according to completely randomized experimental design (CRD). Post-hoc tests were performed at a significance level of $P < 0.05$ using Duncan's new multiple range test. The analyses were done using SPSS version 21.0 for Windows.

Results and Discussion

As shown in Fig. 1, the treatment 5 (3% of PSL) had a higher SOD activity than treatment 3, 1 and 2, respectively ($P < 0.01$), but had no difference from treatment 4. The present results indicate that SOD activity was affected by PSL supplementation. For the CAT activity in broiler meat, it was found that there was no significant difference in CAT activity ($P > 0.05$) as can be seen in Fig. 2.

The above findings illustrated that supplementation of 2 and 3% PSL could give benefit effect on antioxidant enzymes, especially SOD and CAT in broiler meat. However, the relationships between enzyme activities and meat quality traits including lipid, protein and myoglobin oxidations in meat need to be investigated.

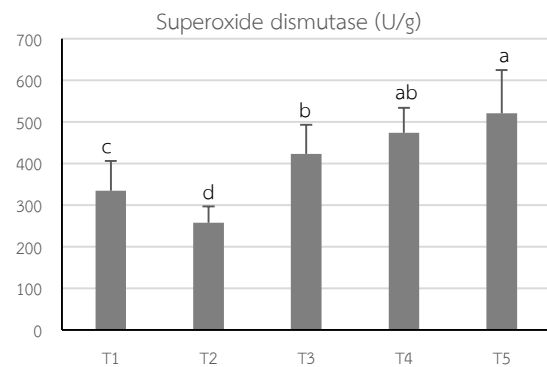


Fig. 1 Mean values of superoxide dismutase (SOD) activity by dietary treatment with *Piper sarmentosum* leaves (PSL) supplementation (T1: 0% PSL (8 birds/cage), T2: 0% PSL (10 birds/cage), T3: 1% PSL (10 birds/cage), T4: 2% PSL (10 birds/cage) and T5: 3% PSL (10 birds /cage). Error bars represent standard deviations. ^{a-d}Mean values with a different superscript are significantly different at $P = 0.00$.

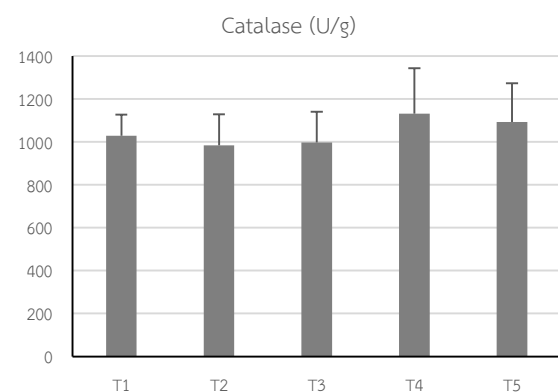


Fig. 2 Mean values of catalase (CAT) activity by dietary treatment with *Piper sarmentosum* leaves (PSL) supplementation (T1: 0% PSL (8 birds/cage), T2: 0% PSL (10 birds/cage), T3: 1% PSL (10 birds/cage), T4: 2% PSL (10 birds/cage) and T5: 3% PSL (10 birds /cage). Error bars represent standard deviations. $P = 0.15$.

SOD plays an important role in protecting cells against ROS by lowering the steady state of superoxide anions and reducing the level of cellular damage. It is one of the most important enzymes in the antioxidant defense system (Oyedemi *et al.*, 2010). The consumption of PSL by the animals significantly ($P>0.05$) increased the activity of SOD which can be indicated that its ability to protect the animal body/cells from cellular damage by quenching free radicals and may result in maintaining the meat quality and protecting meat from oxidations. Catalase is one of the enzymatic antioxidants widely distributed in all animal tissues. In our study, the levels of CAT were not different in the meat sample from chickens supplemented with PSL ($P>0.05$). However, the study of Qwele *et al.* (2013) found that *Moringa oleifera* leaves, higher amount of polyphenols, has more the significant antioxidant potential especially SOD and CAT in the meat samples from goats.

Conclusion

Supplementation of broiler diets with up to 3% of *Piper sarmentosum* leaves had remarkable potential to improve meat quality in broilers subjected to a 6-week dietary treatment, specifically chicken drumsticks, in terms of antioxidant enzyme activities. Consequently, if the antioxidant enzymes analysed in the present study play a role in maintaining meat oxidative stability, one can expect protection of meat from oxidations and longer shelf-life of meat.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support for this study from Prince of Songkla University, Thailand.

References

- Aebi, H.E. 1983. Catalase. In: Bergmeyer, H.U., Ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim : Verlag Chemie. p273- 286.
- Boonla, P., Phadungkit, M., Mahaweerawat, U., and Somdee, T. 2014. Antioxidant and antimutagenic activities of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf extracts. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 10 : 283-294.
- Chan, K.M., and Decker, E.A. 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 34 : 403-426.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., and Rakariyatham, N. 2005. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*. 92 : 491-497.
- Hafizah, A. H., Zaiton, Z., Zulkhairi, A., Ilham, A. M., Anita, M. M. N., and Zaleha, A.M. 2010. *Piper sarmentosum* as an antioxidant on oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide. *Journal of Zhejiang University Science B*. 11: 357-365.
- Lee, J. H., Cho, S., Paik, H. D., Choi, C. W., Nam, K. T., Hwang, S. G., and Kim S. K. 2014. Investigation on antibacterial and antioxidant activities, phenolic and flavonoid contents of some Thai edible plants as an alternative for antibiotics. Asian-Australas. *Journal of Animal Science*. 27: 1461-1468.
- Marklund, S., and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*. 47 : 469-474.
- Matés, J. M, Pérez-Gómez, C., and De Castro, I. N. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*. 32 : 595-603.
- NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. Washington, D. C. : National Academy Press.
- Oyedemi, S. O., Bradley, G., and Afolayan, A. J. 2010. *In vivo* and *in vitro* antioxidant activities of aqueous stem bark extract of *Strychnos henningsii* (Gilg). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4 : 70-78.
- Pradhan, A. A., Rhee, K. S., and Hernandez, P. 2000. Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Science*. 54 : 385-390.
- Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., Moyo, B., Masika, P. J., and Muchenje, V. 2013. Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Science*. 93 : 455-462.
- Renner, M., Dumont, F., and Gatellier, P. 1996. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Science*. 43 : 111-121.
- Subramaniam, V., Adenan, M. I., Ahmad, A. R., and Shahdan, R. 2003. Natural antioxidants: *Piper sarmentosum* (Kadok) and *Morinda elliptica* (Mengkudu). *Malaysian Journal of Nutrition*. 9 : 41-51.

ผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะเขือเทศสีดา (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

สิทธิโชค พรรคพิทักษ์^{1*} ปัสสร สุทธิต่าง¹ และ พรพิชญ ธรรมปัทม²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

โอโซนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการไม่ใช้ความร้อนในการเพิ่มอายุการเก็บรักษามะเขือเทศในพื้นที่ที่ไม่มีอุปกรณ์ในการทำควมเย็น อย่างไรก็ตามผลของโอโซนต่อคุณภาพของมะเขือเทศยังไม่เป็นที่ชัดเจน ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของโอโซนที่ละลายในน้ำ (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อคุณภาพของมะเขือเทศสีดาระหว่างการเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่ำ ทำการศึกษาคุณภาพทางด้านสี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณวิตามินซี ปริมาณไลโคปีน ยีสต์และรา และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้โอโซนชะลอการเกิดการพัฒนาสีแดง (a *) สีเหลือง (b *) การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณยีสต์และรา และจุลินทรีย์ทั้งหมด ($p < 0.05$) การใช้โอโซนช่วยชะลอกระบวนการพัฒนาสีและปริมาณไลโคปีนของมะเขือเทศสีดา ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่ผ่านโอโซน (100 ppm, 30 นาที) หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน

คำสำคัญ : อายุการเก็บรักษา การใช้โอโซน คุณภาพ การเก็บรักษา

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: sittichok007@windowslive.com

Effect of Ozone on the Qualities Changes of Sida Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) During Storage under Refrigeration

Sitthicoke Panpitak^{1*}, Papassorn Suthidang¹ and Pornpisanu Thammapat²

¹Program in Agricultural Technology Information, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000

²Program in Food Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000

Abstract

Ozone could be seen as an alternative to refrigeration in order to enhance tomato shelf life in areas where cold facilities are not available. However, the effect of ozone on tomato quality is still unclear. Therefore, The aim of this study was to evaluate the effect of ozone dissolved in water (100 mg/l) on the quality of sida tomatoes during storage under refrigeration. The selected quality parameters were the color, total soluble solid, weight loss, ascorbic acid content, lycopene content, yeast and mould and total plate count. Results showed that the application of ozone delayed both the development of red color (a*), yellow color (b*), weight loss, yeast and mould and total plate count ($p < 0.05$). The ozone treatments slowed down the development of the coloring process and lycopene content, while increasing of total plate count of treated sida tomatoes (100 ppm, 30 min) after storage at 6 ± 2 °C for 20 days.

Keywords: Shelf ilfe, Ozonation, Quality, Storage

* Corresponding author: sittichok007@windowslive.com

บทนำ

มะเขือเทศจัดเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทั้งในแง่การบริโภคผลสดและเป็นวัตถุดิบในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อผลิตอาหารชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นธุรกิจครบวงจรและขยายการผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพเพื่อทดแทนการนำเข้า ทั้งนี้เนื่องจากอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากมะเขือเทศเริ่มมีความสำคัญมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมพลาสติกและซอสมะเขือเทศ นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีศักยภาพที่จะขยายการผลิตมะเขือเทศ ทั้งในรูปผลผลิตสดและผลิตภัณฑ์เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดในปริมาณสูง (Ketsakul, 2015)

มะเขือเทศมีหลากหลายสายพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย มะเขือเทศสีดา (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นมะเขือเทศอีกสายพันธุ์หนึ่งที่มีการปลูกเพื่อบริโภคผลสดและส่งโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งนิยมปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีลักษณะผลเล็กสีชมพู นิยมนำไปเป็นส่วนประกอบของส้มตำ ซึ่งพื้นที่ปลูกเชิงธุรกิจที่สำคัญในภาคอีสานอยู่ที่จังหวัดนครราชสีมา (Lapjit, 2014) มะเขือเทศสีดาอุดมด้วยวิตามินซีและบีตา-แคโรทีน ซึ่งเป็นต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกิดจากอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ทั้งยังช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและบำรุงสายตา นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยธาตุเหล็กที่ช่วยป้องกันโรคโลหิตจาง จึงทำให้มะเขือเทศได้รับความนิยมจากผู้บริโภคในการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่ง (Flores *et al.*, 2017)

จากคุณค่าทางโภชนาการของมะเขือเทศสีดาดังกล่าวจึงทำให้การผลิตเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ทำให้การส่งออกไปยังพื้นที่ห่างไกลทำได้ยาก เนื่องจากมะเขือเทศมีอายุการเก็บรักษาสั้น มีการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวง่ายทั้งด้านกายภาพและจากจุลินทรีย์ ซึ่งมีสาเหตุหลักๆ คือ 1) ลักษณะการยืดเกาะจุลินทรีย์บนผิวมะเขือเทศ 2) ประสิทธิภาพในการล้างเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เกาะบริเวณผิว 3) บริเวณพื้นผิวที่ยืดเกาะทำให้ทำความสะอาดและลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ยาก จึงทำให้ผู้ผลิตและจำหน่ายมักนิยมใช้สารเคมีหลายชนิดในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น สารประกอบคลอรีน ซึ่งอาจตกค้างไปถึงผู้บริโภคได้ ซึ่งมีงานวิจัยหลายงานในการที่จะพยายามแก้ปัญหาดังกล่าว เช่น การฉายรังสี (Guerreiro *et al.*, 2016) การใช้โคโตซาน (Robledo *et al.*, 2018) การใช้

นาโนซิลิกา (Derbalah *et al.*, 2018) การใช้เซเรเนียม (Zhu *et al.*, 2018) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการรายงานถึงการใช้ก๊าซโอโซนในการฆ่าเชื้อบนผิวผลไม้ชนิดต่างๆ (Zambre *et al.*, 2010) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำก๊าซโอโซนมาทดแทนการใช้สารเคมีในการลดการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์

โอโซน (Ozone) คือ อะตอมของออกซิเจน 3 อะตอม รวมกันเป็น 1 โมเลกุลของโอโซน (O_3) ตามปกติออกซิเจนจะประกอบกันเป็นลักษณะ 2 อะตอมเป็น 1 โมเลกุล (O_2) ซึ่งมีคุณสมบัติต่างกันมากคือ O_2 จะสามารถคงสภาพอยู่ได้หลายสภาวะ หรือกล่าวได้ว่ามีความเสถียร (Stable) แต่การใช้ก๊าซโอโซนจะไม่คงตัวหรือไม่เสถียร (Unstable) เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความดัน ความชื้น และการสัมผัสกับสารที่มีพลังงานต่างกันจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) อย่างรวดเร็ว การทำลายจุลินทรีย์นั้นเริ่มจากโมเลกุลของโอโซนเข้าไปสัมผัสที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ แล้วเข้าไปทำปฏิกิริยากับ function group ของโปรตีนที่ผิวเซลล์ ได้แก่ sulfhydryl group ซึ่งโอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์บริเวณนี้ทำให้โมเลกุลของโปรตีนไม่สามารถคงรูปอยู่ได้ ถ้า sulfhydryl group ทำหน้าที่เป็น binding side ของเอนไซม์ก็จะทำให้เอนไซม์นั้นถูกยับยั้งต่อมาโอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์บริเวณพันธะคู่ (Double bond) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid) ทำให้เกิดการแตกออกของเยื่อหุ้มเซลล์ และสารประกอบภายในเซลล์รั่วออกมาออกเซลล์ นำไปสู่การแตกสลายของเซลล์ ซึ่งช่วยควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคบนผักและผลไม้ได้ โอโซนช่วยในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา นอกจากนี้โอโซนยังช่วยในการขจัดกลิ่นเหม็น กลิ่นไม่พึงประสงค์ต่างๆ โดยส่วนประกอบไฮดรอกซิลของสารอินทรีย์จะถูกโอโซนขจัด ส่งผลให้กลิ่นไม่พึงประสงค์หรือกลิ่นอับชื้นต่างๆ ถูกขจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว ช่วยในการสลายก๊าซพิษ โดยจะเข้าไปทำลายโครงสร้างของก๊าซพิษต่างๆ เกิดการสลายตัว (Fundu *et al.*, 2018) การใช้โอโซนยังไม่ก่อให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากโอโซนสามารถสลายตัวเป็นออกซิเจนได้อย่างอัตโนมัติ อีกทั้งในปี ค.ศ.1997 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ประกาศให้โอโซนเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่าง

ปลอดภัย (GRAS; Generally Recognized As Safe) (Graham, 1997)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและปริมาณของจุลินทรีย์ของมะเขือเทศสีดาในด้านต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ใช้มะเขือเทศพันธุ์สีดาที่มีอายุเก็บเกี่ยวทางการค้า มีขนาดน้ำหนักลูกละ 30-50 กรัม ได้จากเกษตรกรในท้องถิ่น อ. โกสุมพิสัย จ. มหาสารคาม

2. การใช้ก๊าซโอโซนต่อคุณภาพของมะเขือเทศสีดา

นำมะเขือเทศพันธุ์สีดามาทำการคัดเลือกผลผลิตที่ไม่ถูกทำลายจากแมลง คัดเลือกสี และขนาดที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นนำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปผ่านก๊าซโอโซน (O₃) ที่มีความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 10 และ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส (Figure 1) หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6±2 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

3. การวิเคราะห์คุณภาพของมะเขือเทศสีดา

3.1 ค่าสี

โดยใช้เครื่อง Miniscan EZ (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) ตามระบบสีแบบ CIE system แสดงค่าเป็น L* a* และ b* โดยค่า L* แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) จนถึง 100 (ขาว) ค่า a* แสดงค่าความเป็นสีเขียวและสีแดงและค่า b* แสดงค่าความเป็นสีน้ำเงินและสีเหลือง

3.2 การสูญเสียน้ำหนัก

การประเมินการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศพันธุ์สีดาระหว่างการเก็บรักษา ดำเนินการโดยการชั่งน้ำหนักที่ระยะการเก็บรักษาใดๆ เปรียบเทียบกับเริ่มต้น ดังสมการ

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างสดวันแรกที่ทำ การทดสอบ (กรัม)

B = น้ำหนักตัวอย่างสดวันที่เก็บรักษา (กรัม)

3.3 ปริมาณ Total soluble solids

โดยการนำเอา น้ำจากเนื้อมะเขือเทศสีดามาวัดปริมาณ Soluble solid concentration โดยใช้เครื่อง Hand refractometer ค่าที่อ่านได้เป็นองศาบริกซ์ (°Brix)

3.4 ปริมาณวิตามินซี โดยใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีโดยวิธี 2,6 dichlorophenol indophenol titration method คำนวณปริมาณ ascorbic acid เทียบกับสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด [mg/100 g fresh weight] (AOAC., 2002)

3.5 ปริมาณไลโคปีน

ปริมาณไลโคปีนโดยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Davis *et al.*, 2003) โดยการสกัดไลโคปีนด้วยสารละลายที่มีส่วนผสมของสารละลายอะซิโตนที่มี BHT 0.05% (w/v) : เอทานอล : เฮกเซน (5 : 5 : 10) ทำการแยกส่วนด้านบนที่เป็นสารสีแดงไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 503 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยใช้เฮกเซนเป็นแบลนด์ (blank) คำนวณปริมาณไลโคปีน (มิลลิกรัม/100 กรัม) = A₅₀₃ × 31.2 / น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.5 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา โดยเจือจางตัวอย่างเปลือกมะเขือเทศ 25 กรัมใน 0.1% peptone 225 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำ 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปเจือจางต่อด้วย 0.1% peptone หลอดละ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางต่อจนได้ความเจือจาง (dilution) ที่ 10⁻⁵ ดูดอาหารแต่ละค่าความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ เต็มกรดทาร์ทริก 1.1 มิลลิลิตร ในขวด Potato dextrose agar (PDA) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สำหรับตรวจสอบยีสต์และรา (Plate count agar, PCA) ไม่ต้องเติมกรดสำหรับตรวจสอบแบคทีเรียที่หมอมเหลวและปล่อยให้หมอมูลดลงจนถึง 42-45 องศาเซลเซียสแล้ว เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย เทอาหาร PDA และ PCA ใส่ในจานเพาะเชื้อทุกจานทันที หมุนจานไปมา ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดีกับตัวอย่างปล่อยให้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 2-5 วันสำหรับ PDA ส่วน PCA นาน 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของยีสต์และราบนจานอาหาร PDA และแบคทีเรียบนจานอาหาร PCA ที่เกิดขึ้นในแต่ละค่าความเจือจาง บันทึกผล และคำนวณปริมาณราและยีสต์ต่อกรัมของอาหารและแบคทีเรียต่อกรัมอาหาร

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป SPSS

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. ค่าสี

การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของมะเขือเทศสีดาที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนในระหว่างการเก็บรักษา แสดงดัง Table 1 ผลการศึกษาพบว่าในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 20 วัน ค่าความสว่าง (L^*) ของมะเขือเทศที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซน (Control) และตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาทีจะมีค่าความสว่างลดลงมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 10 นาที ส่วนค่าสีน้ำเงิน-เหลือง (a^*) จะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 ± 2 องศาเซลเซียส มะเขือเทศสีดาจะมีค่าสีเหลืองลดลง โดยตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซนจะมีค่าสีเหลืองลดลงมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเมื่อทำการเก็บรักษาไว้นานกว่า 15 วัน สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าสีแดง (a^*) ซึ่งจะมีค่าสีแดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซนจะมีค่าสีแดงเพิ่มขึ้นมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านโอโซน แสดงให้เห็นว่ามะเขือเทศที่ผ่านโอโซนจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาช้ากว่าการไม่ผ่านโอโซน สอดคล้องกับการศึกษาของ Ong *et al.* (2014) ที่พบว่าการใช้โอโซนกับผลไม้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าสีที่ผิวเปลือกน้อยกว่าการไม่ผ่านโอโซน เนื่องจากการใช้โอโซนจะส่งผลในการทำลายเอทิลินที่กระตุ้นการสุกของผลไม้

2. การสูญเสียน้ำหนัก

การสูญเสียน้ำหนักมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อเศรษฐกิจและคุณภาพของมะเขือเทศ ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการหายใจของผักและผลไม้เอง การสูญเสียน้ำหนักและผิวที่เน่ามลงส่งผลต่อการเลือกซื้อมะเขือเทศของผู้บริโภค จากผลการทดลอง (Figure 2) พบว่ามะเขือเทศสีดาที่ผ่านโอโซนและไม่ผ่านโอโซนมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยเมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน มีการสูญเสียน้ำหนักร้อยละ 5.32-5.63 แสดงให้เห็นว่ามะเขือเทศมีการสูญเสียน้ำหนักจากกระบวนการหายใจของมะเขือเทศเอง โดยตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนมีการสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาในผักและผลไม้ชนิดอื่น เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม (García-Martin *et al.*, 2018) มะเขือเทศเชอร์รี่ (Fagundes *et al.*, 2015) แครอท (Souza *et al.*, 2018) หม่อนดำ (Tabakoglu and Karaca, 2018) เป็นต้น

3. ปริมาณ Total soluble solids

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของมะเขือเทศสีดา แสดงดัง Table 2 ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระหว่างเก็บรักษาอุณหภูมิ 6 ± 2 องศาเซลเซียส อยู่ในช่วง $4.73-5.67$ °Brix และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา แต่ตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซนจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านโอโซนในวันที่ 15 และ 20 ของการเก็บรักษา ($p < 0.05$) เนื่องจากตัวอย่างที่ผ่านโอโซนจะทำให้จุลินทรีย์ที่บริเวณผิวเปลือกมะเขือเทศสีดาถูกทำลาย ส่งผลต่อการยับยั้งการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์และชะลอปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายในมะเขือเทศสีดาได้อีกด้วย (Souza *et al.*, 2018) ซึ่งการใช้โอโซนจะช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้ได้ (Helena *et al.*, 2014)

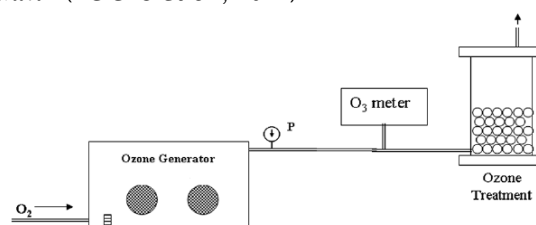


Figure 1 The Schematics of the experimental setup used for ozone treatment.

Table 1 Color values of differently treated sida tomatoes during storage time at 6 °C.

Treatment	Storage (d)				
	0	5	10	15	20
L					
T1 (Control)	39.17±0.36 ^A	37.22±0.30 ^{Bb}	35.27±0.22 ^{Cb}	31.57±0.47 ^{Db}	29.75±0.24 ^{Eb}
T2 (Ozone, 10 min)	39.53±0.32 ^A	38.21±0.23 ^{Ba}	36.59±0.41 ^{Ca}	32.99±0.26 ^{Da}	31.35±0.46 ^{Ea}
T3 (Ozone, 30 min)	39.22±0.47 ^A	37.96±0.22 ^{Bb}	34.40±0.43 ^{Cc}	31.01±0.27 ^{Db}	28.78±0.28 ^{Eb}
a*					
T1 (Control)	19.68±0.35 ^E	21.25±0.31 ^{Db}	24.42±0.33 ^{Ca}	26.50±0.42 ^{Ba}	28.11±0.84 ^{Aa}
T2 (Ozone, 10 min)	20.26±0.34 ^D	22.39±0.37 ^{Ca}	22.93±0.24 ^{Cc}	24.06±0.32 ^{Bb}	25.27±0.84 ^{Ac}
T3 (Ozone, 30 min)	19.94±0.32 ^E	22.56±0.41 ^{Da}	23.76±0.29 ^{Cb}	26.01±0.23 ^{Ba}	26.01±0.23 ^{Ab}
b*					
T1 (Control)	20.15±0.51 ^A	18.67±0.40 ^B	18.70±0.95 ^B	17.39±0.43 ^{Cb}	16.41±0.41 ^{Cb}
T2 (Ozone, 10 min)	20.60±0.37 ^A	19.15±0.22 ^B	18.75±0.67 ^B	18.10±0.26 ^{Ca}	17.67±0.32 ^{Ca}
T3 (Ozone, 30 min)	20.49±0.36 ^A	19.30±0.35 ^B	18.67±0.38 ^C	18.04±0.23 ^{Da}	17.49±0.25 ^{Da}

Different lowercase in the same day indicate significant differences according to ANOVA ($p \leq 0.05$) and the absence of letter means no significant effect due to the treatment.

Different capital letters in the same treatment indicate significant differences according to ANOVA ($p \leq 0.05$).

Results are the mean values±SD of 20 replicates.

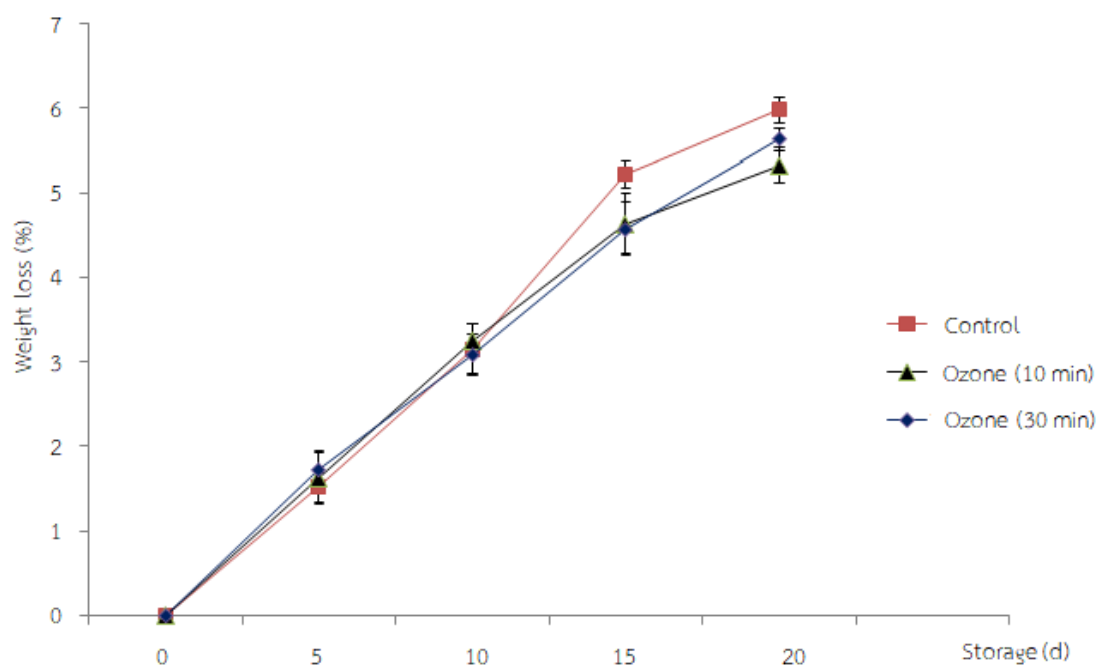


Figure 2 Changes of weight losses of differently treated sida tomatoes during storage time at 6 °C.

Results are the mean values±SD of 20 replicates.

Table 2 Changes of quality parameters of differently treated sida tomatoes during storage time at 6 °C.

Treatment	Storage (d)				
	0	5	10	15	20
Total soluble solid (^o Brix)					
T1 (Control)	4.87±0.15 ^B	5.07±0.15 ^B	5.20±0.26 ^{AB}	5.63±0.38 ^A	5.67±0.21 ^A
T2 (Ozone, 10 min)	4.73±0.39 ^B	4.87±0.25 ^{AB}	5.07±0.40 ^{AB}	5.43±0.15 ^A	5.47±0.47 ^A
T3 (Ozone, 30 min)	4.90±0.20 ^B	5.03±0.21 ^B	5.07±0.15 ^B	5.50±0.10 ^A	5.53±0.15 ^A
Ascorbic acid (mg/100g FW)					
T1 (Control)	15.85±0.38 ^A	15.03±0.14 ^B	14.83±0.16 ^{BCab}	14.29±0.28 ^{Cab}	13.15±0.63 ^D
T2 (Ozone, 10 min)	15.81±0.30 ^A	15.10±0.13 ^A	14.96±0.07 ^{BCa}	14.61±0.31 ^{Ca}	13.78±0.24 ^D
T3 (Ozone, 30 min)	15.96±0.26 ^A	15.09±0.16 ^B	14.54±0.28 ^{Cb}	13.94±0.08 ^{Db}	12.93±0.34 ^E
Lycopene (mg/100g FW)					
T1 (Control)	23.39±0.95 ^E	28.12±0.32 ^{Db}	30.96±0.20 ^C	39.27±0.61 ^{Ba}	45.14±0.55 ^{Aa}
T2 (Ozone, 10 min)	23.46±0.69 ^E	27.77±0.29 ^{Db}	30.12±0.46 ^C	34.85±0.56 ^{Bb}	41.87±0.67 ^{Ab}
T3 (Ozone, 30 min)	23.78±0.33 ^E	28.89±0.43 ^{Da}	30.77±0.58 ^C	39.16±0.45 ^{Ba}	45.86±0.44 ^{Aa}

Different lowercase in the same day indicate significant differences according to ANOVA ($p \leq 0.05$) and the absence of letter means no significant effect due to the treatment.

Different capital letters in the same treatment indicate significant differences according to ANOVA ($p \leq 0.05$).

Results are the mean values±SD of 3 replicates.

Table 3 Changes of microbial parameters of differently treated sida tomatoes during storage time at 6 °C.

Treatment	Storage (d)				
	0	5	10	15	20
Total plate count (CFU/g)					
T1 (Control)	2.12×10 ³	5.24×10 ⁴	1.18×10 ⁵	3.46×10 ⁷	1.75×10 ⁸
T2 (Ozone, 10 min)	ND	<30	4.25×10 ³	1.54×10 ⁴	4.82×10 ⁵
T3 (Ozone, 30 min)	ND	<30	5.21×10 ⁴	5.93×10 ⁷	4.25×10 ⁸
Yeast and mould					
T1 (Control)	1.14×10 ⁴	4.87×10 ⁵	2.08×10 ⁶	7.35×10 ⁶	3.72×10 ⁸
T2 (Ozone, 10 min)	ND	<30	<30	2.63×10 ²	1.87×10 ⁴
T3 (Ozone, 30 min)	ND	<30	<30	4.75×10 ³	2.38×10 ⁵

4. ปริมาณวิตามินซีและไลโคปีน

ปริมาณวิตามินซีและไลโคปีนของมะเขือเทศสีดาที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6±2 องศาเซลเซียส แสดงดัง Table 2 ปริมาณวิตามินซีพบในปริมาณสูงในมะเขือเทศและมีคุณค่าทางโภชนาการสูงในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายมนุษย์ แต่เนื่องจากโครงสร้างของวิตามินซีมีแนวโน้มที่จะสลายตัวในช่วงกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาได้ง่าย ด้วยเหตุนี้จึงเป็นใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการพิจารณาความเหมาะสมหรือ

การยอมรับในแง่ของคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ (Tabakoglu and Karaca, 2018) ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซนมีปริมาณวิตามินซีลดลงในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 20 วัน ($p < 0.05$) การที่ปริมาณวิตามินซีลดลงในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาเนื่องมาจากมะเขือเทศจะใช้วิตามินซีในการเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหายใจเพื่อเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล (Sadler and Murphy, 1998) แต่ตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาที มีแนวโน้มในการลดลงของวิตามินซีสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสัมผัสกับโอโซนเป็นระยะเวลานาน อาจส่งผลต่อการทำลายวิตามินซีในมะเขือเทศได้ (Tabakoglu and Karaca, 2018)

สารสีในมะเขือเทศนั้นส่วนใหญ่ประกอบด้วยสีเขียวของคลอโรฟิลล์เอและบี สีเหลืองของบีตา-แคโรทีน และสีแดงของไลโคปีน (Friedman and Levin, 1998) ซึ่งไลโคปีนเป็นสารสีที่ถูกสร้างขึ้นในกระบวนการสุกของผักและผลไม้ (Fagundes *et al.*, 2015) จากผลการทดลอง (Table 2) พบว่าปริมาณไลโคปีนในมะเขือเทศสีดาจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากในระหว่างกระบวนการเก็บรักษามะเขือเทศจะมีการสุกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และมีการสังเคราะห์สารสีแดงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการสุก (Fagundes *et al.*, 2015) แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณไลโคปีนในตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาทีและไม่ผ่านโอโซนจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไลโคปีนสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเพียงแค่ 10 นาที โดยตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาที และตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซนมีปริมาณไลโคปีนสูงสุดเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 20 วัน เท่ากับ 45.86 และ 45.14 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ

5. ปริมาณจุลินทรีย์

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ของมะเขือเทศสีดาระหว่างเก็บรักษาอุณหภูมิ 6 ± 2 องศาเซลเซียส แสดงดัง Table 3 ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างมะเขือเทศสีดาที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 10 และ 30 นาที และทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) มีปริมาณไม่เกิน 30 CFU/g ส่วนในมะเขือเทศสีดาที่ไม่ผ่านโอโซนมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นค่อนข้างสูง (2.12×10^3 CFU/g) และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซนและผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาที จะเริ่มเน่าเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 20 วัน เนื่องจากมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงถึง $1.75-4.25 \times 10^8$ CFU/g การที่ตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาทีที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงเนื่องจากการแช่โอโซนที่เป็นสารออกซิไดซ์อย่างแรงทำให้ผิวของมะเขือเทศสีดาถูกทำลายจึงทำให้ปริมาณจุลินทรีย์สามารถทำลายได้ง่าย

ส่วนปริมาณยีสต์และราในตัวอย่างที่ผ่านโอโซนเป็นระยะเวลา 10 และ 30 นาที พบว่าเมื่อทำการเก็บรักษา

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

เป็นระยะเวลา 20 วัน จะมีปริมาณยีสต์และร่าต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซน เนื่องจากโอโซนทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดซ์อย่างแรงจึงสามารถทำลายยีสต์และราบริเวณผิวมะเขือเทศสีดาได้

สรุปผลการวิจัย

การใช้โอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะเขือเทศสีดา (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านกายภาพและเคมี ซึ่งการใช้โอโซนกับมะเขือเทศสีดาที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 10 และ 30 นาที มีผลต่อลักษณะด้านสี ปริมาณไลโคปีน แต่ไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และการลดลงของวิตามินไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซน ส่วนการใช้โอโซนต่อคุณภาพด้านจุลินทรีย์ส่งผลต่อการยับยั้งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ได้ดีกว่าการไม่ใช้โอโซน แต่การใช้โอโซนเป็นระยะเวลานาน (30 นาที) ส่งผลต่อผิวมะเขือเทศสีดา ทำให้ผิวมะเขือเทศถูกทำลายได้ง่ายจากการถูกออกซิไดซ์จากโอโซน จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้โอโซนที่ระดับ 100 ppm เป็นระยะเวลา 10 นาที ส่งผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์และลักษณะทางกายภาพและเคมีได้ดีกว่าการใช้ระยะเวลา 30 นาที และสามารถยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศสีดาได้ถึง 20 วัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโอโซนสามารถเพิ่มกลไกการป้องกันจุลินทรีย์บริเวณผิวผักและผลไม้และช่วยในการควบคุมการสลายตัวของผลไม้ได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการทำงานของโอโซนกับเชื้อราหรือการเปลี่ยนแปลงกลไกภายในระดับโมเลกุลจึงมีความจำเป็นในการศึกษาเพิ่มเติม

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ให้การสนับสนุนทุนของงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

วารสารเกษตรพระวรุณ 332

References

- AOAC. 2002. Association of official analytical chemists: Official Methods of Analysis. 16th Edition. Washington, D.C. : Gaithersburg, Md.
- Davis, A. R., Fish, W. W., and Perkins, P. 2003. A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato product. *Journal of Postharvest Biology and Technology*. 28 : 425–430.
- Derbalah, A., Shenashen, M., Hamza, A., Mohamed, A., and Safty, S. E. 2018. Antifungal activity of fabricated mesoporous silica nanoparticles against early blight of tomato. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(2) : 145–150.
- Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M. B., Palou, L., Maraschin, M., and Monteiro, A. R. 2015. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*. 109 : 73–81.
- Flores, P., Sánchez, E., Fenoll, J., and Hellin, P. 2017. Genotypic variability of carotenoids in traditional tomato cultivars. *Food Research International*. 100 : 510–516.
- Friedman, M., and Levin, C. E. 1998. Dehydrotomatine content in tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 : 4571–4576.
- Fundo, J. F., Miller, F. A., Tremarin, A., Garcia, E., Brandão, T. R. S., and Silva, C. L. M. 2018. Quality assessment of *Cantaloupe* melon juice under ozone processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 47 : 461–466.
- García-Martín, J. F., Olmo, M., and García, J. M. 2018. Effect of ozone treatment on postharvest disease and quality of different citrus varieties at laboratory and at industrial facility. *Postharvest Biology and Technology*. 137 : 77–85.
- Graham, D. M. 1997. Use of ozone for food processing. *Journal of Food Technology*. 51 : 72-75.
- Guerreiro, D., Madureira, J., Silva, T., Melo, R., Santos, P. M. P., Ferreira, A., Trigo, M. J., Falcão, A. N., Margaça, F. M. A., and Verde, S. C. 2016. Post-harvest treatment of cherry tomatoes by gamma radiation : Microbial and physicochemical parameters evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 36 : 1–9.
- Heleno, F. F., Queiroz, M. E. L. R., Neves, A. A., Freitas, R. S., Faroni, L. R. A., and Oliveira, A. F. 2014. Effects of ozone fumigation treatment on the removal of residual difenoconazol from strawberries and on their quality. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 49 : 94–101.
- Ketsakul, S. 2015. Tomato production technology. Bangkok : Department of Agriculture.

- Lapjit, F. P. 2014. Problems and needs of Sida tomato production of growers in Nakhonratchasima province. *Khon Kean Agriculture Journal*. 42(Suppl. 3) : 894-989.
- Ong, M. L., Ali, A., Alderson, P. G., and Forney, C. F. 2014. Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. *Scientia Horticulturae*. 179 : 163-169.
- Robledo, N., Vera, P., López, L., Yazdani-Pedram, M., Tapia, C., and Abugoch, L. 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chemistry*. 246 : 211-219.
- Sadler, G. D., Murphy, P. A., 1998. pH and titratable acidity. In: Nielsen, S. (Ed.), *Food Analysis 2*. Gaithersburg : Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, pp. 101-116.
- Souza, L. P., Faroni, L. R. D., Heleno, F. F., Cecon, P. R., Gonçalves, T. D. C., da Silva, G. J., and Prates, L. H. F. 2018. Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *Food Science and Technology*. 90 : 53-60.
- Tabakoglu, N. and Karaca, H. 2018. Effects of ozone-enriched storage atmosphere on postharvest quality of black mulberry fruits (*Morus nigra* L.). *Food Science and Technology*. 92 : 276-281.
- Zambre, S. S., Venkatesh, K. V. and Shah, N. G. 2010. Tomato redness for assessing ozone treatment to extend the shelf life. *Journal of Food Engineering*. 96 : 463-468.
- Zhu, Z., Zhang, Y., Liu, J., Chen, Y., and Zhang, X. 2018. Exploring the effects of selenium treatment on the nutritional quality of tomato fruit. *Food Chemistry*. 252 : 9-15.

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะการให้ผลผลิตและลักษณะทางการเกษตร ในเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์

พรรณทิพา ปินะธา¹, พัชริน ส่องศรี^{1,2,*}, นันทวุฒิ จงรังกลาง^{1,2} และพีรญา กลมสอาด³

¹สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

²ศูนย์วิจัยอ้อยและน้ำตาลภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

³บริษัทมิตรผลวิจัยและพัฒนา (มิตรภูเวียง) อ. หนองเรือ จ. ขอนแก่น 40210

บทคัดย่อ

การประเมินเชื้อพันธุ์กรรมมีความสำคัญต่อความสำเร็จและประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์อ้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมอ้อยจากลักษณะผลผลิตและลักษณะทางการเกษตร โดยปลูกประเมินเชื้อพันธุ์กรรมจำนวน 258 โคลนพันธุ์ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized complete block design; RCBD) จำนวน 2 ซ้ำ ปลูกอ้อยพันธุ์ละ 1 แถวๆ ยาว 5 ม. ระยะห่างระหว่างแถว 1.5 ม. ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน มกราคม 2557 ถึง มกราคม 2558 ที่แปลงทดลองบริษัทมิตรผลวิจัยและพัฒนา ตำบลหนองเรือ อำเภอนองเรือ จังหวัดขอนแก่น ตรวจวัดข้อมูลที่อายุ 12 เดือน ได้แก่ ผลผลิต ความยาวลำ น้ำหนักลำ ขนาดลำ จำนวนลำต่อกอ และค่าบrix จากการจัดกลุ่มเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย จากลักษณะต่างๆ ที่ตรวจวัดสามารถจัดได้ 15 กลุ่ม โดยพันธุ์อ้อยที่มีลักษณะที่โดดเด่น พบว่า พันธุ์ MPT07-71 ให้ผลผลิตสูงที่สุด (24.3 กก./ตร.ม.) และ พันธุ์ M147/44 มีความยาวลำสูงที่สุด เท่ากับ 356.5 ซม. ส่วนพันธุ์ PR3067, BO24 และ MPT04-55 มีจำนวนลำต่อกอมาก พันธุ์ที่มีลำขนาดใหญ่ ได้แก่ พันธุ์ TBy20-2248, F177 และ ROC21 (45.1 43.7 และ 42.8 มม. ตามลำดับ) พันธุ์ที่มีน้ำหนักลำเดี่ยวสูงสุด ได้แก่ MPT04-467 และ K84-200 ส่วนพันธุ์ที่มีค่าบrixสูง ได้แก่ LF79-640, AWA, CP72-120, Q115 และ Nco8 (25.3-29.0 องศาบrix) จากข้อมูลงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อสร้างประชากรอ้อยลูกผสมสำหรับคัดเลือกพันธุ์ในระบบการปรับปรุงพันธุ์อ้อยให้มีผลผลิตอ้อยและน้ำตาลสูงต่อไป

คำสำคัญ : ผลผลิตอ้อย จำนวนลำต่อกอ ความยาวลำ ขนาดลำ ค่าบrix การปรับปรุงพันธุ์อ้อย

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: patcharinso@kku.ac.th

Genetic Diversity of Yield and Agronomic Traits in Sugarcane Germplasm 258 Clones

Panthiva Pinata¹, Patcharin Songsri^{1,2,*}, Nuntawoot Jongrungklang^{1,2} and Peeraya Klomsa-ard³

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

²Northeast Thailand Cane and Sugar Research Center, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

³Mitr Phol Innovation & Research Center, Nong Ruea, Khon Kaen 40210, Thailand

Abstract

Identification of genetic diversity of germplasm is play an important role in sugarcane breeding programs. The objective of this study was to evaluate genetic diversity of sugarcane based on yield and agronomic traits. The experimental design was used a randomized complete block design (RCBD) with two replications, during January 2014 to January 2015 at the experimental research and development station, Mitr Phol Company, Nong Ruea District. Khon Kaen province. The 258 clones were assigned as treatments, which each sugarcane genotype was planted in a single row by a spacing 1.5 x 0.5 m Yield, stalk length, stalk weight, stalk diameter, number of stalk/stool and brix were collected at 12 months after planting. The sugarcane genotype, MPT07-71 had high cane yield (24.3 kg/m²) and M147/44 had high stalk length (356.5 cm), PR3067, BO24 and MPT04-55 had high number of stalk/stool, TBy20-2248, F177 and ROC21 had a large stalk size (45.1 43.7 and 42.8 mm, respectively). MPT04-467 and K84-200 had high single stalk weight LF79-640, AIWA, CP72-120, Q115 and NCo8 had high brix value (25.3-29.0° brix). This information is very important for sugarcane breeders to select the parental lines to improve the new varieties for high cane and sugar yield.

Keywords: Cane yield, Millable cane, Stalk length, Stalk diameter, Brix, Sugarcane breeding

* Corresponding author : E-mail : patcharinso@kku.ac.th

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากใช้เป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลและอุตสาหกรรมต่อเนื่องต่างๆ เช่น ซอส ซีอิ๊ว และไฟฟ้า รวมทั้งยังสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและประเทศอย่างมาก แต่อย่างไรก็ตามในระบบการผลิตอ้อยนั้นมักจะมีปัญหาในระบบการผลิตอ้อยของประเทศไทยที่ส่งผลทำให้ผลผลิตอ้อยและน้ำตาลต่ำ มีอยู่หลายประการ เช่น โรค แมลง การเขตกรรม และการกระทบแล้ง เป็นต้น ปัญหาต่างๆ เหล่านี้สามารถแก้ปัญหาได้อย่างยั่งยืนโดยการเลือกใช้พันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพสูงด้านการให้ผลผลิตและปรับปรุงตัวได้ดี มีความเหมาะสมสำหรับแต่ละเกษตรนิเวศน์ ซึ่งการใช้พันธุ์ที่ดีที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตและความหวานสูงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มปริมาณอ้อยและลดต้นทุนการผลิตได้อย่างยั่งยืน แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการพัฒนาพันธุ์อ้อยนั้นมีหลายขั้นตอนและใช้เวลานาน หนึ่งในขั้นตอนที่กำหนดความสำเร็จและเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์อ้อยนั้น คือ การประเมินเชื้อพันธุกรรม ซึ่งจะนำไปสู่การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สำหรับการกำหนดคู่ผสมเพื่อให้ได้ประชากรอ้อยลูกผสมสำหรับคัดเลือกพันธุ์ใหม่ตรงตามลักษณะที่ต้องการตามวัตถุประสงค์ของการปรับปรุงพันธุ์

การประเมินเชื้อพันธุกรรม ที่ผ่านมามักจะเป็นการใช้ลักษณะทางการเกษตรและองค์ประกอบผลผลิตเป็นหลัก เช่น จำนวนลำต่อกอ น้ำหนักลำ ความยาวลำ ขนาดลำ และค่าความหวาน เป็นต้น (Tippayawat *et al.*, 2012) ประกอบกับถ้าฐานพันธุกรรมกว้างลูกผสมที่จะได้จะมีลักษณะที่ดีเด่นกว่าพ่อแม่ได้มากกว่าฐานพันธุกรรมแคบ Chatwachirawong and Pongpol (1996) มีการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมจากความสัมพันธ์ทางเครือญาติเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับปรับปรุงพันธุ์ให้มีการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ที่มีฐานพันธุกรรมกว้างขึ้น (Thongpaiyai *et al.*, 2012) ในขณะที่ Tippayawat *et al.* (2012) ได้ประเมินเชื้อพันธุกรรมอ้อยพันธุ์ไทย 95 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางการเกษตร เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์อ้อย ถ้าหากมีการขยายฐานพันธุกรรมโดยการนำพันธุ์อ้อยต่างประเทศเข้ามาร่วมประเมินเพื่อจัดกลุ่มพันธุ์ในเรื่องพันธุกรรมอ้อย จะทำให้เป็นประโยชน์ต่อการเลือกพ่อแม่พันธุ์ ในการสร้างลูกผสมเพื่อใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ได้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้จึงมี

วัตถุประสงค์เพื่อประเมินเชื้อพันธุกรรมอ้อย จำนวน 258 โคลนพันธุ์ เชื้อพันธุกรรมนั้นนำพันธุ์มาจากต่างประเทศและใช้พันธุ์ไทย โดยใช้ลักษณะการให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางการเกษตร ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ ให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะผลผลิตสูง และน้ำตาลสูง ได้ในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ประเมินเชื้อพันธุกรรมอ้อยจำนวน 258 โคลนพันธุ์ ประกอบด้วยพันธุ์ที่ได้จากต่างประเทศจำนวน 167 พันธุ์ กรมวิชาการเกษตรจำนวน 19 พันธุ์ สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลจำนวน 10 พันธุ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 5 พันธุ์ และบริษัทมิตรผลวิจัยและพัฒนา จำนวน 57 พันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized complete block design; RCBD) จำนวน 2 ซ้ำ ดำเนินการทดลองในเดือนมกราคม 2557 ถึงเดือนมกราคม 2558 ณ แปลงทดลองบริษัทมิตรผลวิจัยและพัฒนา (มิตรภูเวียง) อ.หนองเรือ จ.ขอนแก่น ดินที่ทำการทดลองเป็นดินชุดโคราชเนื้อดินชั้นบนเป็นดินร่วนปนทราย ชั้นล่างเป็นร่วนเหนียวปนทราย ก่อนปลูกเตรียมแปลงโดยการไถ 1 ครั้ง ไถแปร 2 ครั้ง แล้วพรวนคราดเก็บเศษวัชพืช หลังจากนั้นโรยปูนขาวในอัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อปรับสภาพดินให้มี pH อยู่ประมาณ 6.5-7.0 แล้วพรวนอีก 1 ครั้ง พร้อมคราดดินปรับระดับ ใช้ระยะปลูก 1.5 x 0.5 ม. ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ และเมื่ออ้อยอายุได้ 3 และ 6 เดือน สูตร 16-12-8 อัตรา 50 กก./ไร่ และพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังปลูก อายุ 3 เดือน โดยใช้พาราควอตไดคลอไรด์ที่อัตรา 300 มล. ต่อน้ำ 80 ล. ให้น้ำตามร่องในช่วงแรกเพื่อให้อ้อยมีความงอกสม่ำเสมอ หลังจากนั้นอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติ

1. ข้อมูลที่ตรวจวัด

เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่ออ้อยอายุ 12 เดือน พร้อมเก็บข้อมูลองค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตร เก็บข้อมูลผลผลิตอ้อย โดยนับจำนวนลำต่อกอ จากพื้นที่เก็บเกี่ยว 2.25 ตร.ม. จากแถวยาว 5 ม. และชั่งน้ำหนักสด เพื่อคำนวณผลผลิต

การสุ่มเก็บข้อมูลจากลำต้นหลักที่เป็นตัวแทนของแต่ละแปลงย่อย จำนวน 3 ลำ เพื่อใช้สำหรับเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้ องค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ (1) ขนาดลำ ตรวจวัด

เส้นผ่านกลางลำ โดยใช้เวอร์เนียร์วัด (2) จำนวนลำ/กอ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (3) น้ำหนักลำ (4) ความยาวลำ (5) ข้อมูลค่าความหวาน (องศาบริกซ์) โดยวิธีเจาะน้ำหวานจากลำต้นอ้อยบริเวณส่วนกลางลำ ซึ่งวัดจาก 2 ต้นเดิมที่เก็บบันทึกข้อมูลจำนวนต้นต่อกอโดยใช้ Digital Brix Refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น PAL1 แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์บริกซ์

2. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยใช้โปรแกรม Statistix8 คำนวณค่าสถิติพื้นฐานได้แก่ ค่าต่ำสุด (minimum) ค่าสูงสุด (maximum) ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) วัดการกระจายตัวของข้อมูลในแต่ละลักษณะ โดยประเมินค่าความถี่ของแต่ละช่วงข้อมูล โดยแบ่งออกเป็น 10 อันตรภาคชั้น (class interval) คำนวณค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างลักษณะที่ตรวจวัด และการจัดกลุ่มพันธุ์ที่ใช้เชื้อพันธุ์กรรมจากลักษณะที่ตรวจวัด โดยใช้ Ward's cluster analysis

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมอ้อยโดยใช้ลักษณะการให้ผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิตในเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์ โดยเชื้อ

พันธุ์กรรมที่นำมาศึกษามีทั้งเชื้อพันธุ์กรรมต่างประเทศ และไทย ฐานพันธุ์กรรมที่ได้จะมีการกระจายตัวที่กว้าง ดังนี้

1. ความแปรปรวนของลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์

จากการประเมินเชื้อพันธุ์กรรมอ้อยจำนวน 258 โคลนพันธุ์ พบว่า มีการกระจายตัวลักษณะต่างๆ ในทุกๆ ลักษณะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ทุกลักษณะการประเมินความหลากหลายฐานพันธุ์กรรมที่กว้าง ซึ่งแสดงได้จากค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (coefficient of variation) โดยลักษณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวสูง ได้แก่ ผลผลิต น้ำหนักลำ จำนวนลำ ขนาดลำ ความยาวลำ และบริกซ์ โดยแต่ละลักษณะมีค่าต่ำสุด สูงสุด และค่าเฉลี่ย ดังนี้ ความยาวลำ มีค่าสูงสุด 365.50 ซม. ค่าต่ำสุด 150.70 ซม. และค่าเฉลี่ย 252.60 ซม. จำนวนลำ/กอ มีค่าสูงสุด 13.00 ลำ/กอ ค่าต่ำสุด 2.00 ลำ/กอ และค่าเฉลี่ย 5.60 ลำ/กอ ขนาดลำ มีค่าสูงสุด 45.10 มม. ค่าต่ำสุด 15.80 มม. และค่าเฉลี่ย 27.30 มม. น้ำหนักลำ มีค่าสูงสุด 2.40 กก. ค่าต่ำสุด 0.30 กก. และค่าเฉลี่ย 1.10 กก. ค่าบริกซ์ มีค่าสูงสุด 26.7 ค่าต่ำสุด 11.5 และค่าเฉลี่ย 20.6 ผลผลิต มีค่าสูงสุด 24.30 กก./ตร.ม. ค่าต่ำสุด 2.70 กก./ตร.ม. และค่าเฉลี่ย 9.70 กก./ตร.ม. โดยทุกลักษณะที่มีค่าสูงสามารถบ่งบอกถึงลักษณะที่ดีเด่นที่จะสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ และค่า CV (%) บ่งบอกความแปรปรวนของเชื้อพันธุ์กรรมของลักษณะต่างๆ (Table 1)

Table 1 Maximum (max), minimum (min), mean, standard division (SD), coefficient of variation (CV) and F-test of stalk length, number of stalk/stool, stalk diameter, single stalk weight, brix and cane yield among in 258 clones of sugarcane germplasm.

Trait	Max	Min	Mean	SD	CV (%)	F-test
Stalk length (cm)	356.5	150.7	252.6	34.3	13.6	**
Number of stalk /stool	13.0	2.0	5.6	2.1	34.7	**
Stalk diameter (mm)	45.1	15.8	27.3	4.1	15.1	**
Single stalk weight (Kg)	2.4	0.3	1.1	0.4	36.5	**
Brix	26.7	11.5	20.6	2.8	13.5	**
Cane yield (Kg/m ²)	24.3	2.7	9.7	3.7	37.8	**

** Significant difference at $p=0.01$

CV= Coefficient of variation of data set, $[SD/mean \times 100]$

2. การกระจายตัวของข้อมูลลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์

การประเมินการกระจายตัวของเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์ โดยแบ่งช่วงอันตรภาคชั้น (class interval) ออกเป็น 10 อันตรภาคชั้น เพื่อแจกแจงความถี่ของแต่ละชั้น (class) ในการอธิบายรูปแบบการกระจายตัวความถี่ของประชากรที่ศึกษา (histogram) โดยพบว่า ลักษณะผลผลิตมีช่วงของข้อมูล (ค่าต่ำสุด-สูงสุด) เท่ากับ 2.70-24.25 กก./ตร.ม. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.70 กก./ตร.ม. อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 4 โดยลักษณะผลผลิต ที่มีความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 3 โดยพันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ MPT07-71 (24.25 กก./ตร.ม.) (Fig. 1)

จำนวนลำ/กอ อยู่ในช่วงระหว่าง 2.0-13.0 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.60 ลำ/กอ อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 5 ความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 3 และ 2 โดยพันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ PR3067, Bo24 และ MPT04-55 (13 จำนวนลำ/กอ) (Fig. 2)

ความยาวลำ (ซม.) อยู่ในช่วงระหว่าง 150.70-356.50 ซม. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 252.60 ซม. อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 5 โดยลักษณะความยาวลำ (ซม.) ที่มีความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 5 ซึ่งพันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ M147/44 (356 ซม.) (Fig. 3)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ อยู่ในช่วงระหว่าง 15.80-45.10 มม. และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.30 มม. อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 4 มีความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 5 พันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ Tby20-2248, F177 และ ROC21 (Fig. 4)

น้ำหนักลำเดี่ยว อยู่ในช่วงระหว่าง 0.30-2.40 กก. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.10 กก. อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 4 โดยลักษณะน้ำหนักลำเดี่ยวมีความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 4 โดยพันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ MPT04-467 และ K84-200 (Fig. 5)

ค่าบrix อยู่ในช่วงระหว่าง 11.50-26.7 และมีค่าเฉลี่ยของบrixเท่ากับ 20.60 อยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 6 โดยลักษณะค่าบrix มีความถี่สูงสุดอยู่ในอันตรภาคชั้นที่ 7 โดยพันธุ์ที่โดดเด่น ได้แก่ พันธุ์ LF79-640, AIWA, CP72-120, Q115 และ Nco293 (Fig. 6)

ซึ่งลักษณะเด่นต่างๆ นั้นเป็นลักษณะที่นักปรับปรุงพันธุ์จะต้องเพิ่มในพันธุ์ใหม่เพื่อเพิ่มผลผลิตอ้อยและผลผลิต

น้ำตาล เช่น การเพิ่มผลผลิตอ้อยสามารถเพิ่มได้จากองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความยาวลำ ขนาดลำ น้ำหนักลำ และจำนวนลำ/กอ เป็นต้น

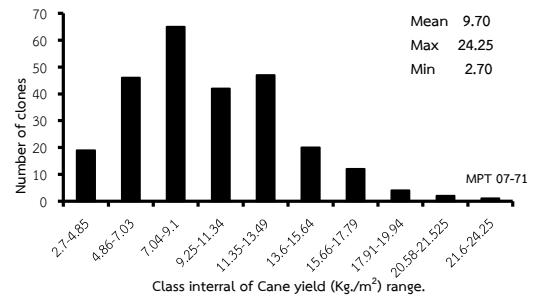


Fig.1 Distribution of cane yield in sugarcane 258 clones.

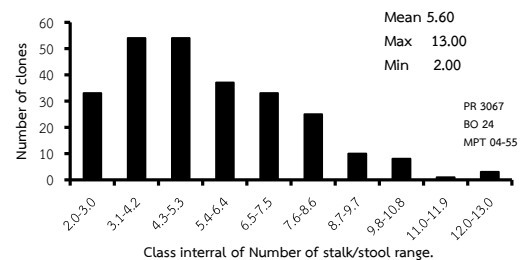


Fig.2 Distribution of number of stalk/ stool in sugarcane 258 clones.

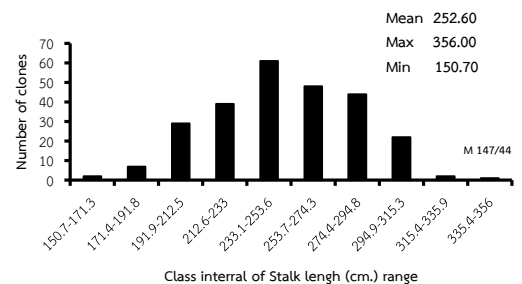


Fig.3 Distribution of stalk length in sugarcane 258 clones.

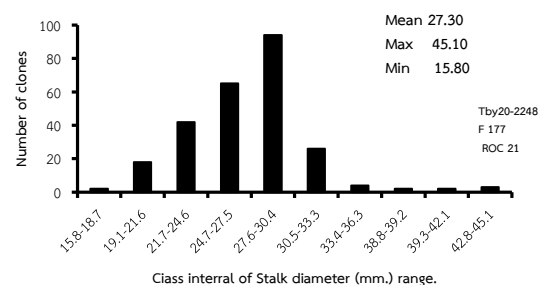


Fig.4 Distribution of stalk diameter in sugarcane 258 clones.

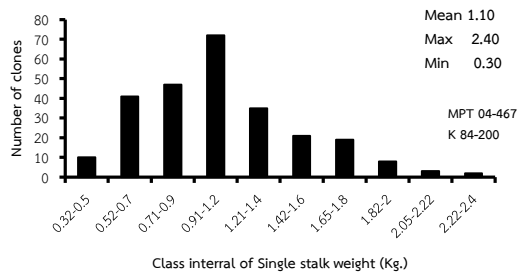


Fig.5 Distribution of single stalk weight in sugarcane 258 clones.

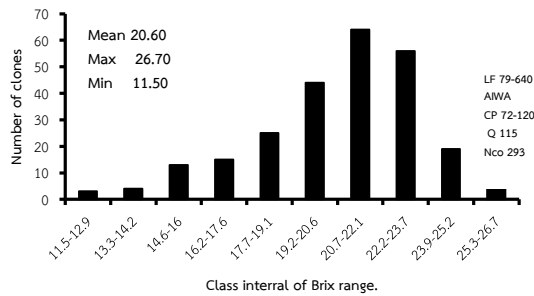


Fig.6 Distribution of brix in sugarcane 258 clones.

3. ความสัมพันธ์ผลผลิตกับองค์ประกอบผลผลิต

จากการศึกษาพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อย พบว่า จำนวนลำ ขนาดลำ และความยาวลำ ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ James (1971) และ Milligan *et al.* (1990) ได้รายงานว่าการศึกษานี้ จำนวนลำ ความยาวลำ และขนาดลำ มีอิทธิพลต่อผลผลิตอ้อย นอกจากนี้ ผลผลิตกับบrix มีสหสัมพันธ์ต่ำมาก พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง คือ พันธุ์ MPT07-71 ให้ผลผลิต 24.25 กก./ตร.ม. จำนวนลำต่อกอ 10 ลำ/กอ ขนาดลำ 24.24 มม. น้ำหนักลำ 1.7 กก. และบrix 17.25 พันธุ์ F174 ให้ผลผลิต 21.53 กก./ตร.ม. พันธุ์ UT1 ให้ผลผลิต 20.58 กก./ตร.ม.

พันธุ์ PR3067 เป็นพันธุ์ที่ให้จำนวนลำต่อกอสูงเท่ากับ 13 ลำ/กอ (Fig. 7) พันธุ์ TBy20-2248 เป็นพันธุ์ที่ขนาดลำใหญ่ เท่ากับ 45.1 มม. (Fig. 8) พันธุ์ M147/44 เป็นพันธุ์ที่ความยาวลำสูง เท่ากับ 356.5 ซม. (Fig. 9) พันธุ์ MPT04-467 ให้น้ำหนักต่อลำสูง เท่ากับ 2.4 กก. (Fig. 10) พันธุ์ MP07-71 ให้ผลผลิต 24.25 กก./ตร.ม. และมีค่าบrix เท่ากับ 19.75 พันธุ์ที่มีบrix สูง คือ พันธุ์ LF96-640 เท่ากับ 26.2 (Fig. 11) จากการศึกษานี้ พันธุ์ MPT07-71 ให้ผลผลิต เท่ากับ 24.25 กก./ตร.ม. และพันธุ์ที่

มีค่าบrix สูง คือ พันธุ์ LF96-640 มีค่าบrix เท่ากับ 26.2 ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและน้ำตาลสูง

การปรับปรุงพันธุ์ที่สะสมน้ำตาลเร็วและมีความหวานสูง (ลักษณะเชิงคุณภาพ) พันธุ์แม่เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง กลุ่มพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงควรพิจารณานำไปพัฒนาพันธุ์ เช่น ผสมพันธุ์กับพันธุ์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลสูงด้วย เช่น นำพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ขนาดลำสูง จำนวนลำต่อกอสูง บrix สูง ซึ่งจะทำให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตสูงความหวานสูงในอนาคตได้ ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ต้องการผลผลิตสูงและ บrix สูง แต่เนื่องจากพ่อแม่พันธุ์มีบrix สูงแต่ผลผลิตต่ำ ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ การผสมกลับเป็นการปรับสมดุลของยีนในลูกผสม โดยการเพิ่มอัตราส่วนของยีนจากพ่อหรือแม่ข้างใดข้างหนึ่งให้สูงขึ้น (Jensen, 1988)

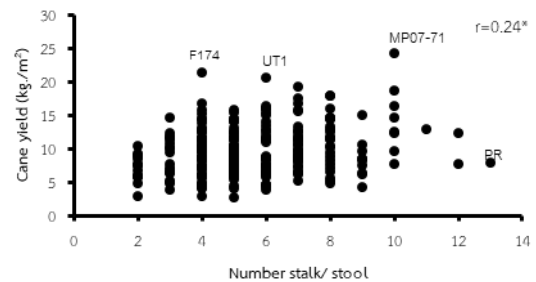


Fig.7 Relationship between cane yield and number stalk/stool of 258 clones.

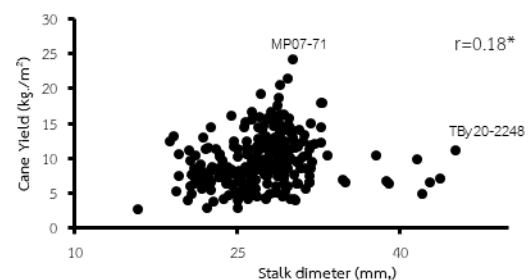


Fig.8 Relationship between cane yield and stalk diameter of 258 clones.

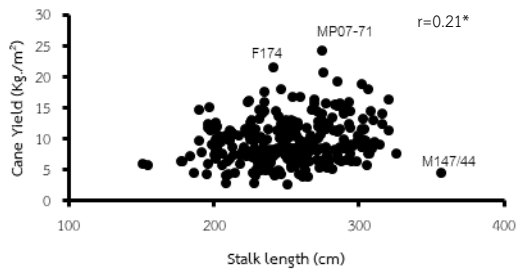


Fig.9 Relationship between cane yield and stalk length of 258 clones.

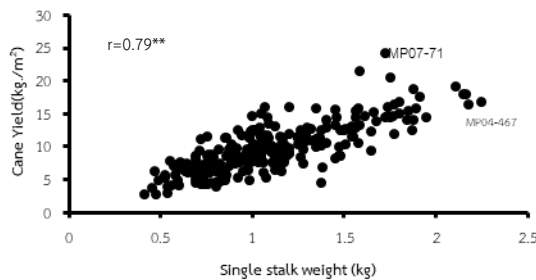


Fig.10 Relationship between cane yield and single stalk weight of 258 clones.

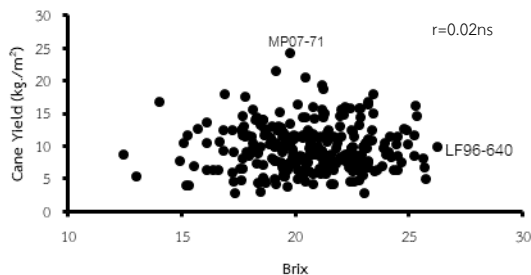


Fig.11 Relationship between cane yield and brix of 258 clones.

ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและน้ำหนักลำเดี่ยวที่มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูง ($r=0.79^{**}$) ส่วนลักษณะความยาวลำ ขนาดลำ จำนวนลำต่อกอ น้ำหนักลำ และค่าบริกซ์มีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำ ($r=0.18-0.24$) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตอ้อยและองค์ประกอบของผลผลิต พบว่าน้ำหนักลำมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงที่สุด จำนวนลำ ความยาวลำ และขนาดลำ มีความสัมพันธ์ต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 0.79^{**} , 0.24^{*} , 0.21^{*} และ 0.18^{*} ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักลำส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ส่งผลในด้านการให้ผลผลิต (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ

James (1971) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักลำมีอิทธิพลต่อผลผลิตอ้อยสูง และผลผลิตอ้อยไม่มีความสัมพันธ์กับค่าบริกซ์

4. การจัดกลุ่มพันธุ์อ้อย 258 โคลนพันธุ์โดยใช้ลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต

จากการจัดกลุ่มพันธุ์อ้อย 258 โคลนพันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต เมื่อพิจารณาผลจาก Dendrogram พบว่า สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 15 กลุ่ม (Fig.12) ดังนี้ กลุ่ม A เป็นกลุ่มที่มีค่าบริกซ์อยู่ในเกณฑ์สูง ซึ่งมี 19 โคลนพันธุ์ กลุ่ม B เป็นกลุ่มที่มีจำนวนลำต่อกอและขนาดลำอยู่ในเกณฑ์ต่ำ มีจำนวน 22 โคลนพันธุ์ กลุ่ม C เป็นกลุ่มที่มีขนาดลำและบริกซ์ ปานกลาง มีจำนวน 15 โคลนพันธุ์ กลุ่ม D เป็นกลุ่มที่มีบริกซ์ และความยาวลำอยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 15 โคลนพันธุ์ กลุ่ม E เป็นกลุ่มที่มีขนาดลำอยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 6 โคลนพันธุ์ กลุ่ม F เป็นกลุ่มที่มีจำนวนลำต่อกอและบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่สูง แต่มีผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ต่ำ มีจำนวน 22 โคลนพันธุ์ ได้แก่ CP77-418, C87-51, IAC52-156, EBenc, N6, NCo310, ROC23, F175, F170, Q113, NCo328, F150, GALOA, Q114, PT42-52, CAC57-56, Mossman, Vidar, Co1287, Q77, PSA63 และ CP52-68 กลุ่ม G เป็นกลุ่มที่มี จำนวนลำและขนาดลำอยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 6 โคลนพันธุ์ กลุ่ม H เป็นกลุ่มที่มีความยาวลำ จำนวนลำต่อกอและค่าบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง มีจำนวน 40 โคลนพันธุ์ กลุ่ม I เป็นกลุ่มที่มีผลผลิตต่ำ น้ำหนักลำ จำนวนลำ ขนาดลำและค่าบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ มีจำนวน 13 โคลนพันธุ์ กลุ่ม J เป็นกลุ่มที่มีผลผลิตและบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ มีจำนวน 13 โคลนพันธุ์ กลุ่ม K เป็นกลุ่มที่มีผลผลิต น้ำหนักลำ และจำนวนลำ อยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 20 โคลนพันธุ์ กลุ่ม L เป็นกลุ่มที่มีจำนวนลำ ขนาดลำ และบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ กลุ่ม M กลุ่มที่มีน้ำหนักลำ ความยาวลำ และบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 18 โคลนพันธุ์ กลุ่ม N เป็นกลุ่มที่มีผลผลิต น้ำหนักลำ ความยาว จำนวนลำต่อกอ ขนาดลำ และบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่สูง มีจำนวน 20 โคลนพันธุ์ และกลุ่ม O เป็นกลุ่มที่มีผลผลิต และบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ มีจำนวน 18 โคลนพันธุ์ (Fig.12) โดยพันธุ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีผลผลิต น้ำหนักลำ ความยาว จำนวนลำต่อกอ ขนาดลำ และบริกซ์อยู่ในเกณฑ์ที่สูง ได้แก่พันธุ์ MY5514, UT5, MPT08-276, MPT04-204, MPT08-289, UT91-2-527, MPT08-48, MPT06-171, MPT08-3, MPT06-169, MPT04-55, 02-2-226, 94-2-254, MPT08-191, 92-1-213, K93-213, K93-219,

MPT08-95, MPT08-141 และ Kps00-103 ซึ่งงานปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาพันธุ์อ้อยในประเทศไทย คือ พันธุ์ใหม่ๆ ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ฐานพันธุ์กรรมแคบ จากการศึกษาข้อมูลพันธุ์ประวัติของอ้อยพันธุ์การค้าในประเทศไทยของ Thongpaiyai *et al.* (2012) พบว่า พันธุ์อ้อยการค้าของไทยเกิดจากพันธุ์อ้อยต่างประเทศเพียง 26 พันธุ์

หลายพันธุ์มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ K84-200 และพันธุ์ UT1 ร้อยละ 37.3 และ 20.4 ตามลำดับ ดังนั้นลักษณะต่างๆ ที่โดดเด่นในกลุ่มพันธุ์นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่จะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ให้มีลักษณะที่ดีตรงตามความต้องการได้

Table 2 Correlation coefficient among cane yield, stalk length (cm), single stalk weight (kg), stalk diameter (mm), number of stalk/stool and brix (° brix) in 258 clones of sugarcane germplasm.

Trait	Stalk length	Single stalk weight	Stalk diameter	Brix	Number of stalk/stool
Cane yield	0.21*	0.79**	0.18*	0.02 ^{ns}	0.24*
Stalk length		0.35*	0.18*	0.03 ^{ns}	0.13*
Single stalk weight			0.19*	0.02 ^{ns}	0.18*
Stalk diameter				0.01 ^{ns}	0.11*
Brix					0.01 ^{ns}

ns = non-significant

* and ** Significant difference at p=0.05 and 0.01, respectively

สรุป

จากการประเมินความหลากหลายในเชื้อพันธุ์กรรมอ้อย 258 โคลนพันธุ์ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มาจากต่างประเทศ และพันธุ์ในประเทศไทย ซึ่งมีความโดดเด่นในลักษณะต่างๆ ที่แตกต่างกัน และฐานพันธุ์กรรมที่ได้เพื่อจะได้นำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ นำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ ที่มีลักษณะที่ดีเด่น ดังนี้ ในเชื้อพันธุ์กรรมที่ศึกษาครั้งนี้พบว่า พันธุ์ที่มีความโดดเด่นในลักษณะต่างๆ ดังนี้ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง คือ พันธุ์ MPT07-71 พันธุ์ที่มีความยาวลำมาก ได้แก่ พันธุ์ M147/44, M336, 94-2-254, CP57-603 และ MPT04-55 พันธุ์ที่มีขนาดลำใหญ่ ได้แก่ พันธุ์ TBy20-2248, F177 และ ROC21 พันธุ์ที่มีจำนวนลำต่อกอมาก คือ พันธุ์ PR306 พันธุ์ที่น้ำหนักลำเดี่ยวสูง ได้แก่ พันธุ์ MPT04-467 และ K84-200 ส่วนพันธุ์ที่มีค่าบrixสูง ได้แก่ พันธุ์ LF79-640, AIWA, CP72-120, Q115 และ Nco29

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยอ้อยและน้ำตาลภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น กองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งบริษัทมิตรผลวิจัย พัฒนาอ้อยและน้ำตาล จำกัด ที่ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำงานวิจัย และสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยพันธุ์อ้อยที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

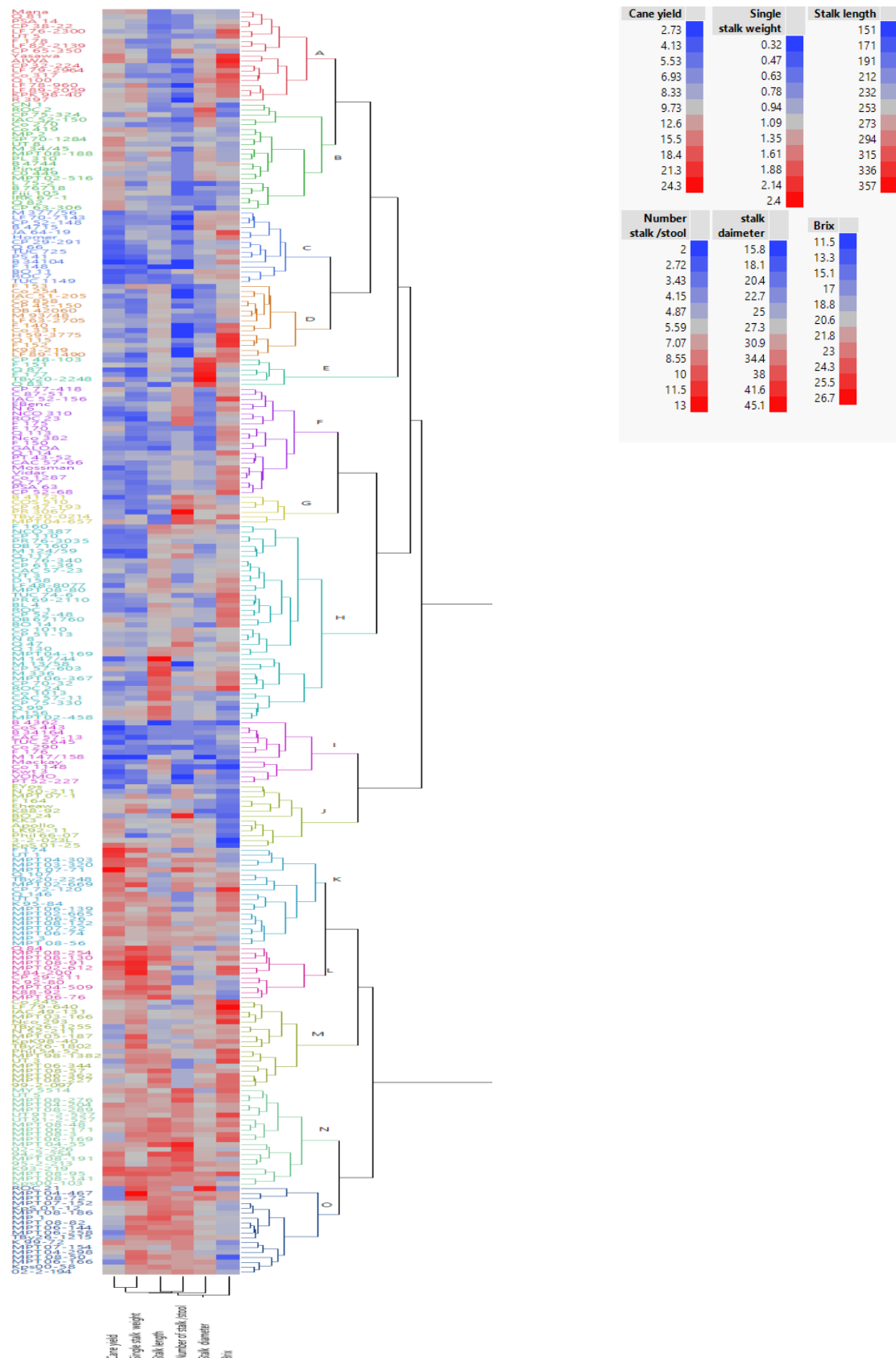


Fig.12 Dendrogram based on yield and yield components of sugarcane germplasm 258 genotypes were group into 15 groups according to Ward's cluster analysis.

References

- Chatwachirawong, P., and Pongpol, A. 1996. Heritability in broad sense agronomic traits in population sugarcane seedling. *Proceedings of National Sugarcane and Sugar Conference*. 15-17 October 2000. Sima Thani Hotel Nakhon Ratchasima. (in Thai)
- James, N. I. 1971. Yield components in random and selected sugarcane populations. *Crop Science*. 11 : 906-908.
- Jensen, N. F. 1988. Plant breeding methodology. New York : John Wiley and Sons.
- Milligan, S. B., Gravois, K. A., Bischoffk, P., and Martin, F. A. 1990. Crop effects on genetic relationships among sugarcane traits. *Crop Science*. 30 : 927-931.
- Thongpaiyai, C., Wongpraneekul, A., and Chatwachirawong, P. 2012. Genetic diversity and relationships among commercial sugarcane varieties in Thailand. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 3 : 60-67. (in Thai)
- Tippayawat, A., Ponragdee, W., and Sansayawichai, T. 2012. Characteristics of Thai sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrid) cultivars and potential for utilization. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 3 : 53-59. (in Thai)

การผลิตไบโอดีเซลจากยีสต์สะสมไขมันสูงโดยใช้ไฮโดรไลเซตซึ่งข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน

กุสุมาวดี ฐานเจริญ^{1*}, นิตยา นาอะเมฆ² และอัศนี แสนมา²

¹สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ต. ตลาด อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาชีววิทยา คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ต. ตลาด อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถในการผลิตไขมันจากยีสต์ศักยภาพสูงที่สะสมไขมันในเซลล์จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ BJMK02, CTWY07, CTWY19 และ SCMK77 ในอาหารไฮโดรไลเซตซึ่งข้าวโพด ภายใต้สภาวะจำกัดแหล่งไนโตรเจน โดยการปรับสภาพซึ่งข้าวโพดด้วยกรดซัลฟูริกและกรดฟอสฟอริก พบว่า ไฮโดรไลเซตเริ่มต้นมีน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 182.32 และ 2.34 มิลลิกรัมต่อลิตร กำจัดสารพิษในไฮโดรไลเซตด้วยวิธี over liming ร่วมกับการดูดซับด้วยผงคาร์บอน และใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตไขมันโดยยีสต์สะสมไขมันสูงทั้ง 4 สายพันธุ์หมักในระดับฟลาสก์เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์รหัส CTWY07 ให้ปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 34.43 ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ องค์ประกอบของกรดไขมันจากยีสต์รหัส CTWY07 ส่วนใหญ่ คือ กรดปาล์มมิก และกรดโอเลอิก ดังนั้นซึ่งข้าวโพดจึงมีศักยภาพในการใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตไขมันจากจุลินทรีย์สะสมไขมันสูง และสามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานทดแทนในรูปไบโอดีเซล

คำสำคัญ : การปรับสภาพ ทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน น้ำมันจากจุลินทรีย์ ไบโอดีเซล ไฮโดรไลเซต

* ผู้เขียนให้ติดต่อ : E-mail : Kthancharoen@gmail.com

Biodiesel Production by Oleaginous Yeasts using Corncob Hydrolysate as a Carbon Source

Kusumawadee Thancharoen^{1*}, Nittaya Nakamake² and Assanee Sanma²

¹*Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Mahasarakham University,
Talat, Mueng, Mahasarakham 44000*

²*Department of Biology, Faculty of Education, Rajabhat Mahasarakham University,
Talat, Mueng, Mahasarakham 44000*

Abstract

In this study, the lipid production potential of 4 oleaginous yeast strains were BJMK02, CTWY07, CTWY19 and SCMK77 in corncob hydrolysate medium under nitrogen limited condition were investigated. Corncob was treated by dilute sulfuric and phosphoric acid. The hydrolysate contained initial 182.32 mg/L of total sugar and reducing sugar 2.34 mg/L. The hydrolysate, after being detoxified by over liming and absorption with activated charcoal, was use for oil production using 4 oleaginous yeast strains. After 144 hour growth in shake - flasks, the CTWY07 had highest lipid content 34.43% of dry cell weight compared with other oleaginous strains. The fatty acid composition of CTWY07 obtained palmitic acids and oleic acids were the major fatty acid. Corncob thus is a promising raw material for microbial oil production by oleaginous microorganism and application for biodiesel renewable.

Keywords : Pre-treatment, Transesterification, Single cell oil, Biodiesel, Hydrolysate

* Corresponding author : E-mail : Kthancharoen@gmail.com

บทนำ

โลกในปัจจุบันกำลังประสบกับปัญหาปริมาณน้ำมันที่ลดลงจนใกล้จะหมดลงทุกขณะ ราคาน้ำมันจึงมีราคาสูงขึ้น สาเหตุประการหนึ่งที่สำคัญเนื่องจากปริมาณการผลิตเครื่องยนต์ดีเซลเพิ่มสูงขึ้น ไบโอดีเซลมีลักษณะเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันเรียกว่า Fatty acids (FAs) methyl esters ได้จากไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerols) ที่ผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) โดยใช้ไขมันพืช ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันที่ใช้แล้วมาทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในการขับเคลื่อนเครื่องยนต์ดีเซลและให้ความร้อนแก่ระบบไบโอดีเซลเป็นแหล่งพลังงานที่มีศักยภาพเพียงพอสามารถใช้เป็นแหล่งน้ำมันทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมที่มีอย่างจำกัด และเป็นพลังงานฟอสซิลที่ใช้แล้วหมดไปได้ (Azocar *et al.*, 2010; Liu and Zhao, 2007; Zhu *et al.*, 2008) ดังนั้นไบโอดีเซลจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การปลดปล่อยปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซัลเฟอร์ และสารพิษที่เป็นอันตรายออกสู่ชั้นบรรยากาศในปริมาณน้อยมาก (Meng *et al.*, 2009) การใช้ไบโอดีเซลสามารถลดปริมาณก๊าซพิษที่ถูกปลดปล่อยได้ถึงร้อยละ 78 ของวัฏจักร เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้้ำมันปิโตรเลียม (Helwani *et al.*, 2009) อีกทั้งผลิตได้จากทรัพยากรธรรมชาติหมุนเวียน แต่การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้พืชน้ำมันยังมีต้นทุนการผลิตที่สูงถึงร้อยละ 70-85 ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด การสกัดไขมันจากเมล็ดพืชไปใช้ ทำให้น้ำมันไม่เพียงพอต่อความต้องการทั้งภายในประเทศและต่างประเทศด้วย รวมถึงต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ในการผลิตพืชน้ำมัน เช่น ฤดูกาล ระยะเวลาในการปลูก และการเก็บเกี่ยว เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาหาแนวทางและแหล่งทางเลือกใหม่ในการเพิ่มปริมาณไขมันให้สูงขึ้นในระยะเวลาที่สั้นลง เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการและลดต้นทุนในการผลิต ในปัจจุบันมีการลงทุนและพัฒนาจุลินทรีย์สะสมไขมัน พบว่า มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถสะสมไขมันได้ เช่น ยีสต์ เชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย เป็นต้น จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถผลิตไขมันหรือน้ำมันได้มากกว่าร้อยละ 60 ของน้ำหนักแห้งในสภาวะจำกัดไนโตรเจน โดยไขมัน หรือน้ำมันที่ผลิตได้จะมีลักษณะเหมือนกับไขมัน หรือน้ำมันที่พบในพืชน้ำมัน และอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์มากถึงร้อยละ 80-90 ของปริมาณไขมันหรือน้ำมันที่พบ การใช้จุลินทรีย์ผลิตไขมันหรือน้ำมันมีข้อได้เปรียบมากกว่าการผลิตจากพืชน้ำมันหลายประการ เช่น ใช้เวลาในการผลิตสั้น เพราะจุลินทรีย์มีช่วงชีวิตสั้นกว่า และยังใช้แรงงานในการเก็บเกี่ยวน้อยกว่า

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมน้อยกว่า และสามารถเพิ่มกำลังการผลิตได้ง่ายกว่าพืชน้ำมันอีกด้วย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้จุลินทรีย์จัดเป็นแหล่งของไขมัน หรือน้ำมันเพื่อการผลิตไบโอดีเซลที่สำคัญในอนาคต (Sirisansaneeyakul, 2011) โดยเฉพาะยีสต์นั้นจัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการผลิตไบโอดีเซลเนื่องจากสามารถผลิตและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้สูงถึงร้อยละ 60-70 และไขมันที่ผลิตได้จัดเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันส่วนใหญ่ คือ กรดปาล์มมิก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริก ซึ่งมีความคล้ายกับน้ำมันจากเมล็ดพืช ข้อได้เปรียบของยีสต์ในด้านการเพาะเลี้ยง คือ เจริญเร็ว ใช้แหล่งคาร์บอนราคาถูกได้ เช่น ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรม หรือน้ำตาลจากวัสดุการเกษตร (Leesing, 2013)

แหล่งคาร์บอนที่สามารถผลิตไบโอดีเซลและมีความน่าสนใจในปัจจุบันคือ วัสดุที่เหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูกและมีย่อยแพร่หลายในประเทศที่เป็นเกษตรกรรม เช่น ประเทศไทย โดยเฉพาะฟางข้าว ชานอ้อย หรือซังข้าวโพดที่มีการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะเหลือทิ้งของวัสดุเหล่านี้ โดยเฉพาะซังข้าวโพดหากมีการเผาเปลือก และซังข้าวโพดในที่โล่งแจ้งจะก่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ฝุ่น ออกไซด์ของไนโตรเจน และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ รวมเท่ากับ 1,917.69, 68.68, 23.38, 3.57 และ 0.46 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้งตามลำดับ การเผาต้น/ตอ/ใบข้าวโพดในที่โล่งแจ้งก่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ฝุ่น ออกไซด์ของไนโตรเจน และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ รวมเท่ากับ 1,147.43, 63.74, 3.39, 2.31 และ 0.54 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้งตามลำดับ (National Research Council of Thailand, 2011) โดยการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นสับสเตรทเพื่อผลิตพลังงานทดแทนอย่างไบโอดีเซลอย่างมีประสิทธิภาพและคุ้มค่าต่อการลงทุน จึงเป็นเรื่องที่มีความน่าสนใจเนื่องจากสามารถลดปัญหาสิ่งแวดล้อม เพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้ง และลดต้นทุนในการผลิต จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า การใช้วัตถุดิบประเภทกลีโกลีเซอไลด์เหลือทิ้งสามารถลดต้นทุนในการผลิตได้ถึงร้อยละ 75 (Guo *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2009) ในงานวิจัยนี้จึงได้เห็นความสำคัญของยีสต์สะสมไขมันสูง เพื่อนำไปผลิตไบโอดีเซล ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันจากฟอสซิลที่กำลังจะหมดไป อีกทั้งยังมองหาแหล่งวัตถุดิบที่มีราคาถูกไม่กระทบต่อภาคอุตสาหกรรมอาหาร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์สะสมไขมันสูง

ยีสต์สะสมไขมันสูงทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ รหัส BJMK02 (คัดแยกจากฟักข้าว), CTWY07 (คัดแยกจากน้ำทิ้งโรงอาหารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม), CTWY19 (คัดแยกจากน้ำทิ้งโรงอาหารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม) และ SCMK77 (คัดแยกจากขานอ้อยโรงงานน้ำตาล) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Yeast Extract Peptone - Dextrose Agar (YPD) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องบ่มแบบเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD₆₀₀) ทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อบันทึกผลการเจริญ

2. การผลิตไขมันและไบโอดีเซลในไฮโดรไลเซตซังข้าวโพด

2.1 การเตรียมซังข้าวโพด

อบซังข้าวโพดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2-10 มิลลิเมตร

2.2 การปรับสภาพซังข้าวโพด

ซังข้าวโพดที่ผ่านการอบ เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตรต่อปริมาตร ผสมกับกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยใช้อัตราส่วนของซังข้าวโพดโดยน้ำหนักต่อสารละลายกรดเท่ากับ 1:3 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เติมผงถ่าน (activated carbon) บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารละลายที่ได้ปรับค่าพีเอชด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (CaOH) โดยให้ค่าพีเอชเท่ากับ 10 กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 แล้วปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์จนได้พีเอชเท่ากับ 6 ทำการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method (Miller, 1959) และวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sulfuric method (Dobois *et al.*, 1956)

2.3 การผลิตไขมันจากยีสต์สะสมไขมันสูง

เพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ในอาหาร YPD ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องบ่มแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมอาหารที่มีไฮโดรไลเซตซังข้าวโพดและเติมเชื้อตั้งต้นของยีสต์สะสมไขมันสูงร้อยละ 5 บ่มที่

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 144 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างโดยการปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4 การสกัดไขมัน

ตัวอย่างหลังการปั่นเหวี่ยงในข้อ 2.3 ทำการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บ่มอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเมทานอล ปริมาตร 40 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะเกิดการแยกชั้นของไขมันและสารละลายที่ใช้ในการสกัด ทำการสกัดเฉพาะชั้นไขมัน (อยู่ด้านบนของสารละลาย) ซึ่งน้ำหนักไขมัน จากนั้นนำค่าน้ำหนักไขมันกับค่าน้ำหนักแห้งไปหาความสัมพันธ์ดังนี้ (Liu *et al.*, 2015)

Lipid titer (g/L) = ไขมันที่สกัดได้ต่อตัวอย่างปริมาตร
1 ลิตร

Lipid content (% w/w) = $\frac{\text{Lipid titer (g/L)} \times 100}{\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)}}$

Lipid yield (% g/g) = $\frac{\text{Lipid titer (g/L)} \times 100}{\text{น้ำตาลที่เหลือ (g/L)}}$

2.5 การผลิตไบโอดีเซล

น้ำมันที่ผลิตได้จากยีสต์สะสมไขมันสูงที่ทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เติมเมทานอลโดยอัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก นำส่วนผสมไปบ่มให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเทส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในกรวยแยกตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างกลีเซอรอลกับไบโอดีเซล โดยชั้นบนเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือไบโอดีเซล และส่วนชั้นล่างเป็นกลีเซอรอล แยกกลีเซอรอลออก

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของเมทิลเอสเทอร์

วิเคราะห์ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือไบโอดีเซลที่ได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ทำกราฟมาตรฐานของเมทิลเอสเทอร์มาตรฐาน โดยการชั่งน้ำหนักที่แน่นอนนำมาเปรียบเทียบกับเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ในข้อ 2.5 โดยนำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาวิเคราะห์หาค่าประกอบของกรดไขมันทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพด้วยเครื่อง Gas

Chromatography masss-pectrometer(GCMS-QP2010 Shimadzu, Japan) โดยใช้คอลัมน์ชนิด Select Biodiesel for Flame, length 30 m., 320 μ m ID, 0.25 μ m film thickness สภาวะที่ใช้ คือ ที่อัตราไหลของแก๊สพาเท่ากับ 1 มิลลิตรต่อนาที สภาวะตูบมีอุณหภูมิเริ่มต้น 210 องศาเซลเซียส คงที่ 12 นาที และเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส คงที่ 8 นาที ตรวจวัดสัญญาณของสารด้วยตัวตรวจวัดชนิด Electron Ionization ผลการทดลองคำนวณได้จากพื้นที่ใต้กราฟของ peak ซึ่งนำมาหาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ในตัวอย่างได้ โดยการเทียบจากพื้นที่ใต้กราฟของ peak เมทิลเอสเทอร์มาตรฐานที่ใช้น้ำหนักที่แน่นอนในแต่ละความเข้มข้น (Samniang *et al.*, 2014)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ผลการวิจัย

1. สัณฐานวิทยาของยีสต์สะสมไขมัน

ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง YPD และรูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์คือ รหัส BJMK02, CTWY07, CTWY19 และ SCMK77 ผลการศึกษาแสดงใน Fig. 1 และ Table 1

Table 1 Morphological characteristics and cell shape of oleaginous yeast under microscope

Yeast strains	Morphology			Cell shape
	Color	Margin	Elevation	
BJMK02	Cream	Entire	Flat	Ellipsoidal
CTWY07	White	Entire	Convex	Oval
CTWY19	White	Entire	Raised	Oval
SCMK77	Orange	Entire	Convex	Spherical

จาก Fig. 1 และ Table 1 สัณฐานวิทยาของยีสต์ที่ศึกษามีสีโคโลนีสีครีม ขาว และส้มแดง ในขณะที่รูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นรูปรี ไข่ และกลม โดยสายพันธุ์ CTWY07 และ CTWY19 มีความคล้ายคลึงกัน คือ มีโคโลนีสีขาวและเซลล์เป็นรูปไข่เหมือนกัน แต่มีความหนูนของโคโลนีแตกต่างกัน สำหรับสายพันธุ์ BJMK02 มีโคโลนีสีครีม และเซลล์มีรูปร่างรี และสายพันธุ์ SCMK77 มีโคโลนีสีส้มแดง และเซลล์มีรูปร่างกลม โดยยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ผ่านการคัดเลือกของการสะสมไขมันในเซลล์โดยคัดเลือกเบื้องต้นจากการติดสี

ย้อมแบบชูดาน แบล็ค บี และการผลิตไขมันได้สูงในอาหารจำกัดแหล่งไนโตรเจน (Thancharoen *et al.*, 2017)

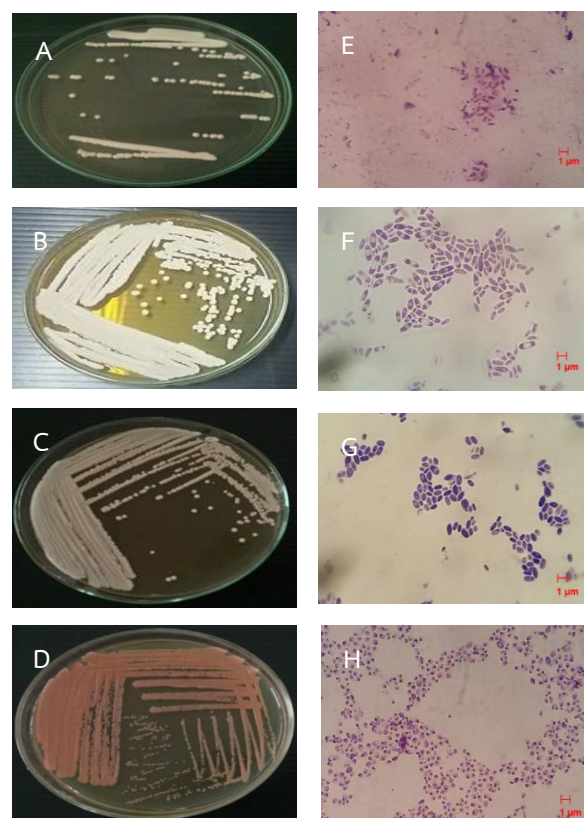


Fig. 1 Morphological characteristics (A-D) and cell shape under microscope (100X) (E-H) of BJMK02, CTWY07, CTWY19 and SCMK77

2. การเจริญในอาหาร YPD และไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด

ศึกษาการเจริญของยีสต์สะสมไขมันสูงทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร YPD บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องบ่มแบบเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD₆₀₀) ทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อบันทึกผลการเจริญเติบโต

จาก Fig. 2 และ 3 แสดงรูปแบบการเจริญของยีสต์ สะสมไขมันสูงในอาหารสังเคราะห์ YPD และอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด พบว่า การเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารสังเคราะห์ YPD ยีสต์จะเข้าสู่ระยะ log phase ได้ตั้งแต่วันที่ 24 และเข้าสู่ระยะ stationary- phase ในชั่วโมงที่ 48 และอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด ยีสต์ทุกไอโซเลตจะเข้าสู่ระยะ stationary phase ได้ตั้งแต่วันที่ 96 ขึ้นไป แสดงให้เห็นว่า ยีสต์ทุกไอโซเลต มีการปรับตัวให้เข้ากับอาหารสังเคราะห์ได้ดีกว่าไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด เนื่องจากมีระยะในการปรับตัวสั้น (lag phase ใช้เวลาน้อยกว่า) และยีสต์รหัส CTWY07 และ SCMK77 เริ่มเข้าสู่ระยะ

stationary phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96-144 ในขณะที่ยีสต์รหัส BJMK02 และ CTWY19 ในชั่วโมงที่ 144 จะเริ่มเข้าสู่ระยะ death phase ในอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด เมื่อสังเกตค่า OD₆₀₀ พบว่ายีสต์สามารถเจริญได้รวดเร็วในอาหาร YPD มากกว่าอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด โดยอาหาร YPD มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องจากกลูโคสเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมและโมเลกุลมีขนาดเล็กง่ายต่อการที่เซลล์ยีสต์จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโต ในขณะที่มีน้ำตาลหลายชนิดในไฮโดรไลเสทซังข้าวโพดทั้งน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (กลูโคส) และ 5 อะตอม (ไซโลสและอะราบินอส) ซึ่งยากต่อการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตในทันที

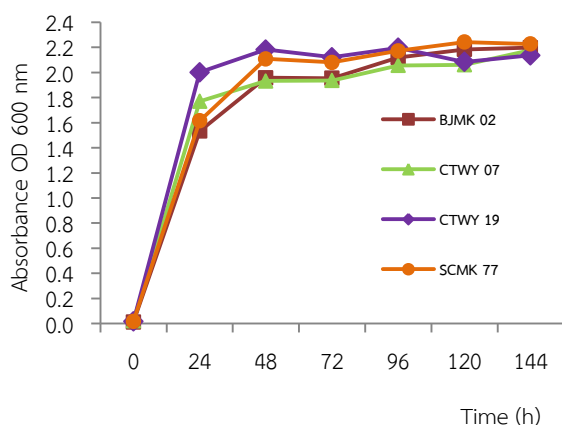


Fig. 2 Growth profile of oleaginous yeasts culture on YPD using glucose as a carbon source

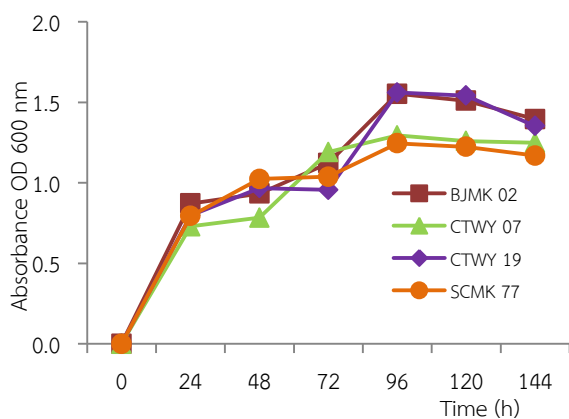


Fig. 3 Growth profile of oleaginous yeasts based on corn cob hydrolysate as a carbon source

3. การผลิตไขมันของยีสต์สะสมไขมันสูงในอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด

เพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์สะสมไขมันสูงในอาหารไฮโดรไลเสทซังข้าวโพด เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าเซลล์ยีสต์มีการสะสมไขมันภายในเซลล์และน้ำหนักรวมแสดงดัง Fig. 4 และ Fig. 5

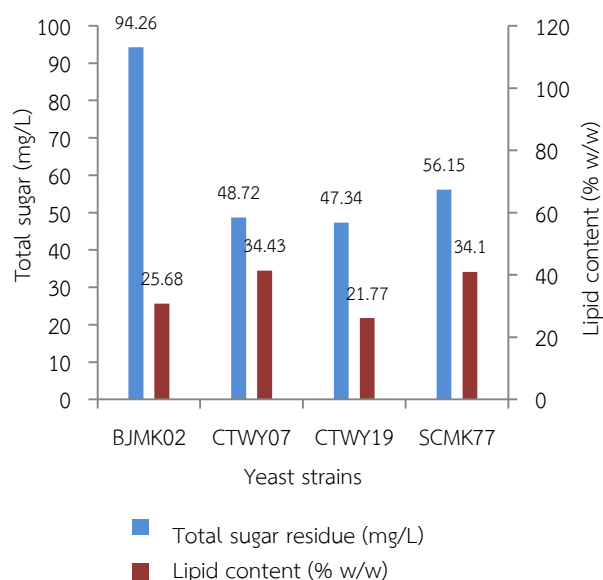


Fig. 4 Total sugar and lipid content of oleaginous yeasts during corn cob hydrolysate fermentation

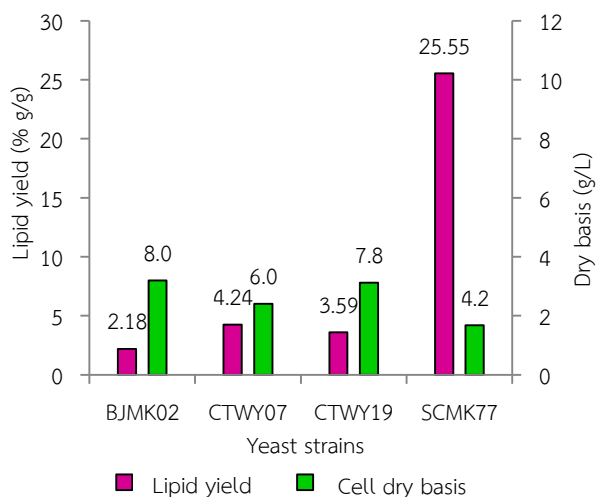


Fig. 5 Lipid yield and cell dry weight of oleaginous yeasts during corn cob hydrolysate fermentation

จากผลการทดลองในการผลิตไขมันของยีสต์สะสมไขมันสูงในอาหารไฮโดรไลเซตซึ่งข้าวโพด จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 182.32 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงในระหว่างกระบวนการหมัก โดยพบว่า เมื่อยีสต์เจริญเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็ว น้ำตาลทั้งหมดจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมัน โดยพบว่า ยีสต์ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลทั้งหมดได้ดี จะมีแนวโน้มในการผลิตไขมันสูง ยกเว้นยีสต์รหัส CTWY19 สามารถใช้น้ำตาลได้มากที่สุด แต่ปริมาณไขมันที่ผลิตได้เป็นอันดับสุดท้ายจากยีสต์สะสมไขมันสูงทั้ง 4 สายพันธุ์ เนื่องจากการนำน้ำตาลไปใช้อาจใช้เพื่อการเจริญเติบโตและวิถีในการผลิตไขมันจะมีการสะสมสารตัวกลาง ได้แก่ ซีเตรท มาเลต และอะซิติก-เอ ทำให้อาจมีการส่งผ่านสารตัวกลางเพื่อเปลี่ยนเป็นไขมันได้น้อย จากผลการทดลองพบว่า ยีสต์รหัส CTWY19 จะใช้น้ำตาลทั้งหมดได้ดีที่สุดเท่ากับ 134.98 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมา คือ รหัส CTWY07 และ SCMK77 เท่ากับ 133.60 และ 126.16 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 21.77, 34.43 และ 34.10 ตามลำดับ

4. การผลิตไบโอดีเซล

ไขมันที่สกัดได้จากยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ในข้อ 2 ทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ผลการทดลองแสดงใน Table 2

Table 2 Methyl ester component by oleaginous yeasts

Yeast strains	Lipid content (%)	Methyl ester				
		C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
BJMK02	25.68	2.29	25.31	6.89	49.27	11.82
CTWY07	34.43	1.30	21.56	4.82	57.53	7.28
CTWY19	21.77	1.47	21.27	9.10	54.68	11.13
SCMK77	34.10	2.01	29.60	7.23	48.91	8.19

C14:0 Myristic, C16:0 Palmitic, C18:0 Stearic, C18:1 Oleic, C18:2 Linoleic

จากผลการทดลองพบว่า กรดไขมันที่ยีสต์สะสมภายในเซลล์ประกอบด้วยกรดโอเลอิก (C18:1), ปาล์มมิติก (C16:0), ลิโนเลอิก (C18:2), ไมริสติก (C14:0) และสเตียริก (C18:0) โดยกรดโอเลอิกเป็นองค์ประกอบหลัก รองลงมา คือ ปาล์มมิติก ลิโนเลอิก ไมริสติก และสเตียริก ตามลำดับ โดยยีสต์สายพันธุ์ CTWY07 มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 34.43 และชนิดของกรดไขมันส่วนใหญ่ที่ยีสต์สะสมไขมันสูงทั้ง 4 สายพันธุ์ผลิตได้ คือ กรดโอเลอิกตั้งแต่ร้อยละ

48.91-57.53 และกรดปาล์มมิติกตั้งแต่ร้อยละ 21.27-29.60

วิจารณ์ผลการวิจัย

เหตุผลที่ยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการเจริญเติบโตได้ดี โดยเข้าสู่ระยะ log phase และ stationary phase ได้อย่างรวดเร็วในอาหารสังเคราะห์ YPD เนื่องจากในอาหารดังกล่าวมีแหล่งคาร์บอน คือน้ำตาลกลูโคสที่ยีสต์สามารถนำมาใช้ได้ทันที โดยน้ำตาลชนิดนี้ยีสต์จะใช้เพื่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนเซลล์ ในขณะที่ไฮโดรไลเซตซึ่งข้าวโพดมีน้ำตาลหลากหลายชนิด เช่น กลูโคส ไซโลส และราบินอส โดยน้ำตาลกลูโคสพบค่อนข้างน้อย (2.9 กรัมต่อลิตร) เมื่อเทียบกับไซโลส (37.9 กรัมต่อลิตร) และอะราบินอส (4.9 กรัมต่อลิตร) ดังนั้นในการใช้เพื่อการเจริญเติบโตจึงเป็นไปได้ค่อนข้างยาก และอาจต้องใช้เวลาในการปรับตัวเนื่องจากในระหว่างกระบวนการปรับสภาพจะมีผลผลิตหลากหลายชนิดที่ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ เช่น กรดอะซิติกจากหมู่อะซิติกในเอมิเซลลูโลส เพอร์ฟอรอลจากน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และ 5 - ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟอรอล (5-HMF) จากน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม (Chen *et al.*, 2013) การเข้าสู่ระยะ stationary phase พบว่า ในระยะอาหารจะเริ่มหมักยีสต์จะอยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหาร ในระยะนี้อัตราการเกิดจะสมดุลกับอัตราการตาย ยีสต์จะมีอัตราการแบ่งตัวน้อย และมีการสร้างสาร secondary metabolite รวมถึงภายในเซลล์จะมีการสะสมไขมันสูง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกการเจริญของยีสต์ในระยะนี้เพื่อศึกษาการผลิตไขมัน

การสะสมไขมันในยีสต์จะอยู่ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอไรด์เป็นส่วนใหญ่ โดยเก็บไว้ออร์แกนอลลี่จำเพาะจะเห็นได้ว่าอะซิติกเอตที่เป็นสับสเตรทในการสร้างไขมันจะถูกเปลี่ยนแปลงได้ 2 รูปแบบ คือ กรดไขมันหรือไตรเอซิลกลีเซอไรด์ ซึ่งผลผลิตทั้ง 2 รูปแบบนั้นต่างก็สามารถเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้ โดยปกติไขมันจะมีการผสมเมื่อเซลล์ได้รับปริมาณอาหารที่มากเกินไปและเซลล์เกิดภาวะขาดแคลนไนโตรเจน ทำให้อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (AMP) ถูกย่อยสลายเป็นจำนวนมากเพื่อผลิตแอมโมเนียมาใช้ ทำให้เอนไซม์ไอโซซิเตรทดีไฮโดรจีเนสทำงานได้น้อยลง มีการสะสมปริมาณของไอโซซิเตรทและกรดซิตริกสูงในไมโทคอนเดรีย จากนั้นกรดซิตริกจะเคลื่อนที่ไปยังไซโตซอลแล้วจึงถูกเปลี่ยนเป็นออกซาโลอะซิเตต และอะซิติกเอตด้วยการทำงานของเอนไซม์เอทีพีซิเตรทไลเอส (ATP citrate lyase) นั่นหมายความว่า หากมีปริมาณอะซิติกเอตสูงก็จะมี

การสังเคราะห์กรดไขมันและไตรเอซิลกลีเซอรอลสูงตามไปด้วย (Sriariyanan *et al.*, 2014)

จากการศึกษาพบว่าไขมันจากยีสต์สะสมไขมันสูงสามารถเตรียมเป็นไบโอดีเซลได้ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มแหล่งของน้ำมันที่สามารถนำมาเตรียมเป็นไบโอดีเซลเป็นพลังงานทางเลือกอีกแหล่งหนึ่งด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Huang *et al.* (2013) ได้รายงานองค์ประกอบของกรดไขมันและน้ำตาลที่ยีสต์ *Trichosporon coremii* formae เพราะเลี้ยงในไฮโดรไลเสทซึ่งข้าวโพด พบว่าในบางครั้งองค์ประกอบของไขมันที่พบอาจมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญกับอายุของเชื้อ ซึ่งผลจากยีสต์ *T. coremii* formae พบองค์ประกอบไขมันส่วนใหญ่เป็นไขมันไม่อิ่มตัว การผลิตไขมันจะน้อยในช่วงสามวันแรก แต่อัตราการผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ 4 ไขมันที่ส่วนใหญ่จาก *T. coremii* formae คือ กรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดไลโนเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยกรดปาล์มมิติกมีประมาณร้อยละ 46.7 และเป็นองค์ประกอบที่คล้ายกับน้ำมันพืช กรดไขมันที่ผลิตจากยีสต์มากกว่าร้อยละ 60 อยู่ในรูปของกรดโอเลอิก โดยจากงานวิจัยของ Sitepu *et al.* (2014a,b) รายงานรูปแบบของไบโอดีเซลพบว่า ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบคือ กรดไมริสติกร้อยละ 1, กรดปาล์มมิติกร้อยละ 21.5, กรดสเตียริกร้อยละ 4.6, กรดโอเลอิกร้อยละ 62.1, กรดลิโนเลอิกร้อยละ 7.6, กรดไลโนเลนิกร้อยละ 0.7 และกรดไขมันชนิดอื่นๆ อีกน้อยกว่าร้อยละ 0.5

ยีสต์สะสมไขมันสูงโดยส่วนใหญ่จะสะสมไขมันในรูปของไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) และไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) ยีสต์สะสมไขมันสูง ได้แก่ *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Yarrowia*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Lipomyces* และ *Trichosporon* โดยส่วนใหญ่จะมีการสังเคราะห์กรดไมริสติก, กรดปาล์มมิติก, กรดสเตียริก, กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก ซึ่งรูปแบบของกรดไขมันที่แตกต่างกันของยีสต์สะสมไขมันสูงอธิบายโดยงานทดลองของ Patel *et al.* (2015) โดยพบรูปแบบของกรดไขมันของยีสต์สะสมไขมันสูงขึ้นอยู่กับอาหารเตรียมและสภาวะในการเพาะเลี้ยง ตัวอย่างเช่น *Rhodospiridium toruloides*_Y4 เจริญในอาหารสังเคราะห์ที่มีกลูโคสโดยมีสารยับยั้ง เช่น กรดอะซีติก, 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล (HMF), ไซรินกัลดีไฮด์, เฟอร์ฟูรอล, วานิลลิน และพอลิ-ไฮดรอกซีบิวทเวต ซึ่งจะทำให้มีปริมาณของกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างกรดไมริสติก, กรดปาล์มมิติก, กรดสเตียริก, กรดโอเลอิก, กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก ส่วน

R. kratochvilovae HIMP1 เจริญได้ใน hemp seed aqueous extract (HSAE) โดยมีรูปแบบของเมทิลเอสเทอร์ส่วนใหญ่เป็นกรดปาล์มมิติกร้อยละ 5.90, กรดสเตียริกร้อยละ 25.10, กรดโอเลอิกร้อยละ 37.5 และมีกรดไขมันเพิ่มเติม คือ กรดอะราซิดิก (C20 : 0) ร้อยละ 22 และกรดเบเฮนิก (C22 : 0) ร้อยละ 6.5 รวมทั้งกรดไขมันที่พบไม่บ่อย คือ C27 : 0 อีกร้อยละ 3

สรุปผลการวิจัย

กรดไขมันที่ผลิตจากยีสต์สะสมไขมันสูง (oleaginous yeasts) ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการสะสมไขมันในเซลล์ภายใต้อาหารที่จำกัดแหล่งไนโตรเจน โดยใช้ไฮโดรไลเสทซึ่งข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน อายุเชื้อตั้งต้นอยู่ในระยะ stationary phase ทำให้ยีสต์มีการสะสมไขมันสูงภายในเซลล์ ชนิดของกรดไขมันส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกับน้ำมันจากพืช ทำให้ไขมันจากยีสต์มีศักยภาพเป็นไบโอดีเซลได้เช่นเดียวกับน้ำมันพืชโดยผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน

กรดไขมันหลักที่พบในยีสต์สะสมไขมันส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดปาล์มมิติก (C16:0) กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดสเตียริก (C18:0) รวมทั้งกรดไขมันชนิดอื่นๆ เช่น กรดไมริสติก (C14:0) กรดเฮปตาเลอานอิก (C17:0) กรดปาล์มมิโดเลอิก (C16:1) กรดลิโนเลอิก (C18:2) และกรดลิโนเลนิก (C18:3) โดยจะสะสมไขมันในรูปของหยดน้ำมันภายในเซลล์ และมีคุณสมบัติในการผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้ยีสต์ยังมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่เหมาะสมในการคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ในการผลิตไขมัน คือ เจริญได้เร็วซึ่งให้ผลผลิตสูง และใช้วัตถุดิบราคาถูกเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ เก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่าย และสามารถสกัดน้ำมันออกจากเซลล์ได้ง่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยนักศึกษาระดับอุดมศึกษา สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน ประจำปีงบประมาณ 2559 ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนทุนสำหรับการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

References

- Azocar, L., Ciudad, G., Heipieper, H. J., and Navia, R. 2010. Biotechnological processes for biodiesel production using alternative oils. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 88 : 621-636.
- Chen, X. F., Huang, C., Yang, X. Y., Xiong, L., Chen, X. D., and Ma, L. L. 2013. Evaluating the effect of medium composition and fermentation condition on the microbial oil production by *Trichosporon cutaneum* on corncob acid hydrolysate. *Bioresource Technology*. 143 : 18-24.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28 : 350-356.
- Guo, W. J., Wang, Y., Wan, J. Q., and Ma, Y. W. 2011. Effects of slushing process on the pore structure and crystallinity in old corrugated container cellulose fibre. *Carbohydrate Polymers*. 83(1) : 1-7.
- Helwani, Z., Othman, M. R., Aziz, N., Kim, J., and Fernando, W. J. N. 2009. Solid heterogeneous catalysts for transesterification of triglycerides with methanol : A review. *Applied Catalysis A: General*. 363 : 1-10.
- Huang, C., Chen, X. F., Xiong, L., Yang, X. Y., Chen, X. D., Ma, L. L., and Chen, Y. 2013. Microbial oil production from corncob acid hydrolysate by oleaginous yeast *Trichosporon coremiiforme*. *Biomass and Bioenergy*. 49 : 273-278.
- Leesing, R. 2013. Biodiesel Production from oleaginous yeast isolated from soil in the area under the genetic conservation project due to the royal initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn in Chulaporn dam, Chaiyaphum used sweet potato as a raw material. Khonkaen : KhonKaen University. (in Thai)
- Liu, B., and Zhao, Z. 2007. Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 82 : 775-780.
- Liu, Y., Wang, Y., Liu, H., and Zhang, J. 2015. Enhanced Lipid production with undetoxified corncob hydrolysate by *Rhodotorula glutinis* using a high cell density culture strategy. *Bioresource Technology*. 180 : 32-39.
- Meng, X., Yang, X., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., and Xian, M. 2009. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable Energy*. 34 : 1-5.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31 : 426-428.
- National Research Council of Thailand. 2011. Study on the management of waste residue in agriculture for fuel and smoke reduction. Executive Summary. (in Thai)
- Patel, A., Pruthi, V., Singh, R. P., and Pruthi, P. A. 2015. Synergistic effect of fermentable and non-fermentable carbon sources enhances TAG accumulation in oleaginous yeast *Rhodospiridium kratochvilovae* HIMP1. *Bioresource Technology*. 188 : 136-144.
- Samniang, A., Tipachan, C., and Kajorncheappun-ngam, S. 2014. Comparison of biodiesel production from crude Jatropha oil and Krating oil by supercritical methanol transesterification. *Renewable Energy*. 68 : 351-355. (in Thai)

- Sirisansaneeyakul, S. 2011. Biodiesel from microbial oils. Thai Society for Biotechnology. 1(2) : 19. (in Thai)
- Sriariyanan, M., Petsom, J., and Kongrueng, S. 2014. Lipid production for second generation biodiesel by oleaginous yeast. *Journal of Science and Technology MSU*. 33(3) : 300-306. (in Thai)
- Sitepu, I. R., Garay, L. A., Sestric, R., Levin, D., Block, D. E., German, J. B., and Boundy, M. K. L. 2014a. Oleaginous yeasts for biodiesel : Current and future trends in biology and production. *Biotechnology Advances*. 32 : 1336–1360.
- Sitepu, I. R., Selby, T., Lin, T., Zhu, S., and Boundy, M. K. L. 2014b. Carbon source utilization and inhibitor tolerance of 45 oleaginous yeast species. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 41 : 1061–1070.
- Thancharoen, K., Malasri, A., Leamsingron, W., and Booyalit, P. 2017. Selection of oleaginous yeasts with lipid accumulation by the measurement of Sudan black B for Benefits of biodiesel. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*. 6(2) : 53-57.
- Zhang, Y., Dube, M. A., McLean, D. D., and Kates, M. 2009. Biodiesel production from waste cooking oil : Economic assessment and sensitivity analysis. *Bioresource Technology*. 90(3) : 229-240.
- Zhu, L. Y., Zong, M. H., and Wu, H. 2008. Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans* and its use for biodiesel preparation. *Bioresource Technology*. 99 : 7881-7885.

Antibiotic Resistance of Bacterial Species Isolated from Diseased Goldfish, *Carassius auratus*

Chutharat Kanchan^{1*}, Puttachat Imjai², Nukoon Kanchan³, Banthita Sawasdee¹, Leklai Chantabut² and Chanawan Thowanna²

¹Agricultural Technology Program, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham, Thailand 44000

²Aquaculture Technology Program, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham, Thailand 44000

³Animal Production Technology Program, Faculty of Agricultural Technology, Kalasin University, Kalasin, Thailand 46000

Abstract

The antibiotic resistance test of bacterial species isolated from diseased goldfish, *Carassius auratus* was determined by disk diffusion method. Total 41 strains were identified into 5 species including *Aeromonas hydrophila*, *Erwinia* spp., *Pasteurella pneumotropica*, *Pantoea* spp. and *Proteus panneri*. Twelve antibiotics were investigated namely amoxycillin, ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, enrofloxacin, novobiocin, norfloxacin, oxytetracycline, oxolinic acid, doxycycline and tetracycline. Thirty strains of *A. hydrophila* were resistant to amoxycillin and ampicillin (100%), novobiocin (83.33%), erythromycin and oxolinic acid (66.67%), oxytetracycline and tetracycline (50%), chloramphenicol and doxycycline (33.33%), ciprofloxacin and norfloxacin (16.67%), and enrofloxacin (13.33%, respectively). *Erwinia* spp. and *P. panneri* were resistant to all antibiotics. Furthermore, *Pantoea* spp. and *P. pneumotropica* were highly resistant patterns against antibiotics. However, enrofloxacin was an effective drug against *A. hydrophila*, *Erwinia* spp. and *P. panneri*. From this result, it could be concluded that all bacterial strains isolated from diseased goldfish showed multi-resistance to antibiotics.

Keywords : Antibiotic resistance, Bacterial diseases, Goldfish

* Corresponding author : E-mail : cmunchan@yahoo.com

การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปลาทองป้วย

จุฑารัตน์ แก่นจันทร์^{1*}, พุทธชาติ อิ่มใจ², นกุล แก่นจันทร์³, บัณฑิตา สวัสดิ์¹, เหล็กไหล จันทะบุตร² และ
ชนวรรณ โทวรรณ²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

³สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ อ. เมือง จ. ขอนแก่น 46000

บทคัดย่อ

การศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะในแบคทีเรียที่แยกได้จากปลาทองป้วย (*Carassius auratus*) ด้วยวิธี disk diffusion method สามารถจำแนกแบคทีเรียได้ 5 ชนิด จำนวน 41 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Erwinia* spp., *Pasteurella pneumotropica*, *Pantoea* spp. และ *Proteus panneri* การทดสอบความดื้อยาต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ amoxycillin, ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, enrofloxacin, novobiocin, norfloxacin, oxytetracycline, oxolinic acid, doxycycline และ tetracycline เชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* จำนวน 30 สายพันธุ์ พบดื้อต่อยา amoxycillin และ ampicillin (100%), novobiocin (83.33%), erythromycin และ oxolinic acid (66.67%), oxytetracycline และ tetracycline (50%), chloramphenicol และ doxycycline (33.33%), ciprofloxacin และ norfloxacin (16.67%), และ enrofloxacin (13.33%) ตามลำดับ ส่วน *Erwinia* spp. และ *P. panneri* พบดื้อต่อยาทั้ง 12 ชนิด ถัดมาเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea* spp. และ *P. pneumotropica* พบดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่ค่อนข้างสูง สำหรับยาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*, *Erwinia* spp. และ *P. panneri* คือ ยาเอนโรฟลอกซาซิน จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียมีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย

คำสำคัญ : การดื้อยาปฏิชีวนะ โรคติดเชื้อแบคทีเรีย ปลาทอง

* ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ: E-mail: cmunchan@yahoo.com

Introduction

In the current issue of aquaculture or live stocks, many researches are focused on the anti-microbial resistance in animals, also its meats and environments. This circumstance can affect to humans who consume the food with drug residues accumulation (WHO, 2014). Goldfish is important ornamental fish species which popular culture, usually rearing in aquarium. Moreover, Thailand was ranged in one of ten countries to import ornamental fish species to global trade (Dey, 2016). The common disease occurred in ornamental fish were caused by bacterial agents which classified to gram-negative bacteria (Lewbart, 2001). Bacterial pathogens have been reported to cause a disease in fish including *Aeromonas* sp., *Edwardsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Shewanella* sp., *Citrobacter* sp., *Plesiomonas* sp., (Walczak *et al.*, 2017) *Vibrio* (Saad El-deen and Elkamel, 2015) *Mycobacterium* sp., *Streptococcus* sp., *Flavobacterium* sp. (Yanong, 2013). Infected fish caused by bacteria has been used the antibiotics for curing for a long time until the present time. The problem of misused of antibiotics can induced the resistance bacteria has been emphasized in aquaculture and other fields. Many organizations namely FAO, WHO have concerned for increasing of resistant bacteria might affected to the food safety and human health as well as animal health (Miranda *et al.*, 2013). The common antibiotic have been reported to treat the bacterial infection in fish such as erythromycin, amoxicillin, ampicillin, oxyteracycline, tetracycline, gentamicin (Yanong, 2013), ciprofloxacin (Abraham *et al.*, 2004), erythromycin and kanamycin (Jeeva *et al.*, 2013), norfloxacin and enrofloxacin (El-deen and Rawway, 2014). This research would like to determine the antibiotic resistance of bacterial species isolated from diseased goldfish.

Materials and methods

1. Fish sampling

A total of sixty goldfish (*Carassius auratus*) were randomly collected from local pet shop in Maha Sarakham District during June – August 2017. The fish were average 14.08 g in body weight (BW); 7.54 cm in total length (TL). Fish samples were over-dosed euthanasia for bacterial isolation from internal organs, for example, kidney, liver and spleen.

2. Bacterial identification

The bacterial isolates were cultivated and purified on tryptic soy agar (TSA) and incubated at 30°C for 24 hr. Bacterial identification were performed by gram staining and biochemical characteristics according to Buchanan and Gibbon (1974) and using the commercial kit API 20E (Özoğul *et al.*, 2010).

3. Antibiotic resistance test

Forty-one strains of bacterial isolates were performed by disc diffusion method against twelve antibiotics including amoxycillin (AML, 10 µg); ampicillin (AMP, 10 µg); chloramphenicol (C, 30 µg); ciprofloxacin (CIP, 5 µg); erythromycin (E, 15 µg); enrofloxacin (ENR, 5 µg); novobiocin (NV, 30 µg); norfloxacin (NOR, 10 µg); oxytetracycline (OT, 30 µg); oxolinic acid (OA, 2 µg); doxycycline (DO, 30 µg) and tetracycline (TE, 30 µg). The resistance test was done in Muller hinton agar (MHA) in triplicate and incubated at 30°C for 24 hr. Then, the diameter of inhibition zone was measured and compared with the standard value according to CLSI (2008).

Results and Discussion

Results

1. Gross appearance of fish sampling

Infected goldfish were externally revealed fin hemorrhage, fin rot, imbalance swimming, lethargy, scale protrusion. Some fish showed white spots in the whole body. Necropsy finding were obviously discovered ascites, pale liver and gall bladder enlargement (Fig. 1).

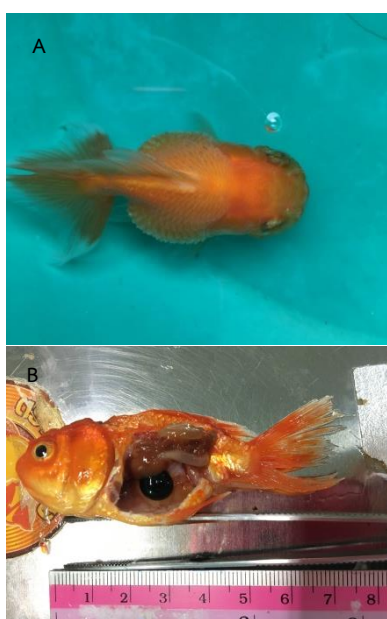


Fig. 1 Infected goldfish with bacterial diseases showed scale protrusion (A), pale liver and gall bladder enlargement (B)

2. Bacterial identification

Forty-one strains of bacterial isolates were successfully identified from the infected goldfish. Five bacterial species were classified namely *Aeromonas hydrophila*, *Erwinia* spp., *Pasteurella pneumotropica*, *Pantoea* spp and *Proteus panneri* as shown in Table 1. Moreover, *A. hydrophila* was a dominant species in the infected goldfish with

prevalence of 73.17%. Furthermore, *P. pneumotropica* (12.20%), *Pantoea* spp. (9.76%), *Erwinia* spp. (2.44%) and *P. panneri* (2.44%), respectively.

3. Antibiotic resistance test

Twelve antibiotics against forty-one bacterial strains were determined for antibiotics resistance (Table 2). Thirty strains of *A. hydrophila* were resistant to amoxycillin and ampicillin (100%), novobiocin (83.33%), erythromycin and oxolinic acid (66.67%), oxytetracycline and tetracycline (50%), chloramphenicol and doxycycline (33.33%), ciprofloxacin and norfloxacin (16.67%), and enrofloxacin (13.33%), respectively. Next, one strain of *Erwinia* spp. and one strain of *P. panneri* were resistant to all antibiotics. Furthermore, four strains of *Pantoea* spp. were all resistant (100%) to amoxycillin, ampicillin, oxytetracycline and novobiocin. Five strains of *P. pneumotropica* were resistant (100%) to chloramphenicol, oxytetracycline, amoxycillin, ampicillin and novobiocin. However, enrofloxacin was an effective drug against *A. hydrophila*, *Erwinia* spp. and *P. panneri* in the present study.

Discussion

In the present study, the dominant bacterial species was *Aeromonas hydrophila* (73.17%) from the infected goldfish which obviously showed hemorrhage, scale protrusion, ascites, pale liver and gall bladder enlargement. These findings were similar to Carevia *et al.* (2013) and Jongjareanjai *et al.* (2009) who described *A. hydrophila* was a major bacterial pathogen for rearing goldfish. However, *A. hydrophila* was a normal flora commonly found in all water resources (Ashiru *et al.*, 2011) but it can developed as an opportunistic bacterial pathogen which caused a disease in aquatic animals when their immune system were decreased (Harikrish-

man and Balasundaram, 2008). In case of *P. pneumotropica* and *P. panteri* were reported in guppy, Siamese fighting fish and fancy carp (Chansue and Assawawongkasem, 2008), whereas, *Pantoea* spp. was revealed in natural freshwater fish (Kluga *et al.*, 2017). Moreover, *Erwinia* spp. was reported from rearing water of salmon farm in Ireland (Moore *et al.*, 2014).

The antibiotics resistance test has mainly been studied in *A. hydrophila* from the previous reports. In the present study, *A. hydrophila* showed highly pattern of the antibiotics resistance

which corresponded with Jongjareanjai *et al.* (2009) and Dias *et al.* (2012). Total forty-one strains of bacteria were resistant 100% to amoxycillin and ampicillin. All bacterial species showed multi-resistance to antibiotics. However, the quinolone antibiotic such as ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin was an effective drug against *A. hydrophila*, *Erwinia* spp. and *P. panteri* in this present study which similarly reported by El-Deen and Rawway (2014) who described these three antibiotics against *A. hydrophila*.

Table 1. Bacterial strains isolated from infected goldfish

Bacterial strain	isolates	Source
<i>Aeromonas hydrophila</i>	30	liver (n = 15), kidney (n = 5), spleen (n =10)
<i>Erwinia</i> spp.	1	liver (n =1)
<i>Pantoea</i> spp.	4	liver (n =1), kidney (n =2), spleen (n =1)
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	5	liver (n =1) , kidney (n =3), spleen (n =1)
<i>Proteus panteri</i>	1	spleen (n =1)

Conclusion

Infected goldfish showed hemorrhage, fin rot, imbalance swimming, lethargy, scale protrusion, ascites, pale liver and gall bladder enlargement were observed in this study. Total 41 strains were identified into 5 species including *Aeromonas hydrophila*, *Erwinia* spp., *Pasteurella pneumotropica*, *Pantoea* spp. and *Proteus panteri*. The predominant species was *A. hydrophila*. All bacterial strains isolated from diseased goldfish showed multi-resistance to antibiotics. In addition, enrofloxacin was an effective drug for inhibiting the bacteria viz. *A. hydrophila*, *Erwinia* spp. and *P. panteri*. Moreover, enrofloxacin was permitted drug to use in fish diseases treatment in aquaculture.

Acknowledgements

The authors are grateful thanks to research grant of Rajabhat Maha Sarakham University for the research support.

Table 2. Prevalence of antibiotic resistance of bacterial strains isolated from infected goldfish

Antibiotic	Disc concentration (µg)	<i>A. hydrophila</i> (N = 30)	<i>Erwinia</i> spp. (N = 1)	<i>Pantoea</i> spp. (N = 4)	<i>P. pneumotropica</i> (N = 5)	<i>P. panteri</i> (N = 1)
AML	10	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100
AMP	10	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100
	30	R = 33.33	R = 100	R = 50	R = 100	R = 100
		I = 0 S = 20		I = 0 S = 50		
CIP	5	R = 16.67	R = 100	R = 50	R = 60	R = 100
		I = 0 S = 83.33		I = 0 S = 50	I = 0 S = 40	
E	15	R = 66.67	R = 100	R = 75	R = 80	R = 100
		I = 0 S = 33.33		I = 0 S = 25	I = 0 S = 20	
ENR	5	R = 13.33	R = 100	R = 50	R = 60	R = 100
		I = 13.33 S = 73.33		I = 0 S = 50	I = 0 S = 40	
NV	30	R = 83.33	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100
		I = 0 S = 16.67				
NOR	10	R = 16.67	R = 100	R = 50	R = 60	R = 100
		I = 16.67 S = 66.67		I = 0 S = 50	I = 0 S = 40	
OT	30	R = 50	R = 100	R = 100	R = 100	R = 100
		I = 16.67 S = 33.33				
OA	2	R = 66.67	R = 100	R = 50	R = 60	R = 100
		I = 20 S = 13.33		I = 0 S = 50	I = 40 S = 0	
DO	30	R = 33.33	R = 100	R = 75	R = 80	R = 100
		I = 16.67 S = 50		I = 0 S = 25	I = 0 S = 20	
TE	30	R = 50	R = 100	R = 75	R = 80	R = 100
		I = 16.67 S = 33.33		I = 0 S = 25	I = 0 S = 20	

Remark : R = resistant, I = Intermediate, S = sensitive

References

- Abraham, T. J., Sasmal, D., and Banerjee, T. 2004. Bacterial flora associated with diseased fish and their antibiogram. *Journal of the Indian Fisheries Association*. 31 : 177-180.
- Ashiru, A. W., Uaboi-Egbeni, P. O., Oguntowo, J. E., and Idika, C. N. 2011. Isolation and antibiotic profile of *Aeromonas* species from tilapia fish (*Tilapia nilotica*) and catfish (*Clarias betrachus*). *Pakistan Journal of Nutrition*. 10 : 982-986.
- Buchanan, R. E., and Gibbon, N. E. 1974. The shorten Bergey's manual of determination bacteriology. Baltimore : The Williams & Wilkins Co.
- Carnevia, D., Letamendia, M., and Perretta, A. 2013. Pathogenic Gram-negative bacteria isolated from ornamental fish in Uruguay: characterization and antibiotic resistance. *Fish Pathology*. 33(6) : 181-186.
- Chansue, N., and Assawawongkasem, N. 2008. The in vitro antibacterial activity and ornamental fish toxicity of the water extract of Indian almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.). *KKU Veterinary Journal*. 18(1): 36-45.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals: Approved Standard-Third Edition M31-A3. Wayne, PA, USA.
- Dey, V. K. 2016. The global trade in ornamental fish. [online]. Available from: www.infofish.org. [December 2, 2018].
- Dias, C., Mota, V., Martinez-Murcia, A., and Saavedra, M. J. 2012. Antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* spp. isolated from ornamental fish. *Aquaculture*. 3(3) : 1-4.
- El-Deen, A. G. S. and Rawway, M. 2014. Study on some aerobic bacterial species in ornamental fish. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 60(143) : 156-164.
- Harikrishnan, R. and Balasundaram, C. 2008. In vitro and In vivo studies of the use of some medicinal herbals against the pathogen *Aeromonas hydrophila* in Goldfish. *Journal of Aquatic Animal Health*. 20 : 165-176.
- Jeeva, S., Lekshmi, N. C. J. P., Brindha, J. R., and Vasudevan, A. 2013. Studies on antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* isolated from gold fish (*Carassius auratus*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 2(12) : 7-13.
- Jongjareanjai, M., Assawawongkasem, N., and Chansue, N. 2009. In vitro antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* isolated from disease ornamental fish. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 39 : 225-229.
- Kluga, A., Kancaniová, M., Kantor, A., Kavalenko, K., and Terentjava, M. 2017. Identification of microflora of freshwater fish caught in the Driksna river and pond in Latvia. 11th Baltic Conference on Food Science and Technology, Jelgava, Latvia, 27-28 April 2017, pp.164-168.
- Lewbart, G. A. 2008. Bacteria and ornamental fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. 10(1) : 48-56.

- Miranda, C. D., Tello, A., and Keen, P. L. 2013. Mechanisms of antimicrobial resistance in finfish aquaculture environments. *Frontiers in Microbiology*. 4 : 1-6.
- Moore, J. E., Huang, J., Yu, P., Ma, C., Moore, P. J., Millar, B. C., Goldsmith, C. E., and Xu, J. 2014. High diversity of bacterial pathogens and antibiotic resistance in salmonid fish farm pond water as determined by molecular identification employing 16S rDNA PCR, gene sequencing and total antibiotic susceptibility techniques. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 108 : 281-286.
- Özoğul, F., Küley, E., and Özoğul, Y. 2010. Usefulness of API test strips for identification of bacterial flora in blue crab (*Callinectes sapidus*) caught from Akyatan lagoon (ADANA-TURKEY). *Journal of Fisheries Sciences*. 4 (1) : 1-7.
- Saad El-deen, A. G., and Elkamel, A. A. 2015. Clinical and experimental study on Vibriosis in ornamental fish. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 61(146) : 147-153.
- Walczak, N., Puk, K., and Guz, L. 2017. Bacterial flora associated with diseased freshwater ornamental fish. *Journal of Veterinary Research*. 61 : 445-449.
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance. Zurich : World Health Organization.
- Yanong, R. P. E. 2013. Use of antibiotics in ornamental fish aquaculture. Program in Fisheries and Aquatic Science, UF/IFAS Extension. pp. 1-7.

ผลของการฉีดพ่นกรดซิลิซิกต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

สำราญ พิมราช^{1*}, สุนันท์ บุตรศาสตร์² และ พรพิชญ์ ธรรมปัทม์³

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาวิชาธุรกิจการอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

³สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการฉีดพ่นธาตุซิลิคอนในรูปของกรดซิลิซิกทางใบต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในบ่อซีเมนต์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-สิงหาคม 2561 วางแผนการทดลองแบบ 4x4 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ กำหนดให้ปัจจัย A คือ การฉีดพ่นกรดซิลิซิกในอัตรา 0, 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. และปัจจัย B คือ จำนวนครั้งและช่วงระยะที่ฉีดพ่นกรดซิลิซิก ได้แก่ 1) ฉีดพ่น จำนวน 1 ครั้ง ที่ระยะ 30 วันหลังออก 2) ฉีดพ่น จำนวน 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วันหลังออก 3) ฉีดพ่น จำนวน 3 ครั้ง ที่ระยะ 30, 60 และ 75 วันหลังออก และ 4) ฉีดพ่น จำนวน 4 ครั้ง ที่ระยะ 30, 60, 75 และ 90 วันหลังออก เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง จำนวนหน่อต่อกอ ค่า SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักฟางแห้ง น้ำหนักแห้งทั้งหมด และดัชนีเก็บเกี่ยว จากการศึกษาพบว่า การฉีดพ่นกรดซิลิซิกในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. มีผลทำให้ค่า SCMR ที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังออกสูงกว่าไม่ฉีดพ่น นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดของข้าวที่ฉีดพ่นกรดซิลิซิกในอัตราดังกล่าวมีค่าสูงกว่าการไม่ฉีดพ่นอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ อย่างไรก็ตามจำนวนครั้งและช่วงระยะที่ฉีดพ่นกรดซิลิซิกไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของข้าวแตกต่างกัน และจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างอัตราในการฉีดพ่นกับจำนวนครั้งและช่วงระยะเวลาของการฉีดพ่นกรดซิลิซิกทั้งในลักษณะการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต

คำสำคัญ : กรดซิลิซิก ซิลิคอน การฉีดพ่นทางใบ

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: sumranp@gmail.com

Effects of Silicic Acid Foliar Spray on Growth, Yield and Yield Components of Chai Nat 1 Rice

Sumran Pimratch^{1*}, Sunan Butsat² and Pornpisanu Thammapat³

¹Program in Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

²Program in Food Business and Nutrition, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

³Program in Food Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of silicic acid foliar spray on growth traits, grain yield and yield components of Chi Nat 1 rice grown in cement containers at the Faculty of Agricultural Technology, Rajaphat Maha Sarakham University during February to August 2018. A 4x4 factorial experiment with completely randomized arrangement of the treatments and three replications was carried out. Four silicic acid rates (0, 50, 100 and 150 ml/20 L) were assigned as factor A, and four spray timings (1 time at 30 days after emergence (DAE), 2 times at 30 and 60 DAE, 3 times at 30, 60 and 75 DAE and 4 times at 30, 60, 75 and 90 DAE) were assigned as factor B. Data were recorded for growth traits, grain yield and yield components such as plant height, number of tillers, SPAD chlorophyll meter reading (SCMR), number of panicles, number of filled grains, number of unfilled grains, 1,000-grain weight, grain weight, weight of dry straw, total dry weight and harvest index. Applications of silicic acid at the rates of 50, 100 and 150 ml/20 L had higher SCMR at 30, 60 and 90 DAE than did untreated control. Applications of silicic acid at all rates were significantly higher than untreated control for number of panicles, 1,000-grain weight (grain size) and grain weight. Spray timing did not have significant effect on growth traits, grain yield and yield components. The interactions between rate and timing were not significant for all parameters.

Keywords : Silicic acid, Silicon, Foliar spray

* Corresponding author : E-mail : sumranp@gmail.com

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศไทย ที่นิยมปลูกและบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วประเทศ ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของการปลูกข้าว คือ ผลผลิตข้าวต่ำ การเพิ่มผลผลิตของข้าวโดยใช้ปุ๋ยเคมีสามารถทำได้ แต่การใช้ปุ๋ยเคมีโดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณสูงจะทำให้ข้าวอ่อนแอ หักล้มง่าย ง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง ดังนั้นการใช้ธาตุอาหารที่ช่วยเสริมประโยชน์ (beneficial elements) เพื่อช่วยเพิ่มความต้านทานโรคและแมลงศัตรูข้าว เพิ่มความแข็งแรงให้แก่ต้นข้าว และสามารถใช้นิโตรเจนในอัตราสูงในการเพิ่มผลผลิตข้าวได้โดยต้นข้าวไม่ล้มเสียหาย จึงอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรผู้ผลิตข้าว ซิลิคอน (silicon; Si) เป็นอีกหนึ่งธาตุที่จัดอยู่ในกลุ่มธาตุเสริมประโยชน์ ทำให้ต้นข้าวมีระบบรากแข็งแรง สมบูรณ์ มีรากจำนวนมาก ต้นข้าวเจริญเติบโตดี แตกกอมาก ต้นไม่หักล้มง่าย ใบข้าวตั้งขึ้นสามารถรับแสงแดดได้อย่างทั่วถึง อากาศถ่ายเทดี ช่วยลดการเกิดโรคและลดการสะสมของแมลง ซิลิคอนช่วยให้ใบข้าวมีความเหนียวและแข็งแรง ต้นข้าวทนต่อการเข้าทำลายของแมลง การขาดซิลิคอนในข้าวทำให้การเจริญเติบโตลดลง พืชที่ขาดซิลิคอนต้องการน้ำมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ความต้านทานต่อโรคน้ำค้างลดลง ธาตุซิลิคอนจะเป็นประโยชน์ต่อพืชที่ต่อเมื่ออยู่ในรูปของสารละลาย คือ กรดโมโนซิลิสิก (monosilicic acid; H_4SiO_4 หรือ $Si(OH)_4$) และกรดพอลิซิลิสิก (polysilicic acid) (Osotsa, 2015)

จากการใช้ปุ๋ยซิลิคอนที่ผ่านมา พบว่าซิลิคอนช่วยให้ข้าวแข็งแรง ลำต้นตั้งตรง และป้องกันการหักล้ม ช่วยทำให้ใบตั้งตรงจึงรับแสงได้ดี เพิ่มการสังเคราะห์แสง ทำให้ผิวใบหยาบช่วยป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันการกัดกินของแมลง และช่วยทำให้ข้าวทนต่อความแห้งแล้ง อุณหภูมิต่ำ ความเค็ม และพิษจากโลหะหนัก (Epstein and Bloom, 2005) ซิลิคอนช่วยป้องกันการล่งลำของเชื้อโรคเข้าไปในรากและใบ ความแข็งแรงของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวที่มีซิลิคอนสูง ช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดล่งลำเข้าไปในเซลล์ และแมลงกัดกินใบน้อยลง (Marschner, 1995) ลดการทำลายของโรคพืชในข้าว เช่น โรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา (Cai *et al.*, 2008) ลดการทำลายของหนอนเจาะลำต้นในข้าว และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Snyder *et al.*, 2007) การขาดธาตุปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

ซิลิคอนของข้าวในช่วงระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบจะทำให้การเจริญเติบโตช้า ถ้าหากข้าวขาดธาตุซิลิคอนในช่วงออกดอกจะทำให้ข้อดอกไม่สมบูรณ์ (Ma *et al.*, 1989) ทำให้การเจริญของดอกช้า และมีเมล็ดลีบจำนวนมาก การให้ปุ๋ยซิลิคอนช่วยทำให้การพัฒนาของข้าวในระยะเจริญพันธุ์ดีขึ้น (Inanaga *et al.*, 2002) ทำให้โครงสร้างทรงพุ่มของต้นข้าวดีขึ้น (Ando *et al.*, 2002) ข้าวที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ได้รับซิลิคอนจะมีการเจริญเติบโตสูง (Gill *et al.*, 2007) จากรายงานการทดลองที่ผ่านมาส่วนมากเป็นการให้ปุ๋ยซิลิคอนทางรากพืช ยังขาดข้อมูลการศึกษาประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยซิลิคอนหรือกรดซิลิสิกโดยการฉีดพ่นทางใบ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการฉีดพ่นกรดซิลิสิกทางใบต่อการเจริญเติบโตผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์นิยมปลูกกันมากโดยเฉพาะการปลูกข้าวนาปรัง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาดังกล่าวนี้อาจจะเป็นประโยชน์สำหรับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แผนการทดลอง

ทำการวางแผนการทดลองแบบ 4x4 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัย A คือ การฉีดพ่นกรดซิลิสิก 4 อัตรา (0, 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล.) ปัจจัย B คือ จำนวนครั้งและระยะที่ฉีดพ่นกรดซิลิสิก (1, 2, 3 และ 4 ครั้ง) ประกอบด้วย 16 กรรมวิธี (treatments combination) ได้แก่

- 1) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 0 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 1 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก
- 2) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 1 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก
- 3) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 1 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก
- 4) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 1 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก
- 5) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 0 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 2 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก และระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังออก
- 6) ฉีดพ่นกรดซิลิสิก อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน 2 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังออก และระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังออก

วารสารเกษตรพระวรุณ 365

7) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 2 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก และ
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก

8) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 2 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก และ
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก

9) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 0 มล./น้ำ 20 ล. จำนวน
3 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก ระยะข้าว
เริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก และระยะข้าวออกดอก
75 วันหลังงอก

10) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 3 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก และระยะข้าว
ออกดอก 75 วันหลังงอก

11) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 3 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก และระยะข้าว
ออกดอก 75 วันหลังงอก

12) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 3 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก และระยะข้าว
ออกดอก 75 วันหลังงอก

13) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 0 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 4 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก ระยะข้าวออก
ดอก 75 วันหลังงอก และระยะพัฒนาการของเมล็ด 90 วัน
หลังงอก

14) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 4 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก ระยะข้าวออก
ดอก 75 วันหลังงอก และระยะพัฒนาการของเมล็ด 90 วัน
หลังงอก

15) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 4 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก ระยะข้าวออก
ดอก 75 วันหลังงอก และระยะพัฒนาการของเมล็ด 90 วัน
หลังงอก

16) นีตพ่นกรตซิลิซิก อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ล.
จำนวน 4 ครั้ง ในช่วงระยะข้าวแตกกอ 30 วันหลังงอก
ระยะข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน 60 วันหลังงอก ระยะข้าวออก

ดอก 75 วันหลังงอก และระยะพัฒนาการของเมล็ด 90 วัน
หลังงอก

2. การปลูกและการดูแลรักษา

ปลูกข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในบล็อกซีเมนต์ขนาด
เส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ซม. ที่บรรจุดินปลูกที่ผ่านการตาก
แดดให้แห้งและบดให้ละเอียด ใช้ระยะปลูก 20 x 20 ซม.
ปลูกหลุมละ 3-5 เมล็ด หลังจากปลูกรดน้ำให้ชุ่มที่ระดับ
ความจุสนาม (field capacity) หลังจากข้าวงอกอายุ 7 วัน
ถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-8 อัตรา
30 กก./ไร่ เมื่อข้าวอายุได้ 15 วันหลังงอก และใส่ปุ๋ยสูตร
46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่ เมื่อข้าวอายุได้ 60 วันหลังงอก
กำจัดวัชพืชโดยใช้มือถอนอย่างสม่ำเสมอ ในแต่ละกรรมวิธีมี
การให้น้ำอย่างเพียงพอ และเมื่อข้าวเริ่มแตกกอรักษาระดับ
ของน้ำให้สูงประมาณ 10 ซม. จนถึงใกล้ระยะเก็บเกี่ยวค่อย
งดการให้น้ำ

การนิตพ่นกรตกรตซิลิซิก นิตพ่นครั้งแรกเมื่อข้าว
อายุได้ 30 หลังจากเมล็ดงอก (นิตพ่น 1 ครั้ง) และนิตพ่นซ้ำ
อีกครั้งตามอัตราความเข้มข้น และช่วงระยะเวลาในการนิต
พ่นเมื่อข้าวอายุได้ 60, 75 และ 90 วันหลังงอก (นิตพ่น 2, 3
และ 4 ครั้ง ตามลำดับ) ตามทริตเมนต์ที่กำหนด ในการนิต
พ่นแต่ละครั้งจะใช้โครงไม้สี่เหลี่ยมที่มีพลาสติกกันสำหรับนิต
พ่นแต่ละทริตเมนต์ เพื่อควบคุมให้ละอองของกรตซิลิซิกที่
นิตพ่นอยู่ในเฉพาะพื้นที่ของทริตเมนต์ที่กำหนด และป้องกัน
ไม่ละอองของกรตซิลิซิกไปปะปนกับทริตเมนต์อื่นๆ

3. การเก็บข้อมูล

1) วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพดิน ได้แก่ อนุภาค
ดินทราย (sand) อนุภาคดินร่วน (silt) และอนุภาคดิน
เหนียว (clay) โดยวิธี Pipette method (Drilon, 1980)
และสมบัติทางเคมีดิน ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด
(total N) โดยวิธี Kjeldahl method (Black, 1965)
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) โดยวิธี
Bray II (Drilon, 1980) ปริมาณโพแทสเซียมและแคลเซียม
ที่สกัดได้ (extractable K, Ca) โดยวิธี NH_4OAc and
Atomic absorption spectrophotometer (Cottenie,
1980) สภาพความเป็นกรด-ด่าง หรือ pH (1:2.5 H_2O) โดย
วิธี Std. Glass electrode (Black, 1965) ความสามารถในการ
แลกเปลี่ยนประจุบวก (cat ion exchange; CEC) โดย
วิธี Peech method และอินทรีย์วัตถุ (organic matter;
OM) โดยวิธี Walkley and Black (Black, 1965)

2) ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต ประกอบด้วย

- การแตกกอ โดยสุ่มนับจำนวนหน่อต่อกอระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังจากเมล็ดงอก จำนวน 10 ต้นต่อหน่วยทดลอง แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนหน่อต่อกอในแต่ละระยะ

- ความสูง โดยสุ่มวัดความสูงที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังจากเมล็ดงอก ซึ่งในการวัดความสูงจะวัดความสูงจากระดับผิวดินจนถึงปลายสุดของใบ จำนวน 10 ต้นต่อหน่วยทดลอง แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยความสูงในแต่ละระยะ

- SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) ซึ่งเป็นการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทางอ้อม โดยวัดด้วยเครื่อง SPAD chlorophyll meter ช่วงเวลา 09.00-11.00 น. เมื่อข้าวอายุได้ 30, 60 และ 90 วันหลังจากเมล็ดงอก จำนวน 10 ต้นต่อหน่วยทดลอง แล้วคำนวณหาค่า SCMR เฉลี่ยในแต่ละระยะ

3) ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ประกอบด้วย

- น้ำหนักเมล็ดต่อนัน โดยชั่งน้ำหนักเมล็ดแห้งทั้งหมดด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง แล้วนำมาคำนวณหาน้ำหนักเมล็ดต่อนัน

- น้ำหนัก 1,000 เมล็ด โดยการสุ่มนับเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง

- จำนวนรวงต่อกอ โดยนับจำนวนรวงข้าวในแต่ละกอทั้งหมดแล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

- จำนวนเมล็ดดีและเมล็ดลีบ โดยสุ่มนับจำนวนเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์และเมล็ดลีบ จำนวน 10 รวงต่อหน่วยทดลองแล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

- น้ำหนักฟางแห้งและน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมด เก็บตัวอย่างพืชทั้งต้น ยกเว้นราก เพื่อหาน้ำหนักแห้งของข้าว แล้วนำมาแยกส่วนของฟางข้าว (ลำต้นและใบ) และเมล็ด นำมาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักแห้งคงที่ ชั่งน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง คำนวณหาน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินจากผลรวมของน้ำหนักต้นและใบแห้ง และน้ำหนักเมล็ด

4) ดัชนีเก็บเกี่ยว โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{ดัชนีเก็บเกี่ยว} = \frac{\text{ผลผลิต (น้ำหนักเมล็ด)}}{\text{น้ำหนักแห้ง (เมล็ด + ฟางข้าว)}}$$

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ของข้อมูลแต่ละลักษณะตามแผนการทดลองที่กำหนด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี โดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Gomez and Gomez, 1984) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป MSTAT-C (Bricker, 1989)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของดินก่อนทำการทดลอง พบว่า ดินที่ใช้ในการทดลองมีอนุภาคดินทราย (sand) อนุภาคดินร่วน (silt) และอนุภาคดินเหนียว (clay) เท่ากับ 67.90, 20.50 และ 11.60 % ตามลำดับ เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) มี pH เท่ากับ 6.2 ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวกเท่ากับ 23.21 cmol/kg ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.02 dS/m ดินมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ คือ มีอินทรีย์วัตถุ เท่ากับ 0.14% ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 0.007% ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียม และแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เท่ากับ 15.12, 42.34 และ 130.71 มก./กก. ตามลำดับ

การฉีดพ่นในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. มีแนวโน้มทำให้จำนวนหน่อต่อกอที่ระยะ 90 วันหลังงอกมากกว่าไม่ฉีดพ่น (Table 1) รวมทั้งทำให้ค่า SCMR ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังงอกสูงกว่าการไม่ฉีดพ่นกรดซิลิก เมื่อข้าวอายุได้ 30 วันหลังงอกพบว่าการฉีดพ่นสารทางใบ 3 ครั้งในระยะ 30, 60 และ 75 วันหลังงอก และการฉีดพ่น 4 ครั้งในระยะ 30, 60, 75 และ 90 วันหลังงอก มีค่า SCMR สูงกว่าการฉีดพ่นทางใบ 2 ครั้ง (30 และ 60 วันหลังงอก) ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 1) และไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างอัตราในการฉีดพ่นกับจำนวนครั้งและช่วงระยะเวลาของการฉีดพ่นกรดซิลิกทั้งจำนวนหน่อต่อกอ และค่า SCMR ทุกระยะเวลาที่ประเมิน

นอกจากนี้ยังพบว่า การฉีดพ่นในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. มีผลทำให้ผลผลิตของข้าวมากกว่าเมื่อเทียบกับการไม่ฉีดพ่นกรดซิลิก (Table 2) คือ 28.84, 26.48 และ 27.36 ก./ต้น ตามลำดับ ขณะที่ผลผลิตข้าวในหริตเมนต์ที่ไม่ฉีดพ่นกรดซิลิกมีค่า เท่ากับ 23.00 ก./ต้น

การฉีดกรดซิลิกิกทั้ง 3 อัตรา ยังมีผลทำให้จำนวนรวงต่อกอ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดมากกว่าไม่ฉีดพ่นกรดซิลิกิก แต่ไม่มีผลทำให้จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักฟางแห้ง น้ำหนักแห้งทั้งหมด และดัชนีเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน การฉีดพ่นกรดซิลิกิกที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มล./น้ำ 20 ล. ทำให้จำนวนเมล็ดลืบทอรวงน้อยกว่าการไม่ฉีดพ่น (Table 2) ส่วนการฉีดพ่นกรดซิลิกิกจำนวน 1, 2, 3 และ 4 ครั้งไม่มีผลทำให้จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนัก 1,000

เมล็ด น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักฟางแห้ง น้ำหนักแห้งทั้งหมด และดัชนีเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน แต่พบว่าการฉีดพ่นกรดซิลิกิกจำนวน 3 ครั้งมีแนวโน้มให้จำนวนเมล็ดลืบทอรวงต่ำกว่าการฉีดพ่นจำนวน 1 ครั้ง (Table 2) และไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างอัตราในการฉีดพ่นกับจำนวนครั้งแต่ละช่วงระยะเวลาของการฉีดพ่นกรดซิลิกิกทั้งในลักษณะของผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต (Table 2)

Table 1 Effects of silicic acid rates and foliar spray timings on number of tillers per plant and SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) of rice cv. Chai Nat 1 grown in pot experiment during February-August in the 2018.

Treatments	Number of tillers/plant			SPAD chlorophyll meter reading (SCMR)		
	30 DAE	60 DAE	90 DAE	30 DAE	60 DAE	90 DAE
Silicic acid rates (A)						
0 ml (a1)	6.72	9.47	12.25b ^{1/}	27.92b	28.58b	28.49b
50 ml (a2)	6.75	9.90	15.91a	30.38a	30.90a	30.61a
100 ml (a3)	6.95	9.95	16.85a	29.61a	30.49a	30.70a
150 ml (a4)	6.28	9.53	15.00ab	30.04a	30.49a	30.32a
F-test (A)	ns	ns	*	**	**	**
Foliar spray timings (B)						
30 DAE (b1)	6.81	9.81	13.60	29.61ab	29.98	29.84
30, 60 DAE (b2)	6.30	9.38	13.60	28.40b	29.95	29.93
30, 60, 75 DAE (b3)	6.25	9.41	15.76	29.77a	30.12	30.00
30, 60, 75, 90 DAE (b4)	7.33	10.25	15.40	30.16a	30.40	30.35
F-test (B)	ns	ns	ns	**	ns	ns
F-test (A x B)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	21.68	15.96	25.62	4.96	2.87	1.74

^{1/} Means in the same column with the same letter(s) are not significantly different at $P < 0.05$ by DMRT

DAE = days after emergence

ns = non significant

*, ** = significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

Table 2 Effects of silicic acid rates and foliar spray timings on number of panicle, filled seed, unfilled seeds, 1,000-seed weight, seed weight, straw dry weight, total dry weight and harvest index of rice cv. Chai Nat 1 grown in pot experiment during February-August in the 2018.

Treatments	Number of panicle/plant	Filled seed (seeds/panicle)	Unfilled seeds (seeds/panicle)	1,000-seed weight (g)	Seed weight (g/plant)	Straw dry weight (g/plant)	Total dry weight (g/plant)	Harvest index
Silicic acid rates (A)								
0 ml (a1)	10.65b ^{1/}	111.06	14.77a	25.23b	23.00b	39.08	62.08	0.37
50 ml (a2)	12.64a	114.56	10.20b	27.94a	28.84a	39.43	68.28	0.42
100 ml (a3)	12.48a	120.43	10.20b	28.02a	26.48a	38.86	65.35	0.40
150 ml (a4)	11.93a	120.43	12.92ab	27.92a	27.36a	39.08	66.44	0.41
F-test (A)	**	ns	*	**	**	ns	ns	ns
Foliar spray timings (B)								
30 DAE (b1)	11.77	122.34	14.60a ^{1/}	27.05	26.18	36.53	62.71	0.41
30, 60 DAE (b2)	11.89	109.86	11.99ab	27.40	25.79	38.06	63.85	0.40
30, 60, 75 DAE (b3)	12.30	118.61	9.97b	27.46	25.79	40.14	66.82	0.40
30, 60, 75, 90 DAE (b4)	11.74	116.09	11.99ab	27.20	27.04	41.73	68.77	0.39
F-test (B)	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
F-test (A x B)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	12.03	17.03	28.98	1.15	15.40	16.97	12.64	12.94

^{1/}Means in the same column with the same letter(s) are not significantly different at $P<0.05$ by DMRT

DAE = days after emergence

ns = non significant

*, ** = significantly different at $P\leq 0.05$ and $P\leq 0.01$, respectively

จากการศึกษาในครั้งนี้เห็นได้ว่าการฉีดพ่นกรดซิลิกทางใบสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวได้ โดยเฉพาะในด้านการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง ซึ่งเห็นได้จากการฉีดพ่นกรดซิลิกมีผลทำให้ค่า SCMR เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่ฉีดพ่น ในขณะที่การเจริญเติบโตในลักษณะการแตกกอเห็นผลที่ชัดเจนที่ระยะ 90 วันหลังงอก ประกอบกันกับองค์ประกอบผลผลิตในลักษณะจำนวนรวงต่อกอและน้ำหนัก 1,000 เมล็ดเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากการฉีดพ่นกรดซิลิกในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. ค่า SCMR เป็นการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทางอ้อม และมีความสัมพันธ์กัน

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุในใบพืชที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ใบพืชที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงจะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงสูง ส่วนใบพืชที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบต่ำก็จะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงต่ำ (Ndjondjop *et al.*, 2012) ซึ่งการฉีดพ่นกรดซิลิกมีผลทำให้ค่า SCMR ในใบเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่ฉีดพ่น พืชสามารถสังเคราะห์อาหารเพื่อใช้ในการพัฒนาการเจริญเติบโตและผลผลิตได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกรดซิลิกเป็นแร่ธาตุอาหารเสริมที่มีซิลิกอน (Si) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มธาตุเสริมประโยชน์สำหรับพืช กรดซิลิกสามารถละลายน้ำได้ ทำให้

วารสารเกษตรพระวรุณ 369

พืชสามารถดูดซึมน้ำและกรดซิลิกผ่านทางรากเข้าสู่ลำต้น และทางใบได้อย่างรวดเร็ว (Peleg *et al.*, 2010) ซิลิกอนช่วยให้ข้าวแข็งแรง ลำต้นตั้งตรง ป้องกันการหักล้ม ช่วยทำให้ใบตั้งตรงจึงรับแสงได้ดี และเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง (Epstein and Bloom, 2005)

สำหรับช่วงระยะและจำนวนครั้งที่ฉีดพ่นกรดซิลิกในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวอย่างชัดเจน ซึ่งให้เห็นว่าการฉีดพ่นกรดซิลิกไม่จำเป็นต้องฉีดหลายครั้ง การฉีดพ่นธาตุซิลิกอนในปริมาณที่ข้าวต้องการอย่างเพียงพอเป็นสิ่งจำเป็นที่ควรพิจารณาเป็นหลักที่จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว

สรุปผลการวิจัย

การฉีดพ่นกรดซิลิกในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. มีแนวโน้มทำให้จำนวนหน่อตอกออที่ระยะ 90 วันหลังงอกค่อนข้างสูงกว่าการไม่ฉีดพ่นกรดซิลิก และการฉีดพ่นกรดซิลิกในอัตรา 50, 100 และ 150 มล./น้ำ 20 ล. มีผลทำให้ค่า SCMR ที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังงอกสูงกว่าไม่ฉีดพ่น นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนรวงตอกอ น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดที่ฉีดพ่นกรดซิลิกในอัตรา

ดังกล่าวมีค่าสูงกว่าการไม่ฉีดพ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ช่วงระยะและจำนวนครั้งในการฉีดพ่นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวอย่างชัดเจน และไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างอัตราในการฉีดพ่นกับจำนวนครั้งและช่วงระยะเวลาของการฉีดพ่นกรดซิลิกทั้งในลักษณะการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตข้าว ซึ่งให้เห็นว่าการฉีดพ่นกรดซิลิกไม่จำเป็นต้องฉีดหลายครั้ง ดังนั้นการฉีดพ่นธาตุซิลิกอนในปริมาณที่ข้าวต้องการอย่างเพียงพอเป็นสิ่งจำเป็นที่ควรพิจารณาเป็นหลักที่จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ บริษัท อะโกรไบโอเมท จำกัด เป็นอย่างยิ่งที่สนับสนุนงบประมาณการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในงานทดลอง และขอบคุณนักศึกษาที่ช่วยเหลือในการเตรียมงานทดลองและเก็บข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้

References

- Ando, H., Kakuda, K., Fujii, H., Suzuki, K., and Ajika, T. 2002. Growth and canopy structure of rice plant grown under field conditions as affected by Si application. *Soil Science and Plant Nutrition*. 48 : 341-345.
- Black, C. A. 1965. Method of soil analysis Part 2. Agronomy 9. Wisconsin : American Society of Agronomy.
- Bricker, A. A. 1989. MSTAT-C user's guide. Michigan : Michigan State University.
- Cai, K., Gao, D., Luo, S., Zeng, R., Yang, J., and Zhu, X. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon-induced resistance in rice against blast disease. *Physiologia Plantarum*. 134 : 324-333.
- Cottenie, A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendation. Rome : FAO.
- Drilon, J. R. 1980. Standard methods of Analysis for Soil, Plant, Water and Fertilizer. Los Baños, Laguna, Philippines.
- Epstein, E., and Bloom, A. J. 2005. Mineral nutrition of plant: Principle and perspectives. Massachusetts : Sinauer Association, Inc. Publishers.
- Gill, M.A., R.M. Irfan and M.A. Maqsood. 2007. Silicon requirement of coarse and fine varieties of rice. *J. Plant Nutr.* 30: 163-170.
- Gomez, K. A., and Gomez, A. A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. New York : John Wiley & Sons.
- Inanaga, S., Higuchi, Y., and Chisaki, N. 2002. Effect of silicon application on reproductive growth of rice plant. *Soil Science and Plant Nutrition*. 48 : 341-345.
- Ma, J. F., Nishimura, K., and Takahashi, E. 1989. Effect of silicon on growth of rice plant at different growth stage. *Soil Science and Plant Nutrition*. 35 : 347-365.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd edition. London : Academic Press.
- Ndjiondjop, M. N., Futakulchi, K., Cisse, F., Baimey, H., and Bocco, R. 2012. Field evaluation of rice genotypes from the two cultivated species (*Oryza sativa* L. and *Oryza glaberrima* Steud.) and their interspecific for tolerance to drought. *Crop Science*. 52 : 524-538.
- Osotsapa, Y. 2015. Plant nutrients. Bangkok : Kasetsart University Publication.
- Peleg, Z., Saranga, Y., Fahima, T., Aharoni, A., and Elbaum, R. 2010. Genetic control over silica deposition in wheat awns. *Physiologia. Plantarum*. 140 : 10-20.
- Snyder, G. H., Matichenkov, V. V. and Datnoff, L. E. 2007. Handbook of plant nutrition. New York. : CRC Press.

การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ศรุตวิงศ์ บุญคง*, ชัยพฤกษ์ หงษ์ลัดดาพร, สว่าง กุลวงษ์, สุธาสินี ครุฑธกะ และ พิทักษ์ น้อยเมธ

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย อ. เมือง จ. เลย 42000

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับที่เหมาะสมในการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ใช้ไก่ไข่ทดลองพันธุ์อีซ่าบราวน์ อายุ 40 สัปดาห์ จำนวน 225 ตัว สุ่มไก่ไข่ออกเป็น 5 กลุ่ม ตามปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา คือ กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรอาหาร 5 ระดับ คือร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 กลุ่มละ 5 ตัว (9 ตัวต่อตัว) ให้ไก่ไข่ได้รับอาหาร และน้ำดื่มอย่างเต็มที่เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ผลการศึกษาพบว่าไก่ไข่ที่ได้รับอาหารทดลองทุกกลุ่มมีปริมาณอาหารที่กิน ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มวลไข่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมวลไข่มีค่าลดลงเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 ($P<0.05$) การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ พบว่า น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ ค่าฮอฟยูนิต ความหนาของเปลือกไข่ และความแข็งแรงของเปลือกไข่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ในสูตรอาหารมีผลทำให้สีไข่แดงลดลงเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 15 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ พบว่าต้นทุนค่าอาหารต่อไข่ 1 ฟอง มีต้นทุนเฉลี่ย 1.81, 1.76, 1.76, 1.76 และ 1.68 บาท ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการศึกษาสรุปได้ว่ากากมันสำปะหลังหมักยีสต์ สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ถึงร้อยละ 10 เมื่อพิจารณาจากมวลไข่ สีไข่แดง และต้นทุนค่าอาหารต่อไข่ 1 ฟอง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังให้มากขึ้น และยังสามารถลดต้นทุนค่าอาหารไก่ไข่ได้อีกทางหนึ่ง

คำสำคัญ : สัตว์ปีก การหมัก สีไข่แดง มวลไข่

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: Sarutty_21@hotmail.com

Utilization of Cassava Pulp Fermented Yeast in Laying Hens Diets on Production Performance, Egg Quality and Economic Returns

Saruttiwong Boonkong^{*}, Chaiyapruerk Hongladdaporn, Sawang Kullawong,
Sutasinee Kruttaga and Pitak Noimay

*Program in Animal Science, Department of Applied Science, Faculty of Science and Technology,
Loei Rajabhat University, Loei 42000, Thailand*

Abstract

The aim of this research was to investigate the appropriate percentage of using cassava pulp fermented yeast in laying hens diets on production performance, egg quality and economic returns. The experimental design was Completely Randomized Design (CRD). Two hundred and twenty five 40-week-old laying hens (Isa Brown) were randomly allocated into 5 groups including; 0, 5, 10, 15 and 20% of cassava pulp fermented yeast in diet with 5 replicates of 9 hens per each. Laying hens received feed and water until 6 weeks.

The results showed that the diets of this research did not significantly affect the amount of feed intake, feed conversion ratio, egg production and egg weight ($P>0.05$). However egg mass was significantly different when used at level of 20% ($P<0.05$). In term of egg quality, the use of cassava pulp fermented yeast in the laying hen diet did not significantly affect the amount of albumen weight, yolk weight, shell weight, haugh unit, shell thickness and egg shell strength ($P>0.05$). However, the use of cassava pulp fermented yeast was significantly affected on yolk color ($P<0.01$) which the color was decreased when used at level of 15%. In term of economic returns, the results show that the average cost of feed per egg were 1.81, 1.76, 1.76, 1.76 and 1.68 baht, respectively. In conclusion, 10% of cassava pulp fermented yeast in diet can be used as feed ingredient for laying hens followed by egg mass, yolk color and feed cost/egg. Therefore, Using cassava pulp yeast fermented for laying hens is another option to increase the utilization of cassava residue. That also reduces the cost of laying hens diets.

Keywords: Poultry, Fermentation, Yolk color, Egg mass

* Corresponding author : E-mail : Sarutty_21@hotmail.com

บทนำ

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารชนิดหนึ่งที่มีความเหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์มาก โดยมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารที่ให้พลังงานเป็นหลัก แต่มันสำปะหลังจะมีปริมาณโปรตีนต่ำเพียงประมาณร้อยละ 2 และมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารต่ำกว่าวัตถุดิบอาหารจากเมล็ดธัญพืชต่างๆ ดังนั้นในการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ จะต้องมีการใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนสูง เช่น กากถั่วเหลือง ปลาป่น ฯลฯ ในสูตรอาหารมากขึ้น เพื่อทดแทนกับปริมาณโปรตีนที่มีน้อยในมันสำปะหลัง (Kanto, 2016) มันสำปะหลังสามารถใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ได้ทั้งสัตว์กระเพาะเดียวและสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยห้วมันสำปะหลังสดประกอบด้วยน้ำร้อยละ 65 และสิ่งแห้งร้อยละ 35 (Khajareern, 2004) สำหรับการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ ประเทศไทยสามารถผลิตมันสำปะหลังเป็น มันเส้นและมันอัดเม็ด นอกจากนี้ ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง คือ กากมันสำปะหลัง (cassava pulp) ซึ่งได้จากการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) ด้วยวิธีการแบบไม่เปียก (wet milling) กากมันสำปะหลัง คือ ส่วนของเยื่อและส่วนของแป้งมันสำปะหลังที่ไม่สามารถถูกสกัดออกได้หมด (Kanto, 2016) โดยจะได้กากมันสำปะหลังประมาณร้อยละ 11.10 (Khajareern and Khajareern, 2000) จากการศึกษาของ Khempaka *et al.* (2009) พบว่าโภชนะในกากมันสำปะหลังประกอบด้วย แป้งร้อยละ 53.55 เถ้าร้อยละ 2.83 โปรตีนร้อยละ 1.98 เยื่อใยร้อยละ 13.59 และไขมันร้อยละ 0.13

การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีกนั้นได้มีการใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากมีราคาถูกและลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้ จากการศึกษาของ Ruangpanit *et al.* (2007) พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารไก่ไข่ถึงร้อยละ 15 โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังที่สูงขึ้นเป็นร้อยละ 20 และ 30 ในสูตรอาหารไก่ไข่ พบว่าผลผลิตไข่ลดลงเนื่องจากระดับนี้อาหารมีความหนาแน่นต่ำสามารถไหลผ่านในทางเดินอาหารได้เร็วจึงส่งผลกระทบต่อการกินได้ และผลผลิตไข่ ซึ่งปัจจุบันการเลี้ยงไก่ไข่เป็นอาชีพที่มีความสำคัญในการขับเคลื่อนทางเศรษฐกิจ มีการเลี้ยงทั้งรายย่อยจนถึงกลุ่มผู้เลี้ยงขนาดใหญ่ แต่จากสถานการณ์ต้นทุนค่าอาหารที่

เพิ่มสูงขึ้นในปัจจุบัน ส่งผลให้มีภาระต้นทุนที่เพิ่มขึ้น การศึกษาเพื่อหาวัตถุดิบที่เป็นผลพลอยทิ้งจากภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ได้ (Boonkong *et al.*, 2018) จากสถานการณ์ดังกล่าว จึงมีการใช้กากมันหมักยีสต์ในการเลี้ยงสัตว์กันเป็นอย่างมาก ทั้งในสัตว์กระเพาะเดียวและสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งการทำกากมันสำปะหลังหมักยีสต์มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารของกากมันสำปะหลัง โดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น ยีสต์ เห็ด รา และแบคทีเรีย โดยจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและจะเป็นการเพิ่มโปรตีนของวัตถุดิบที่นำมาหมักด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ยังพบปัญหาเกี่ยวกับการใช้ในสัตว์กระเพาะเดียวเกี่ยวกับกระบวนการหมัก และความคุ้มทุนในการทำกากมันสำปะหลังที่หมักด้วยเชื้อยีสต์ ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ต่อสมรรถนะการผลิตคุณภาพไข่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ การทดลองใช้ไก่ไข่พันธุ์ชิวาขาว อายุ 40 สัปดาห์ จำนวน 225 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ซ้ำ (9 ตัวต่อซ้ำ) ให้อาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา คือ กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรอาหาร 5 ระดับ คือร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 โดยเลี้ยงไก่บนกรงตับกรงละ 3 ตัว ในระบบโรงเรือนแบบเปิด ให้ไก่ได้รับแสง 16 ชั่วโมง และมีระยะทำการทดลอง 3 ระยะคือ

ระยะปรับตัว โดยให้ไก่ไข่ทั้งหมดกินอาหารสูตรเดียวกันกับที่กินเป็นประจำก่อนขนย้าย เป็นเวลา 7 วัน

ระยะปรับพื้นฐาน เป็นระยะที่ให้ไก่ไข่ทั้งหมดกินอาหารกลุ่มควบคุม เป็นเวลา 7 วัน

ระยะทดลอง ทำการเปลี่ยนอาหารจากอาหารสูตรควบคุมเป็นอาหารที่ใช้ในการทดลอง (ทดลอง 42 วัน)

2. อาหารสัตว์ทดลอง

ประกอบสูตรอาหารให้มีระดับโปรตีนร้อยละ 18 สำหรับไก่ไข่ และประกอบสูตรอาหารให้มีระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ วิตามินแร่ธาตุให้เพียงพอกับความต้องการของไก่ไข่ ตามคำแนะนำของ NRC (1994)

3. การหมักกากมันสำปะหลังด้วยยีสต์

กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ประกอบด้วย กากมันสำปะหลัง 1 ตัน หัวเชื้อยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 2 กิโลกรัม กากน้ำตาล 40 กิโลกรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 20 กิโลกรัม น้ำสะอาด 200 ลิตร ตามวิธีการของ khampa *et al.* (2010) นำมาตากแห้งและบด ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการจากการวิเคราะห์ดังนี้ พลังงาน (ME) 2,844 (kcal/kg) โปรตีน (CP) ร้อยละ 19.92 จากนั้นนำมาประกอบในสูตรอาหารทดลอง ดังแสดงใน Table 1

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 การเก็บข้อมูลด้านสมรรถนะการผลิต

โดยบันทึกจำนวนไก่ จำนวนไข่ น้ำหนักไข่ ในแต่ละเช้าทุกวัน และบันทึกน้ำหนักอาหารทุกสัปดาห์ แล้วนำมาคำนวณหาค่าสมรรถนะการผลิตดังนี้

1) ปริมาณอาหารที่กินได้ (feed intake) = (ปริมาณอาหารที่กิน) ÷ (จำนวนไก่ไข่ × จำนวนวัน)

2) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion ratio) = ปริมาณอาหารที่กินได้ ÷ มวลไข่

3) ผลผลิตไข่ (egg production) = (จำนวนไข่ ÷ จำนวนไก่ไข่) × 100

5) น้ำหนักไข่ (egg weight) = น้ำหนักไข่ทั้งหมด ÷ จำนวนไข่ทั้งหมด

6) มวลไข่ (egg mass) = (ผลผลิตไข่ ÷ 100) × น้ำหนักไข่เฉลี่ย

5. การเก็บข้อมูลด้านคุณภาพไข่

ตรวจคุณภาพไข่และส่วนประกอบของฟองไข่ โดยการสุ่มฟองไข่กลุ่มละ 5 ฟอง ในทุกๆ 7 วัน เพื่อบันทึกน้ำหนักไข่ และตรวจสอบคุณภาพทั้งภายนอกและภายในดังนี้

1) น้ำหนักไข่ขาว (albumen weight) โดยนำไข่ขาวที่ได้จากการแยกไข่แดงออกจากมาชั่งบนเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

2) น้ำหนักไข่แดง (yolk weight) โดยนำไข่แดงที่ได้จากการแยกออกจากไข่ขาวมาชั่งบนเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3) น้ำหนักเปลือกไข่ (shell weight) โดยนำเปลือกไข่ที่แยกไข่แดงและไข่ขาวออกแล้วมาชั่งโดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

4. ค่าฮอฟฟิยูนิต (Haugh unit) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์คุณภาพไข่ DET 6000 ซึ่งคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$HU = 100 \log_{10} (H - 1.7W^{0.37} + 7.57)$$

เมื่อ HU คือ ค่าฮอฟฟิยูนิต H คือ ค่าความสูงไข่ขาว (มิลลิเมตร) W คือ ค่าน้ำหนักไข่ (กรัม)

5. สีไข่แดง (yolk color) วิเคราะห์คุณภาพไข่โดยใช้เครื่อง DET 6000

6. ความหนาเปลือกไข่ (shell thickness) วัดโดยใช้ไมโครมิเตอร์ Shell Thickness Micrometer

7. ความแข็งแรงเปลือกไข่ (egg shell strength) วิเคราะห์คุณภาพไข่โดยใช้เครื่อง DET 6000

6. การเก็บข้อมูลด้านผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

รายได้จากการขายไข่ (Income, 3 baht /egg) = จำนวนไข่ทั้งหมด × ราคาต่อฟอง 3 บาท กำไรสุทธิเบื้องต้น (Profit) = มูลค่าการขายไข่ - ค่าอาหาร ต้นทุนค่าอาหารต่อไข่ 1 ฟอง (feed cost/egg, baht)

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ต่อสมรรถนะการผลิต ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กินได้ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีปริมาณอาหารที่กินได้ เฉลี่ยเท่ากับ 105.6, 104.2, 105.4, 103.2 และ 102.4 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร เฉลี่ยเท่ากับ 2.16, 2.11, 2.19, 2.17 และ 2.18 ตามลำดับ ผลผลิตไข่ เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 85.34, 84.99, 84.04, 80.45 และ 81.78 ตามลำดับ น้ำหนักไข่ เฉลี่ยเท่ากับ 57.31, 58.18, 57.24, 59.07 และ 57.44 กรัม ตามลำดับ แต่พบว่ามวลไข่ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 5 มีค่าเฉลี่ยสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, และ 15 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมวลไข่มีค่าลดลงเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 ($P<0.05$) อาจเนื่องมาจากการกินได้น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ ดังแสดงใน Table 2

Table 1 Ingredients and nutrients calculated composition of the experimental diets

Experimental diets	Cassava pulp fermented yeast (%)				
	0	5	10	15	20
Ingredients %					
Corn	68.37	65.24	62.12	59.00	55.87
Soybean meal 46% CP	23.31	21.16	19.01	16.84	14.70
Fish meal 60%	3.52	3.74	3.93	4.15	4.36
Cassava pulp fermented yeast	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00
Dicalcium phosphate 18%	1.00	1.00	1.02	1.03	1.04
Calcium carbonate	3.27	3.25	3.22	3.20	3.17
DL-Methionine	0.13	0.15	0.17	0.18	0.20
L-Lysine	0.09	0.15	0.23	0.30	0.37
Premix	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Salt	0.06	0.06	0.05	0.05	0.04
Total	100	100	100	100	100
Nutrients calculated					
Dry matter (%)	88.29	83.92	79.55	75.19	70.82
ME, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	2900
Protein (%)	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
Fat (%)	3.14	3.01	2.87	2.74	2.61
Fiber (%)	3.17	2.96	2.75	2.54	2.34
Lysine (%)	1.00	1.00	1.01	1.01	1.01
Met+Cys (%)	0.72	0.71	0.70	0.68	0.66
Methionine (%)	0.45	0.46	0.46	0.45	0.46
Threonine (%)	0.67	0.65	0.60	0.56	0.52
Valine (%)	0.87	0.82	0.77	0.72	0.67
Iso-leucine (%)	0.76	0.71	0.66	0.62	0.57
Arginine (%)	1.14	1.07	0.99	0.92	0.85
Tryptophan (%)	0.17	0.17	0.16	0.15	0.14
Calcium (%)	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Total phosphorus (%)	0.60	0.59	0.58	0.56	0.55
Available phosphorus (%)	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Sodium (%)	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

Table 2 Effect of using cassava pulp fermented yeast in laying hens diets on production performance

	Cassava pulp fermented yeast (%)					SEM
	0	5	10	15	20	
Feed intake (g/h/d)	105.6	104.2	105.4	103.2	102.4	1.75
Feed conversion ratio	2.16	2.11	2.19	2.17	2.18	0.05
Egg production (%)	85.34	84.99	84.04	80.45	81.78	1.57
Egg weight (g/egg)	57.31	58.18	57.24	59.07	57.43	0.57
Egg mass (g/h/d)	48.88 ^{ab}	49.47 ^a	48.12 ^{ab}	47.50 ^{ab}	46.97 ^b	0.73

^{a,b} Value on the same row under each main effect with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Table 3 Effect of using cassava pulp fermented yeast in laying hens diets on egg quality

	Cassava pulp fermented yeast (%)					SEM
	0	5	10	15	20	
Albumen weight (g)	33.27	33.53	33.07	34.74	34.16	0.78
Yolk weight (g)	15.41	15.72	16.36	16.10	15.82	0.42
Shell weight (g)	8.63	8.97	8.90	8.23	8.07	0.52
Haugh unit (%)	77.91	73.59	81.13	79.40	79.41	3.25
Yolk color	8.09 ^a	7.90 ^a	7.65 ^{ab}	6.95 ^{bc}	6.53 ^c	0.28
Shell thickness (mm)	0.41	0.40	0.41	0.40	0.39	0.01
Egg Shell Strength (Kg force/cm ²)	2.43	2.66	2.80	2.52	2.86	0.19

^{a,b,c} Value on the same row under each main effect with different superscripts differ significantly (P<0.01)

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ ในสูตรอาหารที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ต่อคุณภาพไข่ ได้แก่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ ค่าฮอฟยูนิต ความหนาของเปลือกไข่ และความแข็งแรงของเปลือกไข่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยน้ำหนักไข่ขาว เฉลี่ยเท่ากับ 33.27, 33.53, 33.07, 34.74 และ 34.16 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักไข่แดง เฉลี่ยเท่ากับ 15.41, 15.72, 16.36, 16.10 และ 15.82 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักเปลือกไข่ เฉลี่ยเท่ากับ 8.63, 8.97, 8.90, 8.23 และ 8.07 กรัม ตามลำดับ ค่าฮอฟยูนิต เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 77.91, 73.59, 81.13, 79.40 และ 79.41 ตามลำดับ ความหนาเปลือกไข่ เฉลี่ยเท่ากับ 0.41, 0.40, 0.41, 0.40 และ 0.39 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ ความแข็งแรงเปลือกไข่ เฉลี่ยเท่ากับ 2.43, 2.66, 2.80, 2.52 และ 2.86 Kg force/cm² ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ในสูตรอาหาร มีผลทำให้สีไข่แดงลดลงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยสีไข่แดงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.09, 7.90, 7.65, 6.95 และ 6.53 ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2561

ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ในสูตรอาหารมีผลทำให้สีไข่แดงลดลงเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 15 ดังแสดงใน Table 3

จากการทดลองการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยคำนวณจากจำนวนไข่ตลอดการทดลอง รายได้จากการขายไข่ อาหารที่กินตลอดการทดลอง ราคาอาหาร กำไรสุทธิเบื้องต้น และต้นทุนค่าอาหารต่อไข่ 1 ฟอง พบว่า จำนวนไข่ตลอดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 1,613, 1,606, 1,588, 1,521 และ 1,546 ฟอง ตามลำดับ รายได้จากการขายไข่ (3.00 บาทต่อฟอง) มีค่าเท่ากับ 4,839, 4,818, 4,764, 4,563 และ 4,638 บาท ตามลำดับ อาหารที่กินตลอดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 199.58, 196.94, 199.21, 195.05 และ 193.54 กิโลกรัม ตามลำดับ ราคาอาหาร มีค่าเท่ากับ 14.61, 14.32, 14.03, 13.73 และ 13.44 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ราคาอาหารตลอดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 2,916.62, 2,820.32, 2,795.08, 2,677.20 และ 2,600.69 บาท ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากการทดลองพบว่าไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์วารสารเกษตรพระวรุณ 377

ที่ระดับร้อยละ 20 มีต้นทุนค่าอาหารตลอดการทดลองต่ำที่สุดคือ 2,600.69 บาท สำหรับกำไรสุทธิเบื้องต้นของไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับต่างๆ มีค่าเท่ากับ 1,922.38, 1,997.68, 1,968.92, 1,885.80 และ 2,037.31 บาท ตามลำดับ โดยไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 มีกำไรสุทธิเบื้องต้นสูงสุดในส่วนของต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง มีค่าเท่ากับ 1.81, 1.76, 1.76, 1.76 และ 1.68 บาท ตามลำดับ ซึ่งการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 มีต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่แล้ว การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 10 จะเป็นระดับที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารในไก่ไข่ ดังแสดงใน Table 4

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดลองพบว่าผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ต่อสมรรถนะการผลิต ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต จากการศึกษาของ Polrome *et al.* (1993) พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้ได้ถึงร้อยละ 30 โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและผลผลิตไข่ เนื่องจากมีการกินได้ที่ไม่แตกต่างกัน Chumpawadee *et al.* (2009) ได้รายงานว่าการใช้มันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารไก่ไข่ ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของแม่ไก่ แต่มันสำปะหลังหมักทำให้ผลผลิตไข่ลดลง น้ำหนักไข่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Salami and Odunsi (2003) ได้ศึกษาการใช้เปลือกมันสำปะหลังเพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารของไก่ไข่ พบว่าการใช้เปลือกมันสำปะหลังที่ระดับร้อยละ 20 ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการให้ไข่ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณมากขึ้นเป็นร้อยละ 30 ถึง 40 พบว่าอัตราการให้ไข่จะลดลง ($P<0.01$) เนื่องจากอาหารมีปริมาณเยื่อใยสูงจึงส่งผลกระทบต่อการบินได้ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร จากการศึกษาของ Onifade *et al.* (1999) พบว่าการใช้มันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่มีผลทำให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ลดลง ($P<0.05$) แต่การใช้มันสำปะหลังในระดับที่เพิ่มขึ้นร่วมกับการเติมกรดอะมิโนที่จำเป็น พบว่าอัตราการให้ผลผลิตไข่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่จากผลการทดลองพบว่าปริมาณ

อาหารที่กินต่อตัวต่อวันในไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้นการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในสูตรอาหารทุกระดับไม่ส่งผลกระทบต่อการบินได้ของไก่ไข่ สอดคล้องกับการทดลองของ Hokking (2013) ที่ได้ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังไม่ส่งผลกระทบต่อการบินได้ของไก่ไข่ และจากการศึกษาของ Traiprugsachart *et al.* (2009) พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังที่ระดับร้อยละ 15 ไม่ส่งผลกระทบต่อการบินได้ของไก่ไข่เช่นเดียวกัน จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 ไม่มีผลกระทบต่อการบินได้ของไก่ไข่ ถึงแม้กากมันสำปะหลังจะเป็นวัตถุดิบที่มีความฟามสูง เบา และเป็นฝุ่น

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ จากการทดลองนี้พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 มีค่าความหนาเปลือกไข่ และน้ำหนักเปลือกไข่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) สอดคล้องกับ Okrathok (2013) ที่ได้ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ โดยไก่ไข่มีการใช้ประโยชน์จากโภชนาการในการสร้างองค์ประกอบของไข่ได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับอาหารทดลองที่ใช้ข้าวโพดเป็นแหล่งพลังงานหลัก อาจเนื่องมาจากอาหารทุกสูตรในแต่ละกลุ่มทดลองมีการปรับสมดุลของโภชนาการให้ครบถ้วน และเพียงพอความต้องการของไก่ไข่ จึงส่งผลให้คุณภาพไข่ไม่มีความแตกต่างกัน จากการทดลองการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 พบว่าสีไข่แดงมีแนวโน้มลดลงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ไม่มีแหล่งของสารสี จึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) สอดคล้องกับการทดลองของ Hokking (2013) ในการวิเคราะห์สีของไข่แดงโดยเทียบกับพัคสีโรซ พบว่าไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังตลอดช่วงการทดลองมีคะแนนสีไข่แดงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และการทดลองของ Polrome *et al.* (1993) พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารไก่ไข่พันธุ์ชวาบราร์น มีสีของไข่แดงลดลงตามระดับกากมันสำปะหลังจาก

การผลิตแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ซึ่งผู้บริโภคมักจะให้ความนิยมบริโภคไข่ไก่ที่มีความเข้มสีไข่แดง ที่ระดับ 8 ถึง 12 คะแนน (Niyomdech and Khongsen, 2013) จากการทดลองนี้วัดสีไข่แดงด้วยเครื่อง DET 6000 พบว่ามีสีไข่แดง 8.09, 7.90, 7.65, 6.95 และ 6.53 ตามลำดับ ซึ่งในระดับร้อยละ 0, 5, และ 10 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่การใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ควรพิจารณาการเพิ่มสารสีในสูตรอาหาร เนื่องจากสีของไข่แดงมีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค ดังนั้นควรพิจารณาเสริมสารสี (carotenoid และ xanthophyll) ที่ระดับ 50 ถึง 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร (Khajareern, 2004) หรือการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับวัตถุดิบแหล่งของสารสีจากธรรมชาติ เช่น ดอกดาวเรือง เมล็ดคำสาด ขมิ้นชัน เป็นต้น หรือสารสีทางการค้า เพื่อจะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้

ในส่วนของผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 มีกำไรสุทธิเบื้องต้นสูงสุด และมีแนวโน้มต้นทุนค่าอาหารลดลงตาม

ปริมาณการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Okrathok (2013) ได้ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับร้อยละ 0, 16, 24 และ 32 พบว่ามีต้นทุนค่าอาหารเท่ากับ 14.74, 14.17, 13.91 และ 13.65 บาทต่อกิโลกรัม สำหรับในการศึกษาในครั้งนี้ ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง มีค่าเท่ากับ 1.81, 1.76, 1.76, 1.76 และ 1.68 บาทตามลำดับ ซึ่งการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 20 มีต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักยีสต์มีต้นทุนต่ำเมื่อคิดเป็นน้ำหนักแห้งจะมีราคาประมาณ 5 ถึง 6 บาท และเมื่อพิจารณาจากสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่แล้ว การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ที่ระดับร้อยละ 10 จะเป็นระดับที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารในไก่ไข่ แต่อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังหมักยีสต์เป็นวัตถุดิบที่มีความชื้นสูง การนำประกอบสูตรอาหารในไก่ไข่ ต้องทำการตากแห้งและอบเพื่อให้การผสมอาหาร และการเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น

Table 4 Effect of using cassava pulp fermented yeast in laying hens diets on economic returns in laying hens from 43 to 48 weeks of age

	Cassava pulp fermented yeast (%)				
	0	5	10	15	20
Number of laying hens, head	45	45	45	45	45
Total egg production, egg (42 days)	1,613	1,606	1,588	1,521	1,546
Income, baht (3 baht /egg)	4,839	4,818	4,764	4,563	4,638
Total feed intake, kg	199.58	196.94	199.21	195.05	193.54
Feed cost, baht/kg	14.61	14.32	14.03	13.73	13.44
Total feed cost, baht	2,916	2,820	2,795	2,677	2,600
Profit, baht (42 days)	1,922	1,997	1,968	1,885	2,037
Feed cost/egg, baht	1.81	1.76	1.76	1.76	1.68

สรุปผลการวิจัย

การใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์สามารถใช้ในอาหารไก่ไข่ได้ในระดับร้อยละ 10 โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยพิจารณาจากมวลไข่ สีไข่แดง และต้นทุนค่าอาหารต่อไข่ 1 ฟอง ดังนั้นการใช้กากมันสำปะหลังหมักยีสต์ในอาหารไก่ไข่จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังมากขึ้น รวมถึงยังช่วยลดต้นทุนค่าอาหารไก่ไข่ได้อีกทางหนึ่ง

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

สรุปผลการวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ที่สนับสนุนงบประมาณประจำปี 2561 สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย สำหรับอุปกรณ์และสถานที่ในการทำงานวิจัย ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และห้องปฏิบัติการกลางสาขาขอนแก่น ในการวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์

วารสารเกษตรพระวรุณ 379

References

- Boonkong, S., Hongladdaporn, C., Kullawong, S., Kruttaga, S., and Noimay, P. 2018. Effect of using cassava pulp fermented yeast on biochemical blood profile and reproductive system of laying hens. *Journal of agricultural research and extension*. 35(Suppl. 2) : 560-568. (In Thai).
- Chumpawadee, S., Chantiratikul, A., and Sataweesuk, S. 2009. Effect of dietary inclusion of cassava yeast as probiotic source on egg production and egg quality of laying hens. *The Journal of Poultry Science*. 8(2) : 195-199.
- Hokking, L. 2013. Effect of cassava pulp on nutrient digestibility, production performance, egg quality, egg yolk cholesterol and microbial population change of laying hens. Degree Master of Science in Animal Production Technology, Graduate school, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (In Thai).
- Kanto, U. 2016. Applied swine and poultry feed. Chachoengsao : UKT. (In Thai).
- Khajareern, J., and Khajareern, S. 2000. Physical and chemical properties of corn compared to the production of corn from cassava. *San Kai*. 48(8): 44-51. (In Thai).
- Khajareern, S. 2004. Feeds and feeding nonruminants. Department of animal science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University. (In Thai).
- Khampa, S., Chuelong, S., Siriutane, T., Ittharat, S. and Koatdoke, U. 2010. Using of cassava root raw fermented yeast products as diet on crossbred native cattle fattening for economic of small holder farmers. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 38(Suppl.) : 20-23. (In Thai).
- Khempaka, S., Molee, W., and Guillaume, M. 2009. Dried cassava pulp as an alternative feedstuff for broilers: effect on growth performance, carcass traits, digestive organs, and nutrient. *Research Journal of Poultry Sciences*. 18 : 487-493.
- National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of poultry. 9th Edition. Washington, D. C. : National Academy Press.
- Niyomdech, A., and Khongsen, M. 2013. Metabolism and nutritional values of carotenoids on egg yolk color. *Princess of Naradhiwas University Journal*. 5(Suppl.) : 112-121. (In Thai).
- Okrathok, S. 2013. Effects of using *Aspergillus oryzae* fermented cassava pulp as feed in laying hens. Master degree of Science in Animal Production Technology, Graduate school, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (In Thai).
- Onifade, A. A., Tewe, O. O., Okunola, O., and Fanim, A. O. 1999. Performance of laying pullets fed on cereal-free diets based on maize offal, cassava peel and reject cashew nut meal. *British Poultry Science*. 40(1) : 84-87.
- Polrome, W., Klinhom, U., and Talabmook, C. 1993. Utilization of ethanol fermented cassava products in laying hen rations. *Kasetsart Journal*. 27: 177-185. (In Thai).

- Ruangpanit, Y., Songserm, O., Rattanatabtimtong, S., Amornthewaphat, N., Sa-nguanphan, S., Triwutanon, O., and Paibun, A. 2007. Utilization of cassava pulp in poultry diets. Research from the National Research Council of Thailand. (In Thai).
- Salami, R. I., and Odusi, A. A. 2003. Evaluation of processed cassava peel meals as substitutes for maize in diets of layers. *International Journal of Poultry Science*. 2(2) : 112-116.
- SAS. 2001. SAS System (Release 8.2). Cary, NC. : SAS Institute Inc.
- Traiprugsachart, S., Ruangpanit, Y., Attamangkune, S., Songserm, O., and Rattanatabtimtong, S. 2009. Effects of cassava pulp level on laying hen performance and egg quality. Master degree of science in animal science, Department of Animal Science, Graduate school, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Nakhon Pathom. (In Thai).

การแยกเชื้อรา *Aspergillus* spp. จากขนของแมวบ้าน (Binomial nomenclature) ที่มีรอยโรคของโรคผิวหนัง

ไกรจักร แก้วพรม^{1,*}, สุนทร ชันมา¹, วันทนี พลวิเศษ² และ ยุติ อินทร์สำราญ³

¹สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์และการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

³สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Aspergillus* spp. เป็นเชื้อราสกุลหนึ่งที่มีพบได้มากกว่า 185 ชนิด แต่มีประมาณ 20 ชนิด ที่สามารถก่อโรคทั้งในคนและสัตว์ โดยเชื้อรา *Aspergillus* spp. บางชนิดเป็นเชื้อรากลุ่มฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในสัตว์เลี้ยงได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อราสกุล *Aspergillus* spp. ในแมวที่มีเจ้าของ การทดลองได้สุ่มเลือกแมวบ้านที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ของชุมชนตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ประเทศไทย จำนวน 81 ตัวอย่างที่มีรอยโรคผิวหนังที่ประเมินเบื้องต้นด้วยตาเปล่า เก็บตัวอย่างขนแมวด้วยวิธี Toothbrush technique แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อเปรียบเทียบทางอนุกรมวิธานในการจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่างต่างๆ ลักษณะของโคโลนี อย่างละเอียดด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองพบว่าตรวจพบเชื้อราบนขนแมวคิดเป็นร้อยละ 75.31(61/81) แยกเป็นชนิด *Aspergillus* spp. คิดเป็นร้อยละ 64.20 (52/81) และเชื้อราชนิดอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 11.11 (9/81) สรุปผลการวิจัยในครั้งนี้ได้ว่าเชื้อรา *Aspergillus* spp. สามารถตรวจพบได้จากตัวอย่างที่เก็บจากขนของแมวที่เลี้ยงตามบ้าน

คำสำคัญ : *Aspergillus* spp. ความชุก ขนแมว รอยโรค มหาสารคาม การแยกเชื้อ

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: KJ_RMU@yahoo.com

Isolation of *Aspergillus* spp. Collected from Hair Coat of Domestic Cats (Binomial nomenclature) with Skin Lesions

Kraijak Kaewprom^{1,*}, Sunate Khunma¹, Wantanee Polviset² and Yuwadee Insumran³

¹Program of Veterinary Technology and Veterinary Nurse, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang district, Mahasarakham province 44000

²Program of Animal science, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang district, Mahasarakham province 44000

³Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang district, Mahasarakham province 44000

Abstract

Aspergillus spp. have been identified more than 185 species, less than 20 of which are known to cause human and animal diseases. Some *Aspergillus* spp. are opportunistic fungi and considered as causative agent of skin disease in pets. The aim of this study was to investigate the prevalence of *Aspergillus* spp. in domestic cats. A total of 81 hair coat samples were collected at Market sub-district, Muang district, Mahasarakham province, Thailand. The samples were cultured on PDA for 14 days, then morphological identification of fungal colony were made base on microscopic characterization toward taxonomy evaluation. The results showed that fungal colonies from domestic cats at 75.31% (61/81), with *Aspergillus* spp. and other fungi were 64.20% (52/81) and 11.11% (9/81), respectively. In conclusion, this studied that *Aspergillus* spp. can be detected from the hair coat of domesticated cats (binomial nomenclature).

Keywords : *Aspergillus* spp., Prevalence, Hair coat, Lesions, Mahasarakham, Isolation

* Corresponding author : E-mail : KKJ_RMU@yahoo.com

บทนำ

เชื้อราเป็นจุลชีพที่สามารถก่อโรคได้ทั้งมนุษย์ สัตว์ และพืช (Hibbett and Taylor, 2013; Repetto *et al.*, 2011) ซึ่งการก่อโรคในคนและสัตว์จะทำให้เกิดอาการที่ผิวหนัง โดยทำให้เกิดกลาก เกื้อื้อ และยังก่อโรคชนิด systemic mycoses รวมด้วย (Repetto *et al.*, 2011; Crampin *et al.*, 2005) ในการจำแนกเชื้อราทางการแพทย์ที่ก่อโรคสามารถแยกออกได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ toxigenic fungi, allergenic fungi และ invasive fungi (Callejas and Douglas, 2013; Gilstrap and Kraft, 2013; Wolff, 2011) แต่โรคผิวหนังที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม invasive fungi โดยเชื้อราในกลุ่มนี้จะสร้างความรุนแรงตามความลึกของการเจริญเติบโตในร่างกายของโฮสต์แตกต่างกัน ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ดังนี้ คือ superficial mycoses, cutaneous mycoses, sub-cutaneous mycoses และ systemic mycoses (Hsu *et al.*, 2012) แต่สำหรับเชื้อราที่ก่อโรคผิวหนังในสัตว์เลี้ยง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสุนัขและแมวที่พบบ่อยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเชื้อราที่ก่อโรคผิวหนัง (dermatophyte fungi) ซึ่งจะเจริญถึงผิวหนังชั้นใน ซึ่งเมื่อติดบนผิวหนังจะเจริญลุกลามเป็นวงกลม ทำให้ขนร่วงเป็นวงกลม ผิวหนังลอกและแดงนูนที่ขอบวงที่พบบ่อยๆ มีอยู่ 3 ชนิด คือ *Microsporum canis*, *M. gypseum* และ *Trichophyton mentagrophyte* (Brilhante *et al.*, 2003; Charles, 2009; Dong *et al.*, 2016; Dubey *et al.*, 2015; Moriello, 2014) และกลุ่มของเชื้อราที่ฉวยโอกาส (opportunistic fungi) เช่น *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp., *Fusarium* spp., *Zygomycetes* spp., *Curvularia* spp. และ *Aspergillus* spp. โดยพบว่าเชื้อราในกลุ่มนี้จะเจริญบนผิวหนังชั้นนอก ลักษณะทำให้ขนร่วงเป็นหย่อมๆ ไม่เป็นวงกลม หนังลอกไม่เป็นวงกลม หนังไม่แดงหรือที่ขอบขนร่วง มีรังแคแห้งๆ บนผิวหนัง นอกจากนี้ยังพบว่าอาการก่อโรคของเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะมีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ที่ลดน้อยลงจากสาเหตุต่างๆ (Ramos-e-Silva *et al.*, 2012; Preziosi *et al.*, 2003; McAtee *et al.*, 2017)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้เราทราบว่าเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. นั้นถือว่าเป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่เป็นกลุ่มฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในสัตว์เลี้ยงได้ แต่อย่างไรก็ตาม ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อราสกุลนี้พบได้ทั่วโลกและมีมากกว่า 185 ชนิด แต่มีประมาณ 20 ชนิดที่สามารถก่อโรคทั้งในคนและสัตว์เท่านั้น สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* spp. จะก่อโรคในระบบต่างๆ ของร่างกายสัตว์ (Seyedmousavi *et al.*, 2015) เช่น เชื้อราในกลุ่มนี้บางสายพันธุ์ก่อโรคในระบบทางเดินหายใจในสัตว์ โดยก่อให้เกิดการอักเสบของปอดจากการสูดดมเอาสปอร์ของเชื้อราเข้าไปในร่างกาย ส่วนใหญ่จะเกิดในสัตว์ที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ โดยชนิดของเชื้อราในกลุ่มนี้ที่พบมากที่สุดที่ก่อโรค ได้แก่ *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, และ *A. niger* ตามลำดับ (Hartmann *et al.*, 2013; Barrs and Talbot, 2014) เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นหากมีข้อมูลเกี่ยวกับการระบาดของเชื้อราทางการแพทย์และสัตวแพทย์เบื้องต้น จึงเป็นสิ่งสำคัญและนำไปสู่การพัฒนาความรู้ และการวางแผนการดูแลรักษา สัตว์ป่วยให้มีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตามยังไม่มียารักษาการสำรวจการติดเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ผิวหนังแมวทั้งในแมวสุขภาพดีและหรือแมวที่มีรอยโรคผิวหนังในประเทศไทย

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. ในสัตว์เลี้ยง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแมวที่เลี้ยงอยู่ภายในบ้านและใกล้ชิดกับเจ้าของ ซึ่งแมวอาจจะเป็แหล่งแพร่เชื้อราในกลุ่มนี้ให้กับแมวตัวอื่นๆ หรืออาจเป็นปัจจัยร่วมหนึ่งที่เป็นการแพร่กระจายของเชื้อราบางกลุ่มที่สร้างสารพิษที่ก่อให้โรคมะเร็งในมนุษย์ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกตัวอย่างแมว

การเก็บตัวอย่างเป็นแบบ convenience sampling โดยสุ่มเลือกแมวบ้านที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ของชุมชนเมืองของตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ประเทศไทย จำนวน 81 ตัวอย่าง ซึ่งการศึกษาในสัตว์ทดลองอยู่ภายใต้การกำกับดูแลของสัตวแพทย์และได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (AEKKU 64/2557) ซึ่งแมวตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มมาใช้ในการทดสอบในครั้งนี้จะมีรอยโรคผิวหนังที่บ่งบอกว่าเกิดจากการติดเชื้อราโดยจากการตรวจเบื้องต้นด้วยตาเปล่า ดังแสดงใน Fig. 1-A

วารสารเกษตรพระวรุณ 384

2. การวางแผนการทดลอง

การวิจัยในครั้งนี้ได้ออกแบบงานวิจัยเป็นแบบการวิจัยโดยการสังเกตเชิงพรรณนา (descriptive study) โดยเป็นการวิจัยโดยการสังเกตที่ไม่มีกลุ่มเปรียบเทียบ นิยมใช้วิธีนี้ศึกษาเกี่ยวกับการกำหนดปัญหาหรือค้นหาขนาดของปัญหา เช่น การศึกษาความชุก สถานการณ์ของโรค พฤติกรรมสุขภาพ หรือปัญหาสุขภาพ ซึ่งการวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (cross-sectional descriptive study) ที่มีการศึกษาระยะสั้นที่จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง โดยเป็นการศึกษาอัตราป่วยของโรค และจะได้ข้อมูลความชุกของโรค (prevalence)

3. การเก็บตัวอย่างคนแมว

การเก็บตัวอย่างเส้นขนแมวจากตำแหน่งของร่างกายสัตว์ 5 จุด ได้แก่ ข้อศอก จมูก ใต้คอ หลัง ซอกนิ้ว และเก็บสะเก็ดผิวหนังตรงตำแหน่งที่มีวิธีการของรอยโรคผิวหนังร่วมด้วย โดยวิธีการแปรงเส้นขนด้วยแปรงสีฟัน (toothbrush technique) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ทำการเก็บตัวอย่างตัวอย่างละ 2 ตำแหน่ง คือ บริเวณรอยโรค และบริเวณอื่นๆ ที่ไม่พบรอยโรค ส่วนแมวที่ไม่พบรอยโรคทำการเก็บตัวอย่างโดยการสุมแปรงขนแมวด้วยแปรงสีฟันสำหรับเก็บตัวอย่างกินพื้นที่ไม่ต่ำกว่า 1/3 ของร่างกาย การเก็บตัวอย่างบริเวณรอยโรคทำได้โดยการเช็ดทำความสะอาดผิวหนังบริเวณรอยโรคที่จะเก็บตัวอย่างด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นใช้แปรงสีฟันสำหรับเก็บตัวอย่างแปรงบริเวณขอบของรอยโรค และการเก็บตัวอย่างบริเวณที่ไม่พบรอยโรคทำโดยใช้แปรงเก็บตัวอย่างแปรงขนบริเวณหัว ใบหู ลำตัว และเท้าทั้ง 4 ข้าง ระบุชื่อตัวอย่างและเก็บรักษาแปรงเก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องทำการเพาะเชื้อราภายใน 24 ชั่วโมง (Moriello and DeBore, 1991; Medleau and Hnilica, 2006; Moriello *et al.*, 2017; Di Mattia *et al.*, 2015)

4. การเพาะเลี้ยงเชื้อรา

4.1 เทอาหาร PDA ลงในจานเลี้ยงเชื้อปลอดเชื้อให้หนาประมาณ 2-5 มม. ทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

4.2 ใช้เข็มเย็บเชื้อปลายงอเป็นมุมฉากฉีกไหม่าเชื้อ แล้วตัดอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อเป็นตารางสี่เหลี่ยมชิ้นละประมาณ 6 มม.².

4.3 ระบุชื่อตัวอย่างและวันที่ทำการทดลองลงบนฝาจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุกระดาษกรอง แล้วใช้เข็มเย็บที่ฉีกไหม่าเชื้อแล้ว ยกชิ้นวุ้นที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ตัดได้มาวางบนสไลด์ซึ่งบรรจุอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อนั้นๆ

4.4 ใช้เข็มเย็บเชื้อ เขี่ยขนแมวที่เก็บมา แล้วนำมาแตะที่ส่วนความหนาทั้งสี่ด้านของชิ้นวุ้น

4.5 ใช้ปากคีบ คีบแผ่นแก้วปิดสไลด์และจุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านไฟเพื่อฆ่าเชื้อนำมาปิดบนชิ้นวุ้นนั้น

4.6 เทน้ำกลั่นปลอดเชื้อบนกระดาษกรอง ในจานเลี้ยงเชื้อให้ชุ่มพอดี (อย่าให้น้ำท่วมสไลด์)

4.7 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเก็บในกล่องอูมเนียมเพื่อให้ไม่ถูกแสงสว่าง จนกระทั่งเส้นใยราเจริญจนถึงขอบแผ่นแก้วปิดสไลด์ (ประมาณ 10-14 วัน)

4.8 เมื่อเชื้อราเจริญขึ้นมา ใช้เข็มเย็บย้ายโคโลนีเชื้อราแต่ละโคโลนีลงใน PDA และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อราในแต่ละตัวอย่างต่อไป (Moriello *et al.*, 2017)

5. การจำแนกชนิดเชื้อรา

5.1 การจำแนกชนิดเชื้อราที่แยกได้ทำโดยปลูกเชื้อราที่จะจำแนกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเป็น 3 จุด ให้แต่ละจุดมีระยะห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อและจากจุดศูนย์กลางเท่าๆ กัน รวมถึงระยะห่างระหว่างจุดเท่ากันด้วย เพื่อที่ว่าสามารถเปรียบเทียบลักษณะของโคโลนีได้ ดังแสดงใน Fig. 1-B

5.2 บันทึกลักษณะการเจริญ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ถ่ายภาพโคโลนี แล้วนำไปศึกษาลักษณะรูปร่างต่างๆ ของเชื้อราอย่างละเอียด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และแบบ Compound พร้อมทั้งถ่ายภาพลักษณะต่างๆ ที่สำคัญของราภายใต้กล้องทั้งสอง นำรายละเอียดทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาไปเปรียบเทียบกับเอกสารทางด้านอนุกรมวิธานเพื่อจำแนกชนิดรา (Moriello *et al.*, 2017)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลความชุกของเชื้อรา โดยการหาค่าร้อยละ และการวิเคราะห์ค่า correlation ของร้อยละชนิดสายพันธุ์แมว ร้อยละช่วงอายุแมว และร้อยละการติดเชื้อรา

ด้วยวิธี chi-square test ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.1 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ข้อมูลพื้นฐานของสัตว์ทดลอง

การทดลองนี้ได้สุ่มเลือกแมวบ้านที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ของชุมชนตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 81 ตัวอย่าง ที่มีรอยโรคของรอยโรคผิวหนังที่บ่งบอกว่าเกิดจากการติดเชื้อราโดยการตรวจประเมินเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แล้ววิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับเปอร์เซ็นต์ของประชากร สายพันธุ์ เพศ และอายุของแมวที่ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมข้อมูลครั้งนี้ พบว่าแมวสายพันธุ์พื้นเมืองมีมากที่สุด ทั้งเพศผู้และเพศเมีย รองลงมาคือสายพันธุ์ลูกผสม พันธุ์เปอร์เซีย และพันธุ์ชาวมณี คือ 95.07, 2.47, 1.23 และ 1.23% ตามลำดับ โดยปกติแมวพันธุ์ไทยและลูกผสมพันธุ์ไทยมักจะมีพฤติกรรมออกไปเที่ยวเล่นนอกบ้านมากกว่าพันธุ์อื่นๆ ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวนี้บางครั้งก็เกิดการบาดเจ็บจากการต่อสู้กัน การติดโรคต่างๆ ตามมา เช่น โรคจากเชื้อรา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราที่ก่อโรคในระบบทางเดินหายใจ และเชื้อราที่ก่อโรคผิวหนัง (Moore, 2007) ซึ่งก็สอดคล้องกับผลการวิจัยในครั้งนี้ที่พบว่าแมวพันธุ์ไทยและพันธุ์ไทยลูกผสมพบร้อยละการติดเชื้อรากลุ่มฉวยโอกาส ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus* spp. มากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงใน Table 2

เปอร์เซ็นต์ของอายุแมวที่สำรวจครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 6 ช่วงอายุ คือ ช่วง Kitten (แรกเกิด-6 เดือน) ช่วง Junior (7 เดือน-2 ปี) ช่วง Prime (3- 6 ปี) ช่วง Mature (7-10 ปี) ช่วง Senior (11-14 ปี) และช่วง Geriatric (มากกว่า 15 ปี) ผลการสำรวจพบว่าแมวที่อยู่ในช่วงอายุ mature มีค่ามากที่สุด คือ 39.51% รองลงมา ได้แก่ แมวช่วง Prime, Junior, Senior, Kitten และ Geriatric มีค่าเท่ากับ 20.99 (17/81), 18.52 (15/81), 11.11 (9/81), 6.17 (5/81) และ 3.70% (3/81) ตามลำดับ โดยปกติแมวพันธุ์ไทยหรือไทยลูกผสมจะมีพฤติกรรมออกไปเที่ยวเล่นนอกบ้านอยู่สม่ำเสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมวที่อยู่ในช่วงวัยรุ่นและช่วงวัยเจริญพันธุ์จะมีพฤติกรรมเหล่านี้มากกว่าแมวในช่วงอายุอื่นๆ ซึ่งการออกไปนอกบ้านนี้บางครั้งก็ส่งผลให้เกิดความสูญเสียต่อร่างกาย เช่น การได้รับบาดเจ็บจากการต่อสู้กัน

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

การติดเชื้อที่ก่อโรคต่างๆ เช่น โรคพยาธิ โรคจากเชื้อไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น (Moore, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยในครั้งนี้ที่พบว่าแมวที่อยู่ในช่วงวัยรุ่นและวัยเจริญพันธุ์ พบร้อยละการติดเชื้อรา *Aspergillus* spp. มากกว่าช่วงอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงใน Table 2

2. การประเมินลักษณะรอยโรคที่ผิวหนังด้วยตาเปล่า

จากการเก็บข้อมูลและการประเมินสภาพผิวหนังด้วยตาเปล่าในแมวทดสอบทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแมวที่มีผิวหนังอักเสบคล้ายกับรอยโรคผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อจุลชีพ โดยลักษณะรอยโรคเฉพาะที่ตรวจพบ คือ การอักเสบของผิวหนัง ขนร่วง ต่อมน้ำเหลือง ผิวหนังแดง และมีการเกิดสะเก็ดรังแค ผลการสำรวจพบว่าแมวสายพันธุ์พื้นเมือง สายพันธุ์ผสม จะมีปัญหาเรื่องโรคผิวหนังมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ดังแสดงใน Fig. 1-A นอกจากนี้ในแมวบางตัวยังพบลักษณะของขนร่วงเป็นวงๆ ที่เรียกว่า Ringworm และมีสะเก็ดรังแคร่วมด้วย ส่วนบริเวณขอบมักพบตุ่มเล็กๆ (ซึ่งน่าจะเป็นการติดเชื้อราพวกกลุ่ม dermatophytes ยกอย่างเช่นเชื้อ *Microsporum canis*, *M. gypseum* และ *Trichophyton mentagrophyte* (Brilhante et al., 2003; Charles, 2009; Hobi et al., 2011; Hoffmann et al., 2014; Ahmadi et al., 2016; Frymus et al., 2013) แต่ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้ทดสอบหาเชื้อรากลุ่มดังกล่าวเพราะต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อราต่างชนิดกัน โดยปกติการเกิดโรคผิวหนังในแมว โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อรา มักพบการติดเชื้อแบบบางจุดของร่างกาย หรืออาจจะกระจายทั่วร่างกาย หากมีการติดเชื้อที่ไม่แสดงอาการทางคลินิกใดๆ ที่เด่นชัด เช่น การอักเสบของผิวหนังเพียงเล็กน้อยร่วมกับขนร่วง จะทำให้แมวตัวนั้นเป็นตัวกักโรคและสามารถแพร่เชื้อให้กับตัวอื่นได้เป็นอย่างดี (Barrs and Talbot, 2014; Hartmann et al., 2013; Carlotti et al., 2010)

3. ร้อยละของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ตรวจพบในผิวหนังแมว

จากการทดลองพบว่าแมวทั้งหมดทั้งที่มีรอยโรคที่ผิวหนัง ซึ่งเก็บตัวอย่างขนมาเพื่อเพาะหาชนิดของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ก่อโรคผิวหนัง โดยประเมินจากลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่างต่างๆ ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา

วารสารเกษตรพระวรุณ 386

อย่างละเอียดด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วนำรายละเอียดทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาไปเปรียบเทียบกับเอกสารทางด้านอนุกรมวิธานเพื่อจำแนกชนิดเชื้อรา พบว่าแมวที่สำรวจติดเชื้อราเท่ากับ 75.31% (61/81) แยกออกเป็นเชื้อราชนิด *Aspergillus* spp. เท่ากับ 64.20% (52/81) และชนิดอื่นๆ คิดเป็น 11.11% (9/81) ดังแสดงใน Table 1 และ Fig. 1-C, 1-D นอกจากนี้เราพบว่าแมวสายพันธุ์พื้นเมืองไทย เพศผู้ ที่มีอายุช่วง 7-10 ปี สํารวจพบร้อยละการติดเชื้อราพวก *Aspergillus* spp. มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแมวกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการศึกษาความชุกของการติดเชื้อราที่ผิวหนังในกลุ่ม non-dermatophyte ในสัตว์เลี้ยงที่รายงานโดย Sierra *et al.* (2000) ที่กล่าวว่าสามารถแยกโคลนของเชื้อราบนผิวหนังในแมวที่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องของร่างกาย เช่น โรค feline immunodeficiency virus (FIV) หรือ feline leukopenia virus ได้มากถึง 97.60% (83/85) โดยแยกชนิดของเชื้อราที่เป็น common fungal ได้แก่ ชนิด *Aspergillus* spp. เท่ากับ 59.30% เนื่องจากเชื้อรากลุ่มนี้เป็นเชื้อรากลุ่มฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในสัตว์เลี้ยงและยังพบว่าเชื้อรากลุ่มนี้บางสายพันธุ์ยังก่อโรคในระบบทางเดินหายใจในสัตว์ได้อีกด้วย โดยก่อให้เกิดการอักเสบของปอด เนื่องจากการสูดดมเอาสปอร์ของเชื้อราเข้าไปในร่างกาย ส่วนใหญ่จะเกิดในคนหรือสัตว์ที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ โดยชนิดที่พบมากที่สุดที่ก่อโรคได้ คือ *A. fumigatus*, *A. flavus*, และ

A. niger ตามลำดับ นอกจากนี้จากการรายงานของ Moriello and DeBoer (1991) กล่าวว่าสามารถแยกเชื้อราจากขนแมวที่มีสุขภาพดีได้เท่ากับ 79.00% (136/172) และยิ่งไปกว่านั้นเมื่อแยกชนิดของเชื้อราในกลุ่ม saprophytes สามารถแยกออกได้เป็นพวก *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* และ *Cladosporium* spp. โดยงานวิจัยนี้กล่าวว่าสามารถพบเชื้อราพวกนี้ได้ในอัตราการติดเชื้อมากกว่าชนิดอื่นๆ

แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ทางคณะวิจัยได้ประเมินเฉพาะรอยโรคที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหนังของแมวเท่านั้น แต่ไม่ได้ประเมินโรคอื่นๆ เช่น โรค FIV ซึ่งเป็นโรคที่ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้ลดลง ทำให้มีโอกาสติดเชื้อราที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ง่ายขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรากลุ่มฉวยโอกาส ดังนั้นการจัดการด้านสุขอนามัยที่ดีและการใช้ยาฆ่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพกับสิ่งรบกวนของสัตว์นั้นก็เป็นแนวทางอย่างหนึ่งในการลดปริมาณจำนวนเชื้อราลงในการก่อโรคในสัตว์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแมวที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือมีปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพเนื่องจากเชื้อราที่มีอยู่ทั่วไปในอากาศโดยเฉพาะสปอร์ละอองสัตว์เลี้ยงที่มีปัญหาด้านระบบภูมิคุ้มกันหรือเป็นโรคภูมิแพ้ควรหลีกเลี่ยงบริเวณเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อราหรือบริเวณที่มีเชื้อราอยู่มาก เช่น บริเวณที่มีฝุ่นละอองเยอะ การระบายอากาศไม่ดีทำให้สปอร์ของเชื้อรากระจายอยู่บริเวณนั้นบริเวณที่อบอุ่น เป็นต้น

Table 1 Percentage of domestic cats (binomial nomenclature) with *Aspergillus*-cultured positive in Talad sub-district, Muang district, Mahasarakham province

Items	Number of sample	Percentage (%)
<i>Aspergillus</i> -cultured negative samples	20	24.69 (20/81)
<i>Aspergillus</i> -cultured positive samples	61	75.31 (61/81)
1. <i>Aspergillus</i> spp.	52	64.20 (52/81)*
2. Others	9	11.11 (9/81)
Total	81	100.00

* $P < 0.05$

Table 2 Prevalence of *Aspergillus* spp. in cats in relation to different factors in this study

Items	Percentage (%)
Breed	
DSH breed	62.96 (52/81)*
Mixed breed	1.23 (1/81)
Persians breed	0.00 (0/81)
Khao Manee breed	0.00 (0/81)
Sex	
Male	41.98 (34/81)*
Female	22.22 (18/81)
Age	
Kitten (birth - 7 months)	2.47 (2/81)
Junior (7 months - 3 years)	6.17 (5/81)
Prime (3 - 7 years)	17.28 (14/81)
Mature (7 - 10 years)	30.86 (25/81)*
Senior (11 - 14 years)	6.17 (5/81)
Geriatric (> 15 years)	1.23 (1/81)

* P<0.05

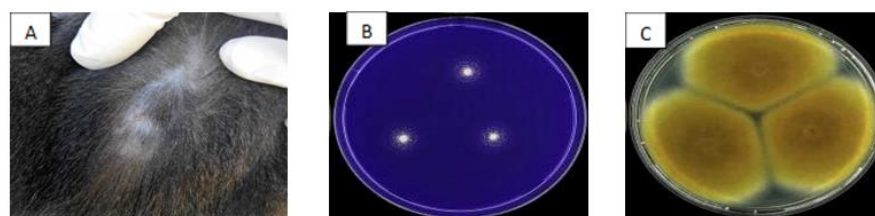


Fig. 1 Pictures of this study were; A : furs collection site in cat; B : filter paper position on agar plate and C : colony morphology of *Aspergillus* spp. grown on PDA

สรุปผลการวิจัย

เชื้อรา *Aspergillus* spp. เป็นเชื้อรากลุ่มฉวยโอกาสที่สามารถก่อให้เกิดโรคผิวหนังได้ในสัตว์เลี้ยง และงานวิจัยฉบับนี้ชี้ให้เห็นว่าแมวที่เลี้ยงในบ้านมีการติดเชื้อราชนิดนี้มากถึง 64.20% จากแมวที่สุ่มตรวจทั้งหมดที่มีรอยโรคของโรคผิวหนัง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อราในกลุ่มนี้โดยทั่วไปจะก่อความเสียหายให้กับสัตว์เลี้ยงในระบบอื่นเป็นหลัก โดยเฉพาะในแมวที่มีภาวะภูมิคุ้มกันไม่แข็งแรง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวปาริฉัตร สิริภักษ์ นางสาวเมธิกา ใจหยุด และนางสาวสิริรัตน์ สีสวัสดิ์ นักศึกษาสาขาวิชาการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามที่ช่วยทำงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ และการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2561

วารสารเกษตรพระวรุณ 388

Volume 15 Number 2 JULY– DECEMBER 2018

References

- Ahmadi, B., Mirhendi, H., Makimura, K., de Hoog, G.S., Shidfar, M.R., Nouripour-Sisakht, S., and Jalalizand, N. 2016. Phylogenetic analysis of dermatophyte species using DNA sequence polymorphism in calmodulin gene. *Medical Mycology*. 54 : 500-514.
- Barrs, V. R., and Talbot, J. J. 2014. Feline Aspergillosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 44 (1) : 51-73.
- Brilhante, R. S. N., Cavalcante, C. S. P., Soares, F. A., Cordeiro, R. A., Sidrim, J. J. C., and Rocha, M. F. G. 2003. High rate of microsporum canis feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil : Epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia*. 156 : 303-308.
- Callejas, C. A., and Douglas, R. G. 2013. Fungal rhinosinusitis: what every allergist should know. *Clinical & Experimental Allergy*. 43 : 835-849.
- Carlotti, D. N., Guinot, P., Meissonnier, E., and Germain, P. A. 2010. Eradication of feline dermatophytosis in a shelter: a field study. *Veterinary Dermatology*. 21 : 259-266.
- Charles, A. J. 2009. Original Article: Superficial cutaneous fungal infections in tropical countries. *Dermatologic Therapy*. 22 : 550-559.
- Crampin, H., Finley, K., Gerami-Nejad, M., Court, H., Gale, C., Berman, J., and Sudbery, P. 2005. Candida albicans hyphae have a Spitzenkörper that is distinct from the polarisome found in yeast and pseudohyphae. *Journal of Cell Science*. 118 : 2935-2947.
- Di Mattia, D. M. M., Fondati, A., and Peano, A. 2015. Comparison of two plating procedures of samples obtained by toothbrush technique to diagnose feline dermatophytosis. *Veterinary Dermatology*. 26 : 305 (Abstract).
- Dong, C., Angus, J., Scarampella, F., and Neradilek, M. 2016. Evaluation of dermoscopy in the diagnosis of naturally occurring dermatophytosis in cats. *Veterinary Dermatology*. 27 : 275-280.
- Dubey, A., Rode, A., Dakshinkar, N., Sanghai, A. A., and Bhojne, G. R. 2015. Comparative efficacy of different fungal drugs in canine dermatophytosis. *Indian Journal of Clinical Practice*. 7 : 120-123.
- Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Pennisi, M.G., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A. D., Thiry E, Truyen, U., and Horzinek, M. C. 2013. Dermatophytosis in cats ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 15 : 598-604.

- Gilstrap, D. L., and Kraft, M. 2013. Asthma and the host-microbe interaction. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 131: 1449-50.
- Hartmann, K., Lloret, A., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Addie, D., Belák, S., Baralon, C. B., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hosie, M. J., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., and Horzinek, M.C. 2013. Aspergillosis in Cats ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 15(7) : 605-610.
- Hibbett, D. S., and Taylor, J. W. 2013. Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand?. *Nature Reviews Microbiology*. 11 : 129-133.
- Hobi, S., Linek, M., Marignac, G., Olivry, T., Beco, L., Nett, C., Fontaine, J., Roosje, P., Bergvall, K., Belova, S., Koebrich, S., Pin, D., Kovalik, M., Meury, S., Wilhelm, S., and Favrot, C. 2011. Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity-associated dermatoses. *Veterinary Dermatology*. 22 : 406-413.
- Hoffmann, A. R., Patterson, A. P., Diesel, A., Lawhon, S. D., Ly, H. J., Stephenson, C. L., Mansell, J., Steiner, J. M., Dowd, S. E., Olivry, T., and Suchodolski, J. S. 2014. The skin microbiome in healthy and allergic dogs. *PLoS ONE*; 9 : e83197.
- Hsu, L. Y., Wijaya, L., Shu-Ting, Ng. E., Gotuzzo, E. 2012. Tropical fungal infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 26 : 497-512.
- McAtee, B. B., Cummings, K. J., Cook, A. K., Lidbury, J. A., Heseltine, J. C., and Willard, M. D. 2017. Opportunistic invasive cutaneous fungal infections associated with administration of cyclosporine to dogs with immune-mediated disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 31 : 1724-1729.
- Medleau, L., and Hnilica, K. A. 2006. Small animal dermatology: a color atlas and therapeutic guide. 2nd eds. Saunders : Elsevier.
- Moriello, K. A., and DeBoer, D. J. 1991. Fungal flora of the coat of pet cats. *American Journal of Veterinary Research*. 52(4) : 602-606.
- Moriello K. 2014. Feline dermatophytosis aspects pertinent to disease management in single and multiple cat situations. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 16 : 419-431.
- Moriello, K. A., Coyner, K., Paterson, S., and Mignon, B. 2017. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*. 28 : 266-e68.
- Moore, A. 2007. The cat behavior answer book : Practical insights & proven solutions for your feline questions. Storey Publishing.

- Preziosi, D. E., Goldschmidt, M. H., Greek, J. S., Jeffers, J. G., Shanley, K. S., Drobatz, K., Mauldin, E. A. 2003. Feline pemphigus foliaceus : a retrospective analysis of 57 cases. *Veterinary Dermatology*. 14 : 313-321.
- Ramos-e-Silva, M., Lima, C. M., Schechtman, R. C., Trope, B. M. and Carneiro, S. 2012. Systemic mycoses in immunodepressed patients (AIDS). *Clinics in Dermatology*. 30 : 616-627.
- Repetto, E. C., Giacomazzi, C. G. and Castelli, F. 2011. Hospital-related outbreaks due to rare fungal pathogens: a review of the literature from 1990 to June 2011. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 31 : 2897-2904.
- Seyedmousavi, S., Guillot, J., Arne, P., de Hoog, G.S., Mouton, J. W., Melchers, W. J. G., and Verweij, P. E. 2015. Aspergillus and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease. *Medical Mycology*. 53 : 765-797.
- Sierra, P., Guillot, J., Jacob, H., Bussi  ras, S., and Chermette, R. 2000. Fungal flora on cutaneous and mucosal surfaces of cats infected with feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. *American Journal of Veterinary Research*. 61(2) : 158-161.
- Wolff, C. H. 2011. Innate immunity and the pathogenicity of inhaled microbial particles. *International Journal of Biological Sciences*. 7 : 261-268.