

ผลของวิตามินซีต่อน้ำหนักตัว ค่าสังเกตทางสรีรวิทยา ค่าสังเกตของการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดและพยาธิสรีรวิทยาของตับในไก่เนื้อระหว่างการขนส่ง

Effects of Ascorbic Acid on Body weight, Physiology, Oxidative Stress, Total Antioxidant Power (FRAP) and Pathology of Liver in Broiler during Transportation

พิมนภา บุญขยาย¹, วรพล เองวานิช², ณัฐจันณ ³ แสนทวิสุข³

Pimnapa Buykayay,¹ Worapol Aengwanich,² Nattanan Saenthaweesuk³

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมวิตามินซีต่ออุณหภูมิร่างกาย อัตราการหายใจ น้ำหนักตัว ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ ระดับเอนไซม์คาตาเลส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮโทโรฟิล ต่อลิมโฟไซต์ และค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับของไก่เนื้อโดยใช้ไก่เนื้อ อายุ 35 วัน จำนวน 84 ตัววางแผนการทดลองแบบ 4x3 แฟกตอเรียล ในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 2 ปัจจัย คือ ระดับของวิตามินซีที่ 0, 200, 400 และ 600 ppm และปัจจัยเนื่องจากระยะทางในการขนส่งได้แก่ ระยะทางที่ 0, 50 และ 100 กิโลเมตร ผลการทดลอง พบว่าระยะทางการขนส่งที่ 100 กิโลเมตร ส่งผลทำให้การสูญเสียน้ำหนักร่างกาย อัตราการหายใจ อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ และค่าคะแนนพยาธิสภาพตับของไก่เนื้อสูงกว่าที่ระยะทาง 0 และ 50 กิโลเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเสริมวิตามินซีที่มีระดับความเข้มข้น 600 ppm มีผลทำให้ไก่เนื้อมีระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัม และค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับโดยเฉลี่ยสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200 และ 400 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ค่าอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮโทโรฟิลต่อลิมโฟมีค่าต่ำกว่าไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200 และ 400 ppm ที่ระยะทาง 100 กิโลเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากปรากฏการณ์นี้แสดงให้เห็นว่าการขนส่งไก่ที่ระยะทาง 100 กิโลเมตรมีผลต่อ น้ำหนักร่างกาย การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และพยาธิวิทยาของไก่เนื้อ และการใช้วิตามินซีในระดับความเข้มข้น 600 ppm มีผลเสียต่อเซลล์ตับของไก่เนื้อ แต่ระดับดังกล่าวช่วยลดภาวะเครียดจากการขนส่งได้ดีกว่าในระดับอื่น

คำสำคัญ: ไก่เนื้อ การขนส่ง วิตามินซี สรีรวิทยา พยาธิวิทยา

¹คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

E-Mail: pimracing@hotmail.com

²คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามอำเภอมือทอง จังหวัดมหาสารคาม 44000

³คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Abstract

The objective of this experiment was to study the effect of vitamin C on body temperature, respiratory rate, body weight, malondialdehyde, catalase, ferric reducing antioxidant power (FRAP), heterophil/lymphocyte ratio and liver pathological score in broilers. Eighty four broilers, 35 days of age were used. 4x3 factorial in completely randomized was a design of this experiment. Treatments were divided into two factors i.e. vitamin C levels (0, 200, 400 and 600 ppm) and distances (0, 50 and 100 kilometers). The results revealed the following information: at 100 kilometer, body weight loss, respiratory rate, heterophil/lymphocyte ratio and liver pathological scores of broilers were significantly higher than at 0 and 50 kilometers ($p < 0.05$). Malondialdehyde and liver pathological scores of broilers that received vitamin C at 600 ppm was significantly higher than that of group that received vitamin C at 0, 200 and 400 ppm ($p < 0.05$). On the other hand, heterophil/lymphocyte ratio of broilers that received vitamin C at 600 ppm was significantly lower than that of other groups ($p < 0.05$) This phenomenon indicated that transportation at 100 kilometers had effect to body weight loss, physiological and pathological changes of broiler and vitamin C at 600 ppm had negative effect to liver cell of broilers. Whereas, vitamin C at this level decreased transportation stress when compared to other levels.

Keywords: broiler, transportation, vitamin C, physiology, pathology

บทนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงไก่ได้รับความนิยมนอกจากเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว ให้ผลผลิตสูงเป็นที่นิยมบริโภคกันทั่วไป และมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ การเลี้ยงไก่เนื้อในประเทศไทยมีการพัฒนามาตรฐานการเลี้ยง และการจัดการอย่างมาก เป็นผลเนื่องมาจากผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญต่อความปลอดภัยด้านอาหาร (Food Safety) มากขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ประเทศไทยยังเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์เนื้อไก่อันดับต้นๆ ของโลก ดังนั้นจึงมีการพัฒนาคุณภาพ และขั้นตอนการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง แต่ถึงอย่างไรก็ตามการเลี้ยงไก่มักจะประสบปัญหาภาวะเครียดที่เกิดขึ้นกับไก่ ซึ่งภาวะเครียด หมายถึง สภาวะของสัตว์ที่ถูกกระทำจากปัจจัยที่ทำให้เกิดภาวะเครียด (stressor) อาจเกิดจากปัจจัยเดียวหรือหลายปัจจัย ปัจจัยที่ทำให้เกิดภาวะเครียดเหล่านี้มีทั้งที่เป็นปัจจัยจากภายนอกหรือปัจจัยภายใน

ร่างกายของสัตว์ เช่น สภาพอากาศที่ร้อนหรือเย็นเกินไป การเคลื่อนย้ายสัตว์ และการตกใจกลัว สำหรับการค้าสัตว์ปีกนั้นการขนส่งคือ สิ่งหนึ่งที่ทำให้เกิดความเครียดได้ ซึ่งขณะขนส่งจะมีการสัมผัสกับตัวไก่ การเข้าสู่สภาพแวดล้อมใหม่ ความหวาดกลัว การเคลื่อนไหวของพาหนะ การสั่นสะเทือนในระหว่างการเดินทาง ระยะเวลาที่นานในการเดินทาง^{2,3,4} ถ้าสัตว์เกิดความเครียดขึ้นระหว่างการขนส่ง อาจทำให้เม็ดเลือดขาวทำงานไม่เต็มที่ ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นมากหลังการฆ่า⁵ เพิ่มความอ่อนแอซึ่งทำให้เกิดความไวต่อการเกิดโรค⁶ และทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสูญเสีย^{7,8} และสามารถทำให้เกิดการสูญเสียกับอุตสาหกรรม รวมถึงเศรษฐกิจเนื่องจากความเครียดก่อให้เกิดความผิดปกติต่อร่างกาย การบาดเจ็บ อัตราการตาย และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสัตว์ลดลง^{9,10,11,12} Warriss และคณะ¹³ ได้ทำการตรวจสอบไก่เนื้อที่มีการขนส่งที่

ระยะเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าการขนส่งทำให้น้ำหนักของตับลดลง แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักมีชีวิต หรือน้ำหนักซาก และ Warriss และคณะ¹⁴ รายงานว่าในการดำเนินการที่เกี่ยวกับการค้าในเชิงพาณิชย์ของไก่ ซึ่งจะต้องมีการจับไก่ใส่ในภาชนะบรรจุ จากนั้นมีการขนส่งเป็นเวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิของร่างกายของไก่เพิ่มขึ้น และไกลโคเจนที่ตับลดลง การเกิดภาวะเครียดเนื่องจากการขนส่งจะมีผลทำให้ไก่เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (oxidative stress) คือภาวะที่เกิดขึ้นภายในเซลล์เมื่อเกิดความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ¹⁵ ซึ่งการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันนั้นทำให้การทำงานของร่างกายเสียหาย เกิดการตายของเซลล์ หรือเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในร่างกายส่งผลให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ¹⁶ วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ปกป้องไมโทคอนเดรียต่อการเกิดออกซิเดชันเนื่องจากวิตามินซีละลายในน้ำจึงลอยอยู่ในน้ำภายในเซลล์ ไปทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลางก่อนที่มันจะไปถึงผนังของไมโทคอนเดรีย¹⁷ Minka และ Ayo¹⁸ ได้ศึกษาผลการเสริมวิตามินซีต่อค่าโลหิตวิทยา และพฤติกรรมของไก่เนื้อในระหว่างการขนส่งในช่วงฤดูร้อน พบว่ากลุ่มที่ไม่มีการเสริมวิตามินซีหลังการขนส่งมี เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเฮเทอโรฟิล, เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเบโซฟิล, อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ เพิ่มขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวอีโอซิโนฟิล และเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ ลดลงจากก่อนการขนส่ง Minka and Ayo¹⁹ ได้ศึกษาการเสริมวิตามินซีและวิตามินอีในไก่เนื้อต่อภาวะเครียดจากระหว่างการขนส่งในช่วงฤดูร้อน พบว่า กลุ่มที่เสริมวิตามินซีมีอัตราการตายของไก่ต่ำกว่าทุกกลุ่ม และการเสริมวิตามินซีก่อนเริ่มทำการเดินทาง 30 นาที และทันทีหลังการขนส่ง ทำให้อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ต่ำกว่าทุกกลุ่ม แล้วยัง

พบว่า กลุ่มที่ทำการเสริมวิตามินซีหลังการขนส่ง 8 ชั่วโมง มีการสูญเสียน้ำหนักตัวต่ำกว่าทุกกลุ่ม ส่วนหลังการขนส่ง 3 วัน ไก่พื้นฟูน้ำหนักได้ดีกว่าทุกกลุ่ม Minka and Ayo²⁰ ได้ศึกษาพฤติกรรมและการตอบสนองอุณหภูมิร่างกายของไก่ Black Harco ที่ทำการเสริมวิตามินซีและวิตามินอีในช่วงขนส่งฤดูร้อน พบว่า 30 นาทีหลังการบรรจุและระหว่างการขนส่ง กลุ่มที่เสริมวิตามินซีมีอุณหภูมิต่ำกว่าทุกกลุ่ม ส่วน 4 ชั่วโมงหลังการขนส่งกลุ่มที่เสริมวิตามินซี กลุ่มเสริมด้วยวิตามินอี และกลุ่มที่เสริมวิตามินซีร่วมกับวิตามินอี มีอุณหภูมิต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และพฤติกรรมของไก่ในกลุ่มควบคุม คือ การใช้เวลาก้าวเดิน การนอนหมอบราบ การนอนราบกินน้ำ การกินอาหาร จำนวนของไก่ที่มีลักษณะซึมเศร้า รวมทั้งอัตราการตาย ในช่วงหลังการขนส่งทันที, 4 ชั่วโมงหลังการขนส่ง และ 3 วันหลังการขนส่ง สูงกว่ากลุ่มที่ทำการเสริมด้วยวิตามินซี และกลุ่มที่ทำการเสริมด้วยวิตามินซีร่วมกับวิตามินอี โดยเฉพาะวิตามินซีนั้นสามารถช่วยลดผลกระทบจากความเครียดของการจับบรรจุ การขนส่ง และความร้อนในช่วงฤดูร้อนได้ดี

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของวิตามินซีต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันระหว่างการขนส่ง จากค่าการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว อัตราการหายใจ อุณหภูมิร่างกาย ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลสในซีรัม และการเปลี่ยนแปลงพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับ

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบ 4x3 แฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (4x3 Factorial Experiments in CRD) มี 2 ปัจจัย

ปัจจัยแรก คือ เป็นระดับของวิตามินซีมี 4 ระดับ ได้แก่ กลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm และปัจจัยที่สอง คือเป็นปัจจัยเนื่องจากระยะทางได้แก่ ระยะทางที่ 0, 50 และ 100 กิโลเมตร

แผนการเตรียมการทดลอง

1. การเตรียมโรงเรือน ในการทดลองครั้งนี้ใช้เป็นโรงเรือนแบบเปิด ทำความสะอาดโรงเรือนทั้งภายในและภายนอก ภายในโรงเรือนทำความสะอาดบริเวณพื้น ผัน เพดาน พ่นน้ำยาฆ่าเชื้อภายในคอก และผ่นภายนอกโรงเรือนให้ทั่ว รองพื้นกรงด้วยแกลบหนาประมาณ 2 นิ้ว ติดตั้งอุปกรณ์ให้น้ำ และอาหาร ติดหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่าง

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง ใช้ไก่เนื้อเนื้อสายพันธุ์การคำ เพศผู้ จำนวน 85 ตัว อายุ 35 วัน

3. การเตรียมอาหาร และน้ำสำหรับสัตว์ทดลอง ใช้อาหารที่มีระดับความต้องการของไก่เนื้อช่วงอายุ 3 - 6 สัปดาห์ มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ พลังงานใช้ประโยชน์ได้ 3,150 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมอาหาร และน้ำสำหรับสัตว์ทดลองนั้นจะทำการเสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm ตลอดการทดลอง

4. การเตรียมกล่องบรรจุสัตว์ทดลอง ใช้กล่องพลาสติกแบบมีฝาครอบ ขนาด 48×68.5 เซนติเมตร ทำการตรวจสอบความซำรุดของกล่องเพื่อป้องกันการหลุดลอดอวัยวะบางส่วนของไก่ จากนั้นทำความสะอาดกล่อง และพ่นด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแล้วผึ่งให้แห้ง

วิธีการทดลอง

1. นำไก่เนื้อเพศผู้ อายุ 35 วัน จำนวน 84 ตัว มาเลี้ยงในหน่วยทดลองที่จัดเตรียมไว้ แบ่งไก่ทดลองออกเป็น 12 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว ตัวละ 1 ตัว ให้ไก่รับอาหารและน้ำที่เสริมวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm แบบเต็มที จนกระทั่ง

ไก่อายุ 42 วันจากนั้นทำการงดอาหาร 8 ชั่วโมง ก่อนทำการขนส่ง

2. ก่อนการจะทำการเตรียมไก่ขนส่ง จะทำการชั่งน้ำหนัก วัดอุณหภูมิร่างกายของไก่ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดผ่านทางลำไส้ตรง (rectum) เป็นเวลา 1 นาที และทำการวัดอัตราการหายใจ โดยนับอัตราการหายใจเข้า - ออก ของไก่เนื้อเป็นเวลา 1 นาที

3. ทำการจับไก่ใส่กล่องที่เตรียมไว้ จำนวน 12 กล่อง โดยแต่ละกล่องจะมีไก่อยู่กล่องละ 7 ตัว จากนั้นแยกกล่องที่ไม่ได้ทำการขนส่งออก (0 กิโลเมตร) จำนวน 4 กล่อง คือ ไก่ที่เสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm ที่ 0 กิโลเมตร และนำกล่องที่บรรจุไก่แล้วขึ้นรถเพื่อทำการขนส่ง ซึ่งจะเหลือ 8 กล่อง ดังนี้ ไก่ที่เสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm ที่จะขนส่งไปในระยะทาง 50 กิโลเมตร 4 กล่อง และไก่ที่เสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm ที่จะขนส่งไปในระยะทาง 100 กิโลเมตร อีก 4 กล่อง จากนั้นจัดวางกล่องเป็นแนวเดียวกันที่ด้านหลังรถกระบะและเริ่มเดินทางขนส่งที่เวลา 08.30 น. ด้วยความเร็ว 60-70 กิโลเมตร/ชั่วโมง

4. ในระหว่างนั้นทำการเก็บตัวอย่างเลือดของไก่เนื้อโดยจะเก็บจากเส้นเลือดคอ (cervical vein) จากไก่เนื้อชุดที่ 1 คือก่อนการขนส่ง (ระยะทาง 0 กิโลเมตร) และเมื่อขนส่งไก่ครบระยะทางที่ 50 กิโลเมตร และ 100 กิโลเมตร ก็ทำเก็บเลือดเหมือนไก่ชุดที่ 1 จากนั้นนำเลือดใส่หลอดเก็บตัวอย่างเลือดโดยแบ่งเลือดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกจะเก็บในเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิด EDTA และส่วนที่สอง เก็บในหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิด EDTA แล้วเก็บในกระติกน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. เมื่อทำการเก็บตัวอย่างเลือดเสร็จเรียบร้อยแล้วจะทำการฆ่าโดยวิธีการดึงกระดูกคอ

ในไก่ชุดที่ 1 (ระยะทาง 0 กิโลเมตร) เพื่อทำการเก็บตัวอย่างตับโดยตัดชิ้นเนื้อและเก็บในน้ำยาฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์เพื่อนำไปดำเนินการตามกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ และตรวจเนื้อเยื่อใต้กล้องจุลทรรศน์ และเมื่อขนส่งไก่ครบระยะทางที่ 50 กิโลเมตร และ 100 กิโลเมตร ก็ทำฆ่าแล้วเก็บตัวอย่างตับเหมือนไก่ชุดที่ 1 โดยการให้ค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับจะแบ่งได้ดังนี้ 0 คะแนน คือเซลล์ตับมีสภาพปกติมีขอบเขตชัดเจนและไม่พบไขมัน, 1 คะแนน คือ พบมีไขมันแทรกอยู่บริเวณเซลล์ตับ, 2 คะแนน คือ เซลล์ตับเสื่อมสภาพมีขอบเขตไม่ชัดเจน และ 3 คะแนน คือ พบมีไขมันแทรกอยู่บริเวณเซลล์ตับ และเซลล์ตับมีการเสื่อมสภาพมีขอบเขตไม่ชัดเจน

6. นำเลือดในส่วนแรกจากข้อ 4 มาหาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลและลิมโฟไซต์โดยนำเลือดไปเสมียร์บนสไลด์ทิ้งไว้ให้แห้งในอุณหภูมิห้อง แล้วทำการย้อมด้วยสีย้อมชนิด จิมซา - ไรส์ (Giemsa-Wright's stain) จากนั้นนับแยกชนิดของเม็ดเลือดต่อ 100 เซลล์ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์

7. นำเลือดในส่วนที่สองจากข้อ 4 ไปปั่นแยกเม็ดเลือดจากพลาสมาเพื่อนำไปตรวจ ระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยวิธี TBARS ระดับเอนไซม์คาตาเลสในซีรัม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติทดสอบ F-test วิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way Analysis of Variance) ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเป็นคู่ตามวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SAS (1998)

ผลการศึกษา

น้ำหนักตัวทั้งหมด (Body weight)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm ในระหว่างการขนส่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าไก่เนื้อเมื่อเดินทางเป็นระยะทาง 50 และ 100 กิโลเมตร มีการสูญเสียน้ำหนักตัวสูงกว่าระยะทาง 0 กิโลเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 1)

อุณหภูมิร่างกาย (Body temperature)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm ในระหว่างการขนส่งที่ระยะทาง 0, 50 และ 100 กิโลเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 1)

อัตราการหายใจ (Respiratory rate)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าเมื่อเดินทางเป็นระยะทาง 50 และ 100 กิโลเมตร มีอัตราการหายใจของไก่เนื้อสูงกว่าที่ระยะทาง 0 กิโลเมตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 1)

มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0 และ 200 ppm ต่ำกว่าไก่กลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 600 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัมของไก่เนื้อเมื่อเดินทางเป็นระยะทาง 0, 50 และ 100 กิโลเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 1)

กิจกรรมของเอนไซม์คาตาเลส (Catalase activity)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm ในระหว่างการขนส่งที่ระยะทาง 0, 50 และ 100 กิโลเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 1)

Total antioxidant power (FRAP)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0, 200, 400 และ 600 ppm ในระหว่างการขนส่งที่

ระยะทาง 0, 50 และ 100 กิโลเมตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 1)

คะแนนพยาธิสภาพของตับ (Liver lesion scores)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 600 ppm มีคะแนนพยาธิสภาพของตับสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0 และ 200 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และคะแนนพยาธิสภาพของตับของไก่เนื้อเมื่อเดินทางเป็นระยะทาง 50 และ 100 กิโลเมตร สูงกว่าไก่เนื้อที่ระยะทาง 0 กิโลเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 1)

อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (H/L ratio)

ไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 600 ppm มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด

เฮทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์โดยเฉลี่ยต่ำกว่าไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 200 และ 400 ppm และไก่เนื้อที่ขนส่งในระยะทางที่ 50 และ 100 กิโลเมตรมีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์โดยเฉลี่ยสูงกว่าไก่เนื้อที่ขนส่งในระยะทาง 0 กิโลเมตร และไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 200 ppm ในระยะทาง 50 กิโลเมตร มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น และไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0 ppm ในระยะทาง 0 กิโลเมตร มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่น (Table 1)

Table 1. Effect of ascorbic acid on body weight, body temperature, respiratory rate, malondialdehyde level, catalase activity, FRAP, H/L ratio and liver lesion scores in broilers during transportation.

Parameters	Ascorbic acid (ppm in diet)				Distance (km)			P-value		
	00	2200	4400	6600	00	550	1100	AA	DD	AAxD
1. Body weight (kg)	-0.014	-0.019	-0.023	-0.014	0.000 ^a	-0.029 ^b	-0.025 ^b	ns	**	ns
2. Body temperature (°C)	+0.095	+0.667	+0.381	+0.333	0.000	+0.286	+0.821	ns	ns	ns
3. Respiratory rate (bpm)	+5.762	+5.333	+2.333	+6.810	0.000 ^a	+5.964 ^b	+9.214 ^b	ns	**	ns
4. MDA (µM)	3.546 ^b	4.051 ^b	4.234 ^{ab}	5.408 ^a	4.431	4.055	4.442	**	ns	ns
5. Catalase (Units/µL)	2.153	2.366	2.139	2.056	2.365	2.183	1.987	ns	ns	ns
6. FRAP (µM)	1129.65	1159.21	1262.75	1189.92	1147.38	1169.53	1239.24	ns	ns	ns
7. H/L ratio	1.241 ^{bc}	1.447 ^{ab}	1.683 ^a	1.014 ^c	1.102 ^b	1.396 ^a	1.540 ^a	**	**	**
8. Liver lesion scores	1.476 ^{bc}	1.000 ^c	1.952 ^{ba}	2.476 ^a	0.750 ^b	2.071 ^a	2.357 ^a	**	**	ns

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการทำการเสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm ในน้ำดื่มของไก่เนื้อ และทำการขนส่งที่ระยะทาง 0, 50 และ 100 กิโลเมตร พบว่า การขนส่งที่ระยะทาง 50 และ 100 กิโลเมตร มีผลทำให้อัตราการหายใจของไก่เนื้อเฉลี่ยสูงกว่า การขนส่งที่ระยะทาง 0 กิโลเมตร ซึ่งอัตราการหายใจ อุณหภูมิร่างกายเป็นตัวแปรของการเปลี่ยนแปลงในทางสรีรวิทยาที่สามารถบ่งบอกภาวะเครียดในระหว่างการขนส่งทางถนนได้ สอดคล้องกับ Minka และ Ayo²¹ ได้ทำการศึกษาการขนส่งบนถนนต่ออุณหภูมิร่างกาย, อัตราการหายใจ และอัตราการเต้นของหัวใจของนกกะจอกเทศอายุ 4 เดือน พบว่าในการขนส่งที่ระยะทาง 4 ชั่วโมงทำให้อัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเมื่อมีความเครียดเกิดขึ้นทันทีร่างกายก็ตอบสนองต่อความเครียดนั้นทันทีเช่นกันโดยมีการหลั่งฮอร์โมนความเครียดเพื่อเตรียมรับมือกับสภาวะกดดันต่างๆ ที่กำลังจะเกิดขึ้น ฮอร์โมนเหล่านั้นหรือที่เรียกว่า cortisol และ adrenaline ฮอร์โมน ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้จะหลั่งออกมาขณะที่เกิดการตกใจ, ตื่นเต้น ซึ่งจะทำให้ความดันโลหิตสูงและหัวใจเต้นเร็วขึ้น จากการทดลองเมื่อทำการชั่งน้ำหนักของไก่ที่ทำการขนส่ง พบว่าพบว่าไก่เนื้อเมื่อเดินทางเป็นระยะทาง 50 และ 100 กิโลเมตร มีการสูญเสียน้ำหนักตัวสูงกว่าระยะทาง 0 กิโลเมตร ซึ่ง Alexandre และคณะ²² กล่าวว่า การขนส่งที่มีระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้ไก่สูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น เนื่องจากการที่มีการสูญเสียอาหารและน้ำทั้งก่อนการขนส่งและในระหว่างการขนส่ง จากการทดลอง พบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัมของไก่กลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm สูงกว่ากลุ่มทดลอง 0 และ 200 ppm ซึ่งวิตามินซี (Ascorbic acid) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีจึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งวิตามินซีที่มีปริมาณมาก

เกินไปอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงโดยทำหน้าที่ตรงข้ามกับการเป็นแอนติออกซิแดนต์กลายเป็น pro-oxidant ได้ ดังนั้นการเสริมวิตามินซีระดับความเข้มข้นสูงสุดในการทดลองครั้งนี้ คือ ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm จึงมีผลทำให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัมโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น และจากการทดลองในครั้งนี้การเสริมวิตามินซีที่ระดับ 600 ppm ก็ทำให้ตับของไก่เนื้อเกิดความเสียหายมาก ซึ่งปริมาณ Malondialdehyde จะสูงขึ้นได้ เนื่องจากหลายสาเหตุ เช่น ภาวะที่ตับและไตถูกทำลาย²³ เกิดการตายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในร่างกาย ดังนั้นจึงเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำปริมาณ Malondialdehyde สูงขึ้น ส่วนอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์จากการทดลองครั้งนี้ พบว่าไก่เนื้อที่ขนส่งในระยะทางที่ 50 และ 100 กิโลเมตรมีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์โดยเฉลี่ยสูงขึ้น อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่เพิ่มสูงขึ้น นั้นแสดงให้เห็นว่าเกิดภาวะเครียด²⁴ สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดจะมีการกระตุ้นให้ร่างกายหลั่งฮอร์โมน corticosteroid ซึ่งส่งผลให้เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์เพิ่มสูงขึ้นด้วย²⁵ และจากการทดลองพบว่าไก่ที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 600 ppm มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์โดยเฉลี่ยต่ำกว่าไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 200 และ 400 ppm และไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 200 ppm ในระยะทาง 50 กิโลเมตร มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น และไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 0 ppm ในระยะทาง 0 กิโลเมตร มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Minka และ Ayo¹⁸ ได้

ทำการศึกษาผลการเสริมวิตามินซีต่อค่าโลหิตวิทยาและพฤติกรรมของไก่เนื้อในระหว่างขนส่งในช่วงฤดูร้อน โดยทำการเสริมวิตามินซีที่ 60 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว โดยละลายในน้ำที่ 2.5 มิลลิลิตร จะใช้เวลาเดินทาง 6 ชั่วโมง พบว่าหลังการขนส่ง มีอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้นสูงกว่าก่อนการขนส่ง ส่วนเสริมด้วยวิตามินซีที่ 60 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวก่อนการขนส่งไม่มีความแตกต่างกับหลังการขนส่ง และ Minka และ Ayo¹⁹ ที่ทำการเสริมวิตามินซีและวิตามินอีในไก่เนื้อที่เครียดจากการขนส่งในช่วงฤดูร้อน โดยทำการขนส่งเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าไก่ในกลุ่มเสริมด้วยวิตามินซีในขณะที่มีการจับและบรรจุไก่เพื่อเตรียมขนส่งเป็นเวลา 30 นาที ก่อนเริ่มทำการเดินทาง ทำให้อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของไก่ต่ำกว่าทุกกลุ่มการทดลอง และไก่ที่เสริมด้วยวิตามินซี, เสริมด้วยวิตามินอี และเสริมด้วยวิตามินซีร่วมกับวิตามินอีหลังการขนส่ง และ 3 ชั่วโมงภายหลังขนส่ง มีผลทำให้อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของทุกกลุ่มต่ำกว่ากลุ่มควบคุมวิตามินซีซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในการเป็นสารต้านออกซิเดชันและเป็นตัวป้องกันชัตขวางหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระดังนั้นจึงเป็นการป้องกันเซลล์เม็ดเลือดจากความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเช่นเดียวกันวิตามินซียังทำการยับยั้งการปล่อย corticosteroid ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่รู้จักกันในการทำละลายเซลล์ภูมิคุ้มกันอีกด้วย^{26,18,27} และผลจากการศึกษาค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับ พบว่า ไก่กลุ่มที่เสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm และการขนส่งในระยะทางที่ 100 กิโลเมตร มีผลทำให้ค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น เมื่อสัตว์ถูกขนส่งในระยะทางที่ใกล้ขึ้นหรือในระยะเวลานานๆ สัตว์จะอยู่ในสภาวะเครียดและจะ

กระตุ้นให้ร่างกายหลั่งฮอร์โมน catecholamine และ corticosteroid เพื่อกระตุ้นการสลาย glycogen ที่ตับมาใช้เป็นแหล่งสร้างพลังเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาวะเครียดที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง²⁸ และอย่างที่ไดกล่าวมาข้างต้นว่าวิตามินซีที่มีปริมาณมากเกินไปอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงโดยทำหน้าที่ตรงข้ามกับการเป็นแอนติออกซิเดนต์กลายเป็น pro-oxidant แล้ววิตามินซีก็สามารถนำไปสู่การเกิด lipid peroxidation ได้ เมื่อเกิด lipid peroxidation สูงขึ้นนั้นก็หมายถึงเซลล์มีการถูกทำลายเกิดความเสียหายของเซลล์ ดังนั้นการขนส่งที่มีระยะทางไกลขึ้นและเสริมด้วยวิตามินซีที่มีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น จึงทำให้ตับของไก่เกิดความผิดปกติ หรือเสียหายได้ ซึ่งสอดคล้อง วรพล เองวานิช²⁹ ที่ได้ทำการศึกษาผลของภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนและวิตามินซีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในไก่เนื้อ พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับ 200 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าคะแนนการเสื่อมของเซลล์ตับในไก่เนื้อเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับ Khalid และคณะ³⁰ ที่ทำการศึกษากผลของเสริมวิตามินซีในปริมาณสูงต่อภาวะเครียดทางพฤติกรรมต่อตับในหนู พบว่า การให้วิตามินซีในปริมาณต่ำ (50 mg/kg/day) และปริมาณกลาง (150 mg/kg/day) ไม่มีผลต่อตับแต่การให้วิตามินซีปริมาณสูง (500 mg/kg/day) ทำให้ตับเกิดความเสียหาย

สรุปผลการศึกษา

การสูญเสียน้ำหนักร่างกาย อัตราการหายใจ อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ และค่าคะแนนพยาธิสภาพตับสูงขึ้น ของไก่เนื้อที่มีการขนส่ง บ่งบอกได้ว่าการขนส่งในระยะ 50 และ 100 กิโลเมตรของการทดลองนี้สามารถทำให้ไก่เนื้อเกิดภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชันได้ ส่วนการ

เสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm สามารถลดภาวะเครียดได้ เนื่องจากไก่มีค่าอัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ต่ำที่สุด ในทางกลับกัน การเสริมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm กลับส่งผลทำให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัม และค่าคะแนนพยาธิสภาพของตับสูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. วรพล เองวานิช. ภาวะเครียดในสัตว์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2550;26(4),408-425.
2. Ali AS, Harrison AP and Jense JF. Effects of some ante-mortem stressors on perimortem and postmortem biochemical changes and tenderness in broiler breast muscle: A review. *World's Poult J Sci* 1999;55:403-411.
3. Sams AR. Meat quality during processing. *Poult Sci* 1999;78:798-803.
4. Weeks C. and Nicol C. *Poultry Handling And Transport*. CABI Publishing: New York; 2000;363-384.
5. Leheska D, Wulf M. and Maddock RJ. (2003). Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. *J Anim Sci* 2003;81:3194–3202.
6. Hansson I, Ederoth M, Andersson L, Gsholm IV and Olsson Engvall E. Transmission of *Campylobacter* spp. to chickens during transport to slaughter. *J Appl Microbiol* 2005;99:1149–1157.
7. Fazio E. and Ferlazzo A. Evaluation of stress during transport. *Vet Res* 2003;1:519–524.
8. Stanger KJ, Ketheesan N, Parker AJ, Coleman CJ, Lazzaroni SM. and Fitzpatrick LA. The effect of transportation on the immune status of Bosindicus steers. *J Anim Sci* 2005;83:2632–2636.
9. Perez MP, Palacio MP, Santolaria MC, Acena G, Chacon M, Gascon JH et al. Effect of transport time on welfare and meat quality in pigs. *Meat Sci* 2002;61:425–433.
10. Warriss PD, Pagazaurtundua A and Brown S N. Relationship between maximum daily temperature and mortality of broiler chickens during transport and lairage. *Brit Poult Sci* 2005;46:647–651.
11. Gosalvez LF, Averos X, Valdelvira JJ and Herranz A. Influence of season, distance and mixed loads on the physical and carcass integrity of pigs transported to slaughter. *Meat Sci* 2006;73:553–558.
12. Voslarova EB, Janackova L, Rubesova A, Kozak I, Bedanova L, Steinhauer and Vecerek V. Mortality rates in poultry species and categories during transport for slaughter. *Acta Vet* 2007;76:S101–S108.
13. Warriss PD, SC, Kestin SN, Brown TG, Knowles L.J. Wilkins, J.E. Edwards, S.D. Austin and Nicol CJ. The depletion of glycogen stores and indices of dehydration in transported broilers. *J Brit Vet* 1993;149:391-398.
14. Warriss PD, Knowles TG, Brown SN, Edwards JE, Kettlewell PJ, Mitchell MA and Baxter CA. Effects of lairage time on body temperature and glycogen reserves

- of broiler chickens held in transport modules. *Vet Record* 1999;45: 218-222.
15. ลีนา องอาจยุทธ และสมพงษ์ องอาจยุทธ. ระบบป้องกันอนุมูลออกซิเจนอิสระกับความเปราะบางของผิวเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง. *กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล*; 2550.
16. จารุวรรณ ไทยกกลาง, สุรียา สถาพร, วสันต์ ตั้งโกคานนท์, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ และธีระ ชีโวรินทร์. ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันกับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ. *คณะแพทยศาสตร์: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*; 2548.
17. เฉลียว ปิยะชน. *รู้สู้โรคโมเลกุลเพื่อชีวิต*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สุขภาพใจ; 2549.
18. Minka NS and Ayo JO. Haematology and behaviour of pullets transported by road and administered with ascorbic acid during the hot-dry season. *Vet Sci* 2008;85: 389-393.
19. Minka NS and Ayo JO. Modulating Role of Vitamins C and E against Transport-Induced Stress in Pullets during the Hot-Dry Conditions. *ISRN Vet Sci* 2011.
20. Minka NS And Ayo JO. Behavioral and rectal temperature responses of Black Harco pullets administered vitamins C and E and transported by road during the hot-dry season. *J jveb* 2010;5:134-144.
21. Minka NS And Ayo JO. Road transportation effect on rectal temperature, respiration and heart rates of ostrich (*Struthiocamelus*) chicks. *Vet arhiv* 2007;1:39-46.
22. Alexandre Oba, Mauricio de, Almeida Joao, Waiane Pinheiro, Elza louko Ida, Denis Fabricio, Marchi Adriana, Lourenço Soares and Massami Shimokomaki. The Effect of Management of Transport and Lairage Conditions on Broiler Chicken Breast Meat Quality and DOA (Death on Arrival). *Braz Arch Biol Technol* 2009;52: 205-211.
23. ปรากรกวิณ แฉ่งขจร. ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันเปรียบเทียบกับค่าเคมีในเลือด แมว. *คณะแพทยศาสตร์: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*; 2547.
25. Puvadolpirod PH and Thaxton JP. Physiology stress in chickens response parameters. *Poult Sci* 2000;76:363-369.
26. Altan O, Pabuccuoglu A, Altan A, Konyalioglu S and Bayraktar H. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *Br Poult Sci* 2003;44:545-550.
27. Nockels CF. "Antioxidants improve cattle immunity following stress". *Animal Feed Sci and Technol* 1996;1:59-68.
28. Puvadolpirod S and Thaxton JP. Model of Physiological Stress in Chick. *Poult Sci* 2000;20:(79):363-369.
29. วรพล เองวานิช. ผลของภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนและวิตามินซีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในไก่เนื้อ. *สาขาวิชาสัตวศาสตร์: มหาวิทยาลัยขอนแก่น*; 2547.
30. Khalid K, Abdul-Razzak, Karem H, Alzoubi, Salah A, Abdo, Wael M and Hananeh. High-dose vitamin C: Does it exacerbate the effect of psychosocial stress on liver Biochemical and histological study. *Reserved J etp* 2012;64:367-371.