ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ สัตวบาล

สาขา **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

Effect of Feeding Krill Meal on Astaxanthin Content of Egg Yolk and Layer Performance Fed Low Pigment Diet

นามผู้วิจัย นางสาวอุชุกร นาคพันธ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ยุวเรศ เรืองพานิช, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์สุกัญญา รัตนทับทิบทอง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์เนรมิตร สุขมณี, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

Effect of Feeding Krill Meal on Astaxanthin Content of Egg Yolk and Layer Performance Fed Low Pigment Diet

โดย

นางสาวอุชุกร นาคพันธ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุชุกร นาคพันธ์ 2556: ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ยุวเรศ เรืองพานิช, Ph.D. 78 หน้า

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ โดยใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown ที่อายุ 33 สัปดาห์ จำนวน 240 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง แต่ละกลุ่มมี 6 ซ้ำ ซ้ำละ 8 ตัว การทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ไก่ไข่ได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน 5 สูตร คือ อาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม) อาหารกลุ่มควบคุมที่มีมันสำปะหลัง 7.5 เปอร์เซ็นต์ (มีสารสีระดับต่ำ) และอาหารที่มีสารสีระดับต่ำเสริมด้วยคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการใช้มันสำปะหลัง 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง ส่งผลให้ระดับคะแนนสีของไข่แดงมีค่าลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และการเสริมคริลล์ป่นในสูตรอาหารที่มีมันสำปะหลัง 7.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ระดับคะแนนสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ตามระดับคริลล์ป่นที่เสริมในอาหาร นอกจากนี้พบว่าการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารส่งผลให้ค่าสีแดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ในขณะที่ค่าสีเหลืองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การใช้มันสำปะหลังที่ระดับ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารไก่ไข่นั้นไม่มีผลกระทบต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง ขณะที่การเสริมคริลล์ป่นส่งผลให้ปริมาณของแอสตาแซนทินในไข่แดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P=0.1433$) และปริมาณวิตามินเอในไข่แดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ตามระดับคริลล์ป่นที่เสริม อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำและการใช้คริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นทั้งในไข่แดงและซีรั่มของไก่ไข่

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Auchukorn Nakpun 2013: Effect of Feeding Krill Meal on Astaxanthin Content of Egg Yolk and Layer Performance Fed Low Pigment Diet. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technology), Major Field: Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal Science. Thesis Advisor:
Assistant Professor Yuwares Ruangpanit, Ph.D. 78 pages.

The objective of this study was to determine the effect of feeding krill meal on astaxanthin content of egg yolk and layer performance fed low pigment diet. Two hundred and forty, Lohmann Brown, laying hens, at 33 weeks of age, were divided into 5 dietary treatments. Each treatment consisted of six replications with eight laying hens per replication. The treatments were corn-soy basal diet (CS), CS with 7.5% cassava meal (Low pigment; LP) and LP with 1, 3 and 5% krill meal, respectively. The use of LP diet significantly decreased yolk color score when compared to that the CS group ($P<0.01$). Yolk color score of laying hen fed LP diets increased significantly with an increased in krill meal ($P<0.01$). The supplementation of krill meal (3 and 5%) in LP diet significantly increased redness ($P<0.01$) and decreased yellowness ($P<0.05$) of egg yolk. The use of cassava meal had no effect on astaxanthin content in egg yolk. Feeding higher levels of krill meal (3 and 5%) tended to increase astaxanthin content ($P=0.1433$) and significantly increased vitamin A content of egg yolk ($P<0.01$). However, there was no significant effect of using low pigment diet and krill meal on production performance, egg quality and lipid peroxidation in egg yolk and serum of laying hen.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุวเรศ เรืองพานิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสกสม อาตมางกูร และอาจารย์ ดร. สุกัญญา รัตนทับทิมทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนแนวทางการดำเนินชีวิต และขอกราบพระคุณ อาจารย์ สรณัฏฐ์ สิริสวย และ รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชัยวัฒนสิน ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทดลองในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณบริษัท มารีน ลีดเดอร์ จำกัด ประเทศไทย ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Krill meal พร้อมทั้งสนับสนุนเงินทุนสำหรับงานวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม พร้อมความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ ตลอดจน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เจ้าหน้าที่หน่วยวิเคราะห์วิจัยพฤษเคมี ฝ่ายปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ที่ให้คำแนะนำ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณคณะผู้บริหารบริษัท บิ๊ค เคมิคอล จำกัด ที่เล็งเห็นถึงความสำคัญและให้โอกาสสนับสนุนด้านการศึกษาเป็นอย่างดีรวมทั้งขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การอบรมสั่งสอน ให้โอกาสในการศึกษามาโดยตลอด รวมทั้งเป็นกำลังใจให้เสมอมา และขอกราบขอบพระคุณบูรพาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้จนทำให้ข้าพเจ้าได้สำเร็จการศึกษา คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

อุชุกร นาคพันธ์

พฤษภาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	31
อุปกรณ์	31
วิธีการ	36
ผลและวิจารณ์	42
สรุปและข้อเสนอแนะ	53
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	54
ภาคผนวก	62
ภาคผนวก ก ภาพและตารางผลการทดลอง	63
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	68
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1	สูตรโครงสร้างของแคโรทีนอยด์	6
2	แหล่งของแอสตาแซนทินจากธรรมชาติ	12
3	อนุมูลอิสระและสัญลักษณ์	22
4	ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง	33
5	ส่วนประกอบใน 1 กิโลกรัม ของพรีมิกซ์วิตามิน-แร่ธาตุสำหรับไก่ไข่	34
6	องค์ประกอบทางโภชนะของคริลล์ป่นที่ใช้ในการทดลอง	35
7	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์)	42
8	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน) และปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กก.	44
9	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่ออัตราการเลี้ยงรอด (เปอร์เซ็นต์) อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (HD) และอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (HH)	44
10	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อน้ำหนักฟองไข่และมวลไข่	45
11	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อองค์ประกอบของฟองไข่	46
12	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่	46
13	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อระดับสีของไข่แดง	48
14	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณแอสตาแซนทิน และวิตามินเอในไข่แดง	49
15	ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดง และซีรั่ม	52

ตารางผนวกที่

ก1	ข้อมูลอุณหภูมิภายในโรงเรือนไก่ไข่ตลอดการทดลอง	64

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของ hydrogenated carotenoid derivatives	5
2	โครงสร้างทางเคมีของ oxygenated carotenoid derivatives	6
3	การดูดซึมและการขนส่งแคโรทีนอยด์	8
4	ความสามารถของการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆในไข่แดง	9
5	โครงสร้างแอสตาแซนทิน	9
6	การสังเคราะห์แอสตาแซนทินจากเบต้าแคโรทีน	10
7	แหล่งของแอสตาแซนทิน (คริลล์)	12
8	โครงสร้างของแอสตาแซนทินมีผลต่อคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น	14
9	โครงสร้างของไข่แดงแสดงแถบสีเข้มและสีจางของไข่แดง	16
10	ทฤษฎีของการสะสมสารสีในไข่แดง	17
11	ระยะเวลาการสะสมสารสีชนิดต่างๆ ในไข่แดง	18
12	ระยะเวลาการสะสมแอสตาแซนทินในไข่แดง	19
13	การสะสมสารสีในไข่แดงที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	20

ภาพผนวกที่

ก1	อุณหภูมิภายในโรงเรือนไก่ไข่ตลอดการทดลอง	67

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

Effect of Feeding Krill Meal on Astaxanthin Content of Egg Yolk and Layer Performance Fed Low Pigment Diet

คำนำ

ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ปริมาณมากในสูตรอาหารไก่ไข่ เนื่องจากเป็นแหล่งของพลังงานและสารสีที่ดี อย่างไรก็ตามจากภาวะความผันผวนของสภาพดินฟ้าอากาศที่ส่งผลให้ผลผลิตข้าวโพดในบางช่วงลดลง อีกทั้งในปัจจุบันมีการนำข้าวโพดไปใช้ในการผลิตพลังงานทดแทนในปริมาณที่สูง ส่งผลทำให้ปริมาณข้าวโพดที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตอาหารไก่ไข่ลดลง การใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่นับว่าเป็นทางเลือกที่ดีเนื่องจากเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หาได้ง่าย มีราคาถูก แต่พบว่ามันสำปะหลังมีปริมาณสารสี เช่น แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) และแคโรทีน (carotene) ในปริมาณที่ต่ำ จึงส่งผลให้สีของไข่แดงมีสีเหลืองซีด และจำเป็นต้องเสริมแหล่งสารสีในสูตรอาหารไก่ไข่ เพื่อเพิ่มระดับสีของไข่แดงให้เป็นที่ยอมรับของตลาดและผู้บริโภค

สารสีที่นิยมเสริมในอาหารสัตว์อยู่ในกลุ่มแคนตาแซนทิน (canthaxanthin) และซิตรานาแซนทิน (citranaxanthin) ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์และมีราคาค่อนข้างสูง ประกอบกับในปัจจุบันสหภาพยุโรปได้กำหนดขีดจำกัดของปริมาณการตกค้างของสารแคนตาแซนทินในอาหาร (Commission Regulation, EC, No 755/2008) ส่งผลให้นักวิจัยจำนวนมากทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้แหล่งสารสีจากธรรมชาติเพื่อมาใช้ทดแทนสารสีที่ได้มาจากการสังเคราะห์

คริลล์ป่น (krill meal) เป็นวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งที่สำคัญ เนื่องจากคริลล์เป็นสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน หรือกุ้งขนาดเล็ก และพบว่ามีสารสีจากธรรมชาติ คือ แอสตาแซนทินในปริมาณที่สูงโดยเป็นสารสีที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับแคนตาแซนทิน ดังนั้นการใช้คริลล์ป่นที่มีแอสตาแซนทินเป็นส่วนประกอบในอาหารไก่ไข่จึงถือได้ว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการเพิ่มระดับสีในไข่แดง ด้วยเหตุนี้จึงนำมาซึ่งงานวิจัยเพื่อศึกษาผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงและสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

3. เพื่อศึกษาผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในไข่แดงและซีรั่มของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่ของไทยในปัจจุบันเป็นระบบอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวในทางธุรกิจอย่างกว้างขวาง ส่งผลต่อความต้องการบริโภคผลผลิตและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไข่ไก่มีปริมาณมากขึ้น ในการผลิตจำเป็นต้องทำให้คุณภาพของผลผลิตตรงกับความต้องการของผู้บริโภค โดยเฉพาะสีของไข่แดง แม้ว่าสีของไข่แดงจะไม่เกี่ยวข้องกับคุณภาพไข่ แต่มีความสำคัญต่อการเลือกซื้อไข่ไก่ของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก โดยทั่วไปผู้บริโภคนิยมและพอใจสีไข่แดงที่มีสีเหลืองอมส้ม (เบอร์ 10) หากสีของไข่แดงมีสีเหลืองซีดจะส่งผลกระทบต่อการยอมรับของผู้บริโภค

การใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบสำหรับอาหารไก่ไข่สามารถใช้ทดแทนข้าวโพดได้สูงถึง 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและในเรื่องของคุณภาพไข่ แต่ด้วยข้อจำกัดของมันสำปะหลังที่มีปริมาณสารให้สีต่ำ (อุทัยและคณะ, 2540) ได้แก่ สารประเภทแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ รวมทั้งสารแซนโทฟิลล์ ดังนั้นสูตรอาหารที่ใช้มันสำปะหลังจึงมีปริมาณสารให้สีรวมทั้งสารแซนโทฟิลล์น้อยตามไปด้วย เมื่อมีการนำมันสำปะหลังมาใช้ในอาหารไก่กระทงและไก่ไข่ ซึ่งต้องการสารแซนโทฟิลล์ในอาหารเพื่อใช้สะสมเป็นสารสีเหลืองที่ผิวหนังไก่กระทงหรือสารสีเหลืองออกแดงในไข่แดงของไข่ไก่ จึงจำเป็นต้องมีการเสริมสารแซนโทฟิลล์ในสูตรอาหารสัตว์ปีกที่ใช้มันสำปะหลังในระดับสูงเพื่อให้อาหารมีปริมาณสารให้สีเพียงพอแก่ความต้องการ ถ้าหากไก่ไข่ได้รับอาหารที่มีสารแซนโทฟิลล์น้อยกว่าความต้องการหรือไม่มีการให้สารแซนโทฟิลล์เพิ่มในอาหาร จะส่งผลทำให้ไข่แดงมีสีซีด ทั้งนี้เนื่องจากภายในร่างกายของสัตว์ปีกไม่สามารถสังเคราะห์สารแซนโทฟิลล์ขึ้นมาเองได้ (Fox and Vevers, 1960) โดยทั่วไปอุตสาหกรรมการผลิตไก่ไข่ได้ให้ความสำคัญกับสีของไข่แดง ซึ่งผู้บริโภคนิยมและพึงพอใจสีไข่แดงที่มีสีเหลืองอมส้ม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพื้นที่แต่ละประเทศที่จะนิยมสีของไข่แดงแตกต่างกันออกไป ดังนั้นทุกครั้งที่มีการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ จึงมีการแนะนำว่าควรมีการเสริมสารให้สีควบคู่ไปด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แหล่งของสารให้สีในอาหารไก่ไข่

สารให้สีที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์ได้มาจาก 2 แหล่ง คือ (Belyavin and Marangos, 1980; Latacha, 1990)

1. สารให้สีจากธรรมชาติ สามารถพบได้ทั้งในพืชและในตัวสัตว์ โดยที่พบในพืชเป็น สารสีเหลืองและสีแดงอมส้ม ได้แก่ ดอกดาวเรือง ใบกระถิน ใบมันสำปะหลังป่น สาหร่าย เมล็ดข้าวโพด เป็นต้น และสำหรับสารให้สีในตัวสัตว์ เช่น ขนนกบางชนิด (นกฟลามิงโก้) และส่วนเปลือกของสัตว์น้ำพวกครัสเตเซียน ได้แก่ ปู คริลล์ และแกลบกุ้ง เป็นต้น

2. สารให้สีจากการสังเคราะห์ เป็นสารแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (synthetic carotenoids หรือ synthetic pigments) ในปัจจุบันที่นิยมใช้กันอยู่คือ สารกลุ่มอะโปแคโรโทนิคแอซิคเอทธิลเอสเทอร์ สารกลุ่มแคนตาแซนทิน และสารกลุ่มซิตรานาแซนทิน ซึ่งนิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่

แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

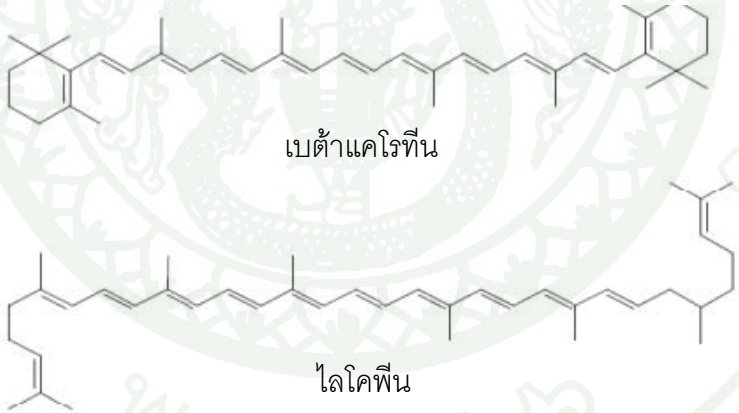
แคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบ terpenoids ที่พบมากในธรรมชาติ มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในไขมันและตัวทำละลายอินทรีย์ มีช่วงสีที่สามารถมองเห็นได้ในช่วงกว้างที่เห็นได้ชัดเจนที่สุดคือสีเหลือง ส้ม และแดง (Zeb and Mehmood, 2004) สามารถพบได้ทั้งในพืชและในสัตว์ ซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกันไป สารแคโรทีนอยด์ในสัตว์จะพบอยู่ตามส่วนของเปลือกของกุ้ง แมลง ปลา และขนของสัตว์ปีก หรือในอาหารบางชนิด เช่น น้ำ นม เนย และไข่แดง เป็นต้น (Bauernfeind, 1981) แคโรทีนอยด์ในพืชจะดูดกลืนพลังงานแสงเพื่อส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง จึงปกป้องพืชจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นอันเนื่องจากแสง (photo oxidation) และยังป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ (free radical) และสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ที่ลำไส้เล็ก ตับ และไต จัดเป็นโปรวิตามินเอ พบในผัก ผลไม้สีเขียว เหลือง หรือส้มแดง เช่น แครอท ฟักทอง มะละกอสุก มะเขือเทศ ใบคะน้า ตำลึง (Britton, 1995) แคโรทีนอยด์ที่พบในธรรมชาติมีโครงสร้างแตกต่างกันมากกว่า 700 ชนิด (Ong and Tee, 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โครงสร้างทางเคมีและชนิดของแคโรทีนอยด์

โครงสร้างโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 8 หน่วย ที่เกิดพันธะโควาเลนต์กัน และทำให้เกิดคอนจูเกชั่นของพันธะคู่เป็นสายยาว (extensive conjugated double bond) ซึ่งระบบคอนจูเกชั่นนี่เองที่ทำให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดกลืนพลังงานแสงอัลตราไวโอเลตและแสงสีขาว และทำให้แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีสีและมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidant) โมเลกุลของแคโรทีนอยด์อาจเป็นเส้นตรงดังที่พบในไลโคพีน (lycopene) หรือเป็นวงแหวน (ring) ที่ปลายโซ่ของโมเลกุลดังที่พบในเบต้าแคโรทีน (beta carotene) ซึ่งสามารถจำแนกแคโรทีนอยด์ได้เป็น 2 กลุ่ม (Simpson *et al.,* 1989) คือ

กลุ่มที่ 1 คือ hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีน เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ทำให้เป็นสารไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน ตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน และไลโคพีน เป็นต้น (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ hydrogenated carotenoid derivatives

ที่มา: Simpson *et al.* (1989)

กลุ่มที่ 2 คือ oxygenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแซนโทฟิลล์ เป็นกลุ่มของอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl-) อีทอกซิล (ethoxy-) คีโต (keto-) หรืออีพอกซี (epoxy-) และกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ซึ่งมีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จึงมีขั้วมากกว่าและละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์กลุ่มแรก ตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ลูทีน ซีแซนทิน และแอสตาแซนทิน เป็นต้น (ภาพที่ 2)

ลูทีน

ซีแซนทิน

แอสตาแซนทิน

ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ oxygenated carotenoid derivatives

ที่มา: Simpson *et al.* (1989)

จากการศึกษาของนิรันดร และโชค (2535) พบว่า แคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในพืชนั้นเป็นสารที่ให้สีเหลืองจนถึงแดง ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของสูตร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สูตรโครงสร้างของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์	สูตรทางเคมี	สี	แหล่งที่พบ
Capsanthine	$C_{40}H_{56}O_3$	ส้ม	พริก
Lutein	$C_{40}H_{56}O_2$	เหลือง	อัลฟาฟ่า ใบกระถินป่น โปรตีนจากข้าวโพด
Zeaxanthin	$C_{40}H_{56}O_3$	เหลืองอมส้ม	ดาวเรือง
Cryptoxanthin	$C_{40}H_{56}O$	เหลืองอมส้ม	ข้าวโพด อัลฟาฟ่า

ที่มา: นิรันดร และโชค (2535)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การดูดซึมและการขนส่งแคโรทีนอยด์

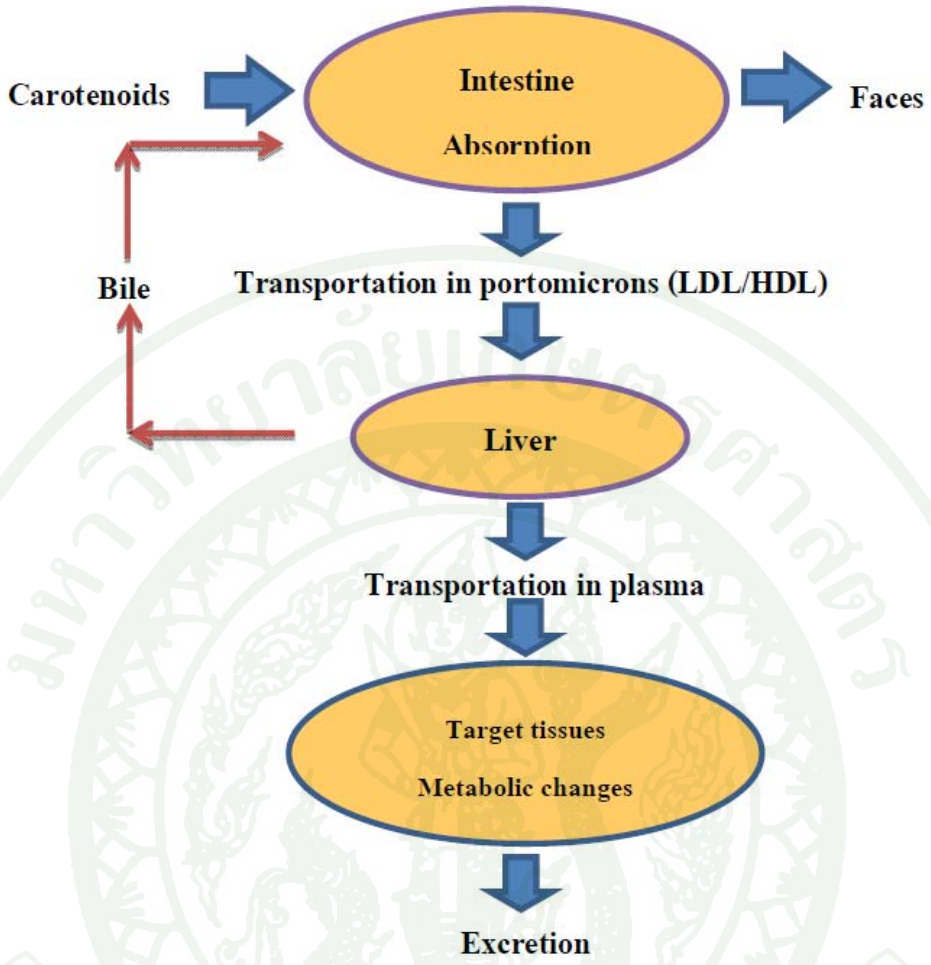
แคโรทีนอยด์ถูกสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อในส่วนต่างๆ ของร่างกาย และเกี่ยวข้องกับการทำงานของเมแทบอลิซึมของไขมัน (lipid metabolism) มีความผันแปรเป็นอย่างมากในร่างกายสัตว์ การสะสมสารสีในร่างกายหรือการกำจัดสารสีผ่านทางไข่แดงหลังจากเกิดการดูดซึมไม่ได้เกิดที่ตัวสัตว์ ดังภาพที่ 3 แต่ถูกควบคุมโดยปริมาณสารแซนโทฟิลล์ที่สัตว์กินหรือฉีดเข้าไปในร่างกาย โดยทั่วไปสัตว์ปีกจะดูดซึมแซนโทฟิลล์ได้ดี แต่สัตว์ปีกบางชนิด เช่น นกฟลามิงโก้ มีลักษณะพิเศษสามารถดูดซึมแคโรทีนได้ดีเช่นกัน โดยที่ประสิทธิภาพการดูดซึมแคโรทีนอยด์นั้นขึ้นอยู่หลายปัจจัย และการดูดซึมจะเกิดขึ้นภายในลำไส้เล็กเป็นหลัก (ภาพที่ 3)

การดูดซึมและการขนส่งแคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ 1) การย่อยอาหาร 2) การสร้างไมเซลล์ 3) การดูดซึมแคโรทีนอยด์ และ 4) การขนส่งแคโรทีนอยด์โดยผ่านระบบน้ำเหลือง แต่ระบบน้ำเหลืองในสัตว์ปีกยังไม่พัฒนา ดังนั้นแคโรทีนอยด์จะถูกส่งโดยตรงไปยังตับและเนื้อเยื่อต่างๆ ในรูปสารประกอบ portomicron (Surai *et al.,* 2001; Eiichi and Nagao, 2011)

การดูดซึมแคโรทีนอยด์ในสัตว์ปีก เริ่มจากการย่อยอาหารที่บริเวณกระเพาะบด จากนั้นแคโรทีนอยด์จะรวมตัวกับไขมันที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น และถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) และบางครั้งมีการดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนท้าย (ileum) เป็นการดูดซึมแบบ passive diffusion ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดจากการสร้างไลโปโปรตีนที่เซลล์ลำไส้เล็กเป็นตัวพาแคโรทีนอยด์เข้าสู่กระแสเลือดและถูกดูดซึมเข้าทาง hepatic portal vein ซึ่งแคโรทีนอยด์ถูกลำเลียงเข้าสู่ portal vein ไปยังตับและเข้าสู่ hepatic vein ในรูปที่เรียกว่า portomicron ซึ่งประกอบไปด้วย แคโรทีนอยด์ ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล อะโปโปรตีน (เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่รับส่งสัญญาณ) และวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน จากนั้นจะถูกลดขนาดโดย lipoprotein lipase (LPL) และแคโรทีนอยด์จะถูกส่งไปสะสมยังอวัยวะเป้าหมาย (Surai *et al.*, 2001; Eiichi and Nagao, 2011)

ในสัตวปีกจะมีการสะสมแคโรทีนอยด์ตามเนื้อเยื่อตับ ผิวหนัง และเนื้อเยื่อไขมัน สัตว์ปีกสามารถสะสมได้ในปริมาณสูงในทุกๆ เนื้อเยื่อ เช่น ผิวหนัง ขน เนื้อเยื่อไขมันของไข่แดง แคโรทีนอยด์ที่ถูกดูดซึมนั้นสะสมได้ทั้งสองกลุ่ม และพบว่า แซนโทฟิลล์เป็นแคโรทีนอยด์หลักที่พบที่ผิวหนัง เนื้อเยื่อ ไขมัน และไข่แดง ในขณะที่สารเบต้าแคโรทีนพบว่าอยู่ที่เรตินาของนัยน์ตาและตับของสัตว์ปีก แคโรทีนอยด์ที่เปลี่ยนรูป (esterifiled carotenoids) พบว่าอยู่ที่ผิวหนัง สำหรับไข่แดงนั้นพบแคโรทีนอยด์อิสระเป็นส่วนใหญ่ (Allen, 1987)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



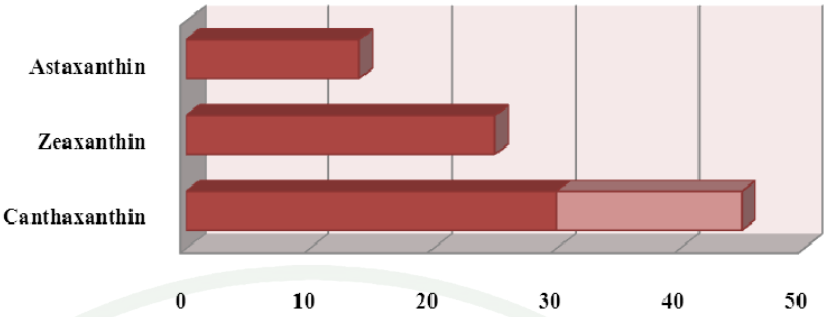
ภาพที่ 3 การดูดซึมและการขนส่งแคโรทีนอยด์ (เบต้าแคโรทีน)

ที่มา: Allen (1987)

สัดส่วนความสามารถของการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในไข่แดง

ประสิทธิภาพของการสะสมแคโรทีนอยด์ในไข่แดง มีสัดส่วนที่แตกต่างกันออกไป เช่น ประสิทธิภาพการสะสมในไข่แดงของแคนตาแซนทินมีค่าประมาณ 30-45 เปอร์เซ็นต์ ซีแซนทิน 25 เปอร์เซ็นต์ และแอสตาแซนทิน 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Hencken, 1992) ในส่วนของการขับทิ้งของแคโรทีนอยด์ของแอสตาแซนทิน ซีแซนทิน และแคนตาแซนทิน นั้นมีค่าเท่ากับ 70, 70 และ 45-50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



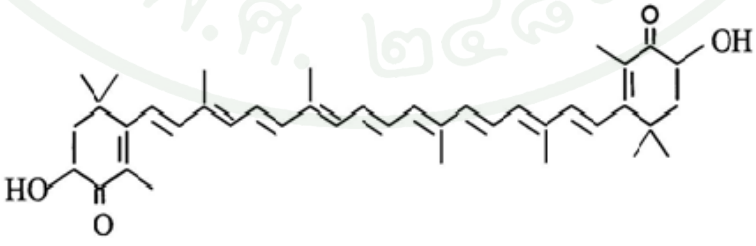
	Canthaxanthin	Zeaxanthin	Astaxanthin
% การสะสมแคโรทีนอยด์ในไข่แดง	30	25	14
% ความแปรปรวนของการสะสมแคโรทีนอยด์ในไข่แดง	15	0	0

ภาพที่ 4 ความสามารถของการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในไข่แดง

ที่มา: Hencken (1992)

แอสตาแซนทิน (astaxanthin)

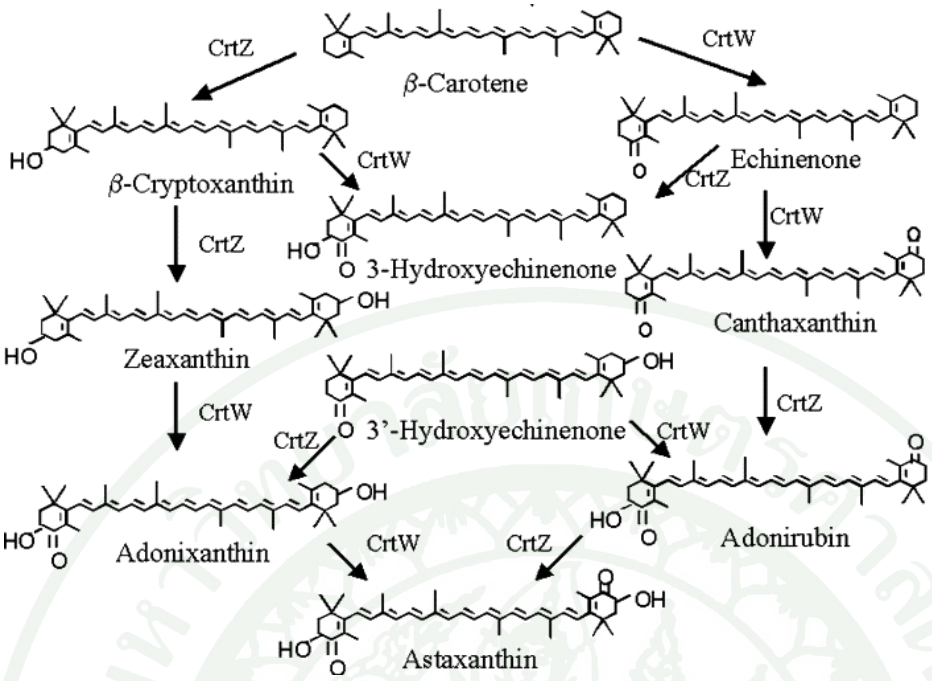
แอสตาแซนทิน (ภาพที่ 5) หรือ 3, 3'-dihydroxy, β, β, carotene-4, 4'-dione (CAS 471-53-4) จัดอยู่ในกลุ่มแซนโทฟิลล์ ตระกูลแคโรทีนอยด์ (xanthophyll group, carotenoid family) พบโดยทั่วไปในธรรมชาติ เป็นรงควัตถุสีแดง โดยเกิดจากการออกซิไดส์เบต้าแคโรทีนไปเป็นเอคินีโนน (echinenone) และแคนตาแซนทิน หลังจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นแอสตาแซนทิน ตามลำดับ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 5 โครงสร้างแอสตาแซนทิน

ที่มา: Plander (1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 การสังเคราะห์แอสตาแซนทินจากเบต้าแคโรทีน

ที่มา: Fraser *et al.* (1997)

เนื่องจากแอสตาแซนทินถูกจัดเป็นแคโรทีนอยด์กลุ่มแซนโทฟิลล์ ในโครงสร้างโมเลกุลมีอะตอมของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย และเป็นสารที่ละลายน้ำได้ในธรรมชาติ แอสตาแซนทินจะผลิตขึ้นโดยพืชและสาหร่ายเป็นส่วนใหญ่ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีกไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เองผ่านกระบวนการ de novo synthesis จึงต้องได้รับผ่านการบริโภคอาหารจำพวกพืชหรือสาหร่าย (Britton, 1995) ในระบบนิเวศทางทะเลภายในห่วงโซ่อาหาร (food chain) แอสตาแซนทินจะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยสาหร่ายขนาดเล็กหรือแพลงก์ตอนพืชซึ่งจัดเป็นผู้ผลิตขั้นต้น ต่อมาสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้จะถูกบริโภคต่อไปโดยแพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) แมลง หรือสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียน ซึ่งสัตว์เหล่านี้จะมีการสะสมแอสตาแซนทินต่อไป ตัวอย่างเช่น ปลากลุ่ม salmonoids จะได้รับแอสตาแซนทินจากการกินสัตว์ทะเลขนาดเล็กที่เรียกว่า คริลล์ และสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นต้น (Grung, 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แหล่งของแอสตาแซนทิน

แอสตาแซนทินนั้นสามารถพบได้จากหลายแหล่ง ทั้งมาจากแหล่งธรรมชาติ (ตารางที่ 2) และการสังเคราะห์ ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มได้ดังต่อไปนี้ (Goodwin, 1984; Johnson and Schroeder, 1995)

1. จากการสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางเคมี ในปัจจุบันได้มีการผลิตแอสตาแซนทินขึ้นมาเพื่อการค้ากันอย่างแพร่หลาย โดยการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาแซลมอน แอสตาแซนทินที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีนั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน จึงทำให้ราคาแพงมาก และที่สำคัญคือสัตว์จะดูดซึมได้ไม่ดีเท่ากับแคโรทีนอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ

2. จากธรรมชาติ ซึ่งสามารถพบได้จากหลายๆแหล่ง (ตารางที่ 2) ได้แก่

2.1 แหล่งจากสัตว์ แอสตาแซนทินมีอยู่ในปีกและตาของแมลงจำพวกตั๊กแตน กุ้ง และ คริลล์ (ภาพที่ 7) เป็นต้น สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์แอสตาแซนทินได้ แต่สามารถเปลี่ยนแคโรทีนอยด์ที่บริโภคเข้าไปให้เป็นวิตามินเอ หรือดูดซึมได้จากอาหารที่กินเข้าไป และนำไปสะสมไว้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายได้ ในสัตว์จำพวกครัสเตเชียน พบบริเวณเปลือก ระบบสืบพันธุ์ ระบบย่อยอาหาร และไข่ ส่วนดาวทะเลจะมีการสะสมแอสตาแซนทินจำนวนมากที่เปลือก ในปลา แอสตาแซนทินจะมีการสะสมมากที่ผิวหนังและเกล็ดของปลาทอง ส่วนปลาแซลมอน และปลาเทราท์จะสะสมมากในเนื้อทำให้เห็นเนื้อเป็นสีส้มแดง และบางครั้งจะพบในตับและน้ำมันของปลาวาฬ ในนกจะมีการสะสมแอสตาแซนทินที่ขน เช่น นก สการ์เลต ไอบีส ฟลามิงโก้ ส่วนไก่จะสะสมที่บริเวณผิวหนัง และตา

2.2 ยีสต์และรา แอสตาแซนทินในยีสต์สกุล *Peniophora (Hymeno myeetes) Phaffia rhodozyma* คือสายพันธุ์เดียวของยีสต์ที่สามารถสร้างแอสตาแซนทินได้

2.3 แบคทีเรียชนิดที่ผลิตแอสตาแซนทิน ได้แก่ *Mycobacterium lacticola, Brevibacterium spp. (Halobacteria salinarium)* แหล่งจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอสตาแซนทินได้ ดังนี้ *Ankistrodesmus braunii, Euglena Saguiana, Euglena rubina, Chlorella fusa, Chlorella zofingiensis, Chlamydomonas nivalis, Neospongiococcum spp., Neochloris wimmeri, Spongiochloris typical* และ *Haematococcus spp*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 7 แหล่งของแอสตาแซนทิน (คริลล์)

ที่มา: Plander (1992)

ตารางที่ 2 แหล่งของแอสตาแซนทินจากธรรมชาติ

แอสตาแซนทินจากแหล่งธรรมชาติ	**ความเข้มข้นของแอสตาแซนทิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)**
ปลาแซลมอล (salmon)	5
แพลงก์ตอน (plankton)	60
กุ้งฝอย/เคย (antarctic krill)	120
กุ้งอาร์กติก (arctic shrimp)	1,200
Phaffia yeast หรือ *Phaffia rhodozyma*	8,000
Haematococcus pluvialis	40,000

ที่มา: Goodwin (1984), Visser *et al*. (2003)

บทบาทของแอสตาแซนทิน

1. เป็นสารให้สีกับสัตว์ โดยแอสตาแซนทินเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีชมพูถึงแดงในเนื้อเยื่อสัตว์ชนิดต่างๆ ในปลากลุ่ม salmonoids เช่น แซลมอนและเทราท์ สัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียน เช่น กุ้ง กั้ง และปู แต่เนื่องจากรงควัตถุในอาหารที่มีอยู่ตามธรรมชาติมีอยู่อย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

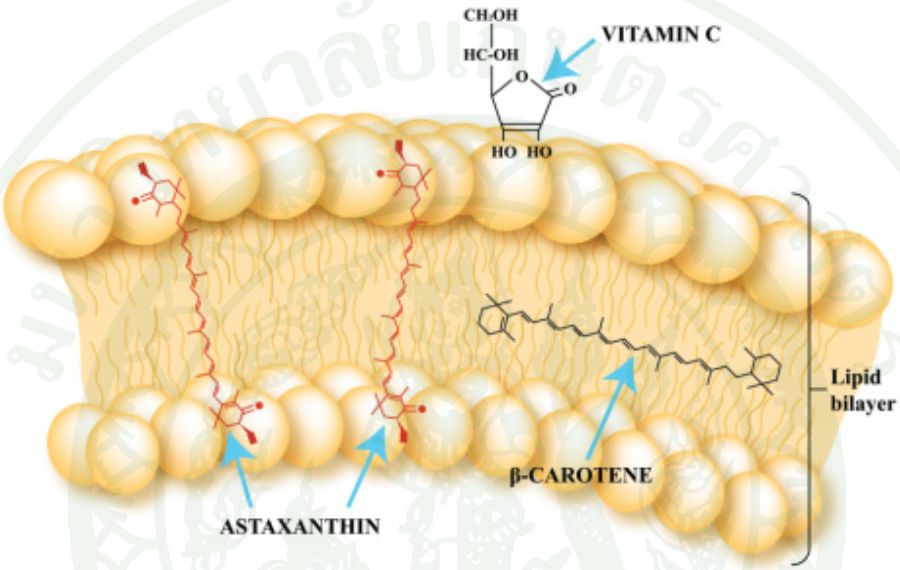
จำกัด จึงทำให้สีสันของเนื้อสัตว์เหล่านี้ซีดจางไม่สวยงามและขายได้ในราคาต่ำ ผู้เลี้ยงนิยมใช้แอสตาแซนทินเติมลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของสารสี จึงช่วยเพิ่มสีสันของปลาและกุ้งให้สวยงามและขายได้ในราคาสูง (Lorenz and Cysewski, 2000) และในอุตสาหกรรมสัตว์ปีกได้มีการทดลองใช้แอสตาแซนทินผสมลงในอาหารสำหรับเลี้ยงไก่ร่วมกับลูทีน พบว่าช่วยเพิ่มอัตราการผสมพันธุ์ ลดอัตราการตาย ลดการติดเชื้อจากแบคทีเรีย *Salmonella* ในไข่ และไข่แดงที่ได้มีสีเหลืองเข้มขึ้น (Marusich and Bauernfeind, 1981) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับไข่ ทำให้ไข่มีรสชาติดี และทำให้ไข่มีอายุการเก็บ (shelf life) ที่ยาวนานยิ่งขึ้น รวมทั้งทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่มีสีสันสวยงามน่ารับประทาน (Akiba *et al.,* 2001)

2. เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยการทำหน้าที่เป็นตัวต่อต้าน (scarvenger) อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นตัวกำจัด (quencher) singlet oxygen หรือ triplet oxygen เพื่อหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าแอสตาแซนทินมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงสุดเมื่อเทียบกับสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากแอสตาแซนทินอยู่ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ ซึ่งมีวิถีสังเคราะห์ทางชีวภาพบางส่วนร่วมกับเบต้าแคโรทีน ดังนั้นสารทั้งสองชนิดจึงมีโครงสร้างเป็นสายโพลิอีน ซึ่งมีความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ แอสตาแซนทินเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มย่อยของแซนโทฟิลล์ ทั้งนี้เนื่องจากมีหมู่คีโตและไฮดรอกซีจับกับวงแหวนไอโซพรีน จึงทำให้แอสตาแซนทินสามารถปรับตัวเองอยู่ได้ทั้งส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิก (ชั้นน้ำ) และไฮโดรโฟบิก (ชั้นไขมัน) ได้อย่างเหมาะสม จึงมีคุณสมบัติที่เหนือกว่าในการป้องกันผนังเซลล์แบบ lipid bilayer จากปฏิกิริยาเพอร์รอกซิเดชั่น ต่างกับเบต้าแคโรทีนจะอยู่ได้เฉพาะส่วนที่เป็นชั้นไขมันและวิตามินซีจะอยู่ได้เฉพาะส่วนที่เป็นชั้นน้ำ (ภาพที่ 8) ในการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นของแคโรทีนอยด์พบว่า แอสตาแซนทินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นมากกว่าแคนตาแซนทิน เบต้าแคโรทีน ซีแซนทิน ลูทิน และวิตามินอี สังเคราะห์ จึงได้รับสมญาณนามว่า “the natural powerful antioxidant known in the world” จากรายงานการวิจัยของ Nishigaki *et al.* (1994) พบว่าแอสตาแซนทินมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเพอร์รอกซิล (peroxyl radical) ที่เหนี่ยวนำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในไมโตคอนเดรียของหนูได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 100 เท่า

3. เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ โดยแคโรทีนอยด์ 1 โมเลกุล สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ 2 โมเลกุล โดยการทำงานของเอนไซม์ 15,15' dioxygenase ในผนังลำไส้เล็กและเปลี่ยนแอสตาแซนทินให้อยู่ในรูปของเรตินอล จากนั้นจะมีการเคลื่อนที่ไปตามท่อน้ำเหลือง (lymp duct) และสะสมไว้ที่ตับ ซึ่งต่อมาจะถูกออกซิไดส์ไปเป็นกรดเรติโนอิค (retinoic

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

acid) และสามารถถูกรีดิวซ์เป็นเรตินอล (retinal) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ แคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากเบต้าแคโรทีนจะมีความสามารถในการเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้เช่นกัน แต่น้อยกว่าเบต้าแคโรทีน โดยแคโรทีนอยด์ 1โมเลกุลสามารถเปลี่ยนเป็นเรตินอล 1 โมเลกุล (Bauernfeind, 1981) เมื่อแคโรทีนอยด์สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอในร่างกายของสัตว์ จะสูญเสียคุณสมบัติของการให้สีไปทันที (Henchen, 1992)



ภาพที่ 8 โครงสร้างของแอสตาแซนทินมีผลต่อคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

ที่มา: Nishigaki *et al.* (1994)

ส่วนประกอบในไข่แดง

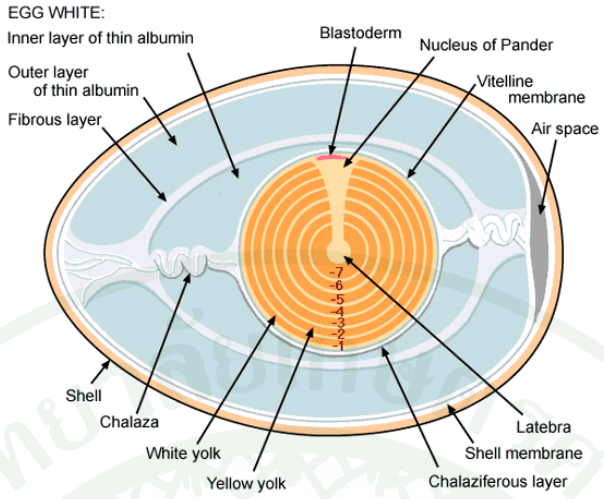
สัดส่วนของน้ำหนักไข่ทั้งฟอง 1 ฟอง จะมีไข่แดงมีอยู่ประมาณ 31 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ในไข่แดงประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ เช่น โปรตีน 15.7-16.6 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 31.8-35.5 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 0.2-1 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 1.1 เปอร์เซ็นต์ คือ แร่ธาตุต่างๆ เช่น โซเดียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม โพแทสเซียม เป็นต้น ที่สำคัญคือ สีของไข่แดงส่วนใหญ่เป็นแซนโทฟิลล์ สังเกตได้จากสีชีดมากจนกระทั่งมีสีเข้ม โดยมีระดับสีของไข่แดงตั้งแต่เบอร์ 1-15 และในปัจจุบันนิยมใช้ Roche Yolk Color Fan เป็นอุปกรณ์ในการวัดค่าสีของไข่แดงถูกกำหนดโดยความนิยมของผู้บริโภค จะเห็นว่าสีที่ผู้บริโภคนิยมมากคือสีเหลืองปนส้ม (เกียรติศักดิ์, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กระบวนการสะสมสารสีในไข่แดง

การสะสมของสารสีในไข่แดง เริ่มตั้งแต่ไก่ไข่กินอาหารที่มีสารสีเข้าไป จากนั้นสารสีที่อยู่ในอาหารถูกย่อยที่บริเวณกระเพาะบด และรวมตัวกับไขมันที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น จากนั้นจะถูกดูดซึมบริเวณลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) และบางครั้งมีการดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนท้าย (ileum) ซึ่งเป็นการดูดซึมแบบ passive diffusion ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และนำไปใช้ในการสร้างไลโปโปรตีนที่เซลล์ลำไส้เล็กซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นตัวพาสารสีเข้าสู่กระแสเลือดและถูกดูดซึมเข้าทาง hepatic portal vein โดยสารสีถูกลำเลียงเข้าสู่ portal vein ไปยังตับและเข้าสู่ hepatic vein ในรูปที่เรียกว่า portomicron ประกอบไปด้วยสารสี ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล อะโปโปรตีน (เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่รับส่งสัญญาณ) และวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน จากนั้นจะถูกลดขนาดโดย lipoprotein lipase (LPL) และสารสีจะถูกส่งไปสะสมที่ไข่แดง ในระหว่างที่มีการพัฒนาของไข่แดง ซึ่งในช่วงแรกไข่แดงจะมีการพัฒนาที่ช้ามาก ทำให้การสะสมสารสีในไข่แดงช่วงดังกล่าวช้าตามไปด้วยเช่นกัน แต่เมื่อไข่แดงพัฒนาจนมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มิลลิเมตร ไข่แดงจะเพิ่มขนาดได้รวดเร็ว โดยเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่แดงจะเพิ่มขึ้นวันละ 4 มิลลิเมตร การสะสมสารสีในไข่แดง เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่แม่ไก่ไข่กินอาหาร (กลางวัน) มากกว่าในช่วงเวลาที่แม่ไก่ไข่พักผ่อน (กลางคืน) สังเกตได้จากไข่แดงมีความเข้มสีแบ่งเป็นชั้นเข้ม (yellow yolk layer) และจาง (white yolk layer) สลับกันไป เนื่องจากการพัฒนาของไข่แดงเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา ทำให้ในช่วงที่ไก่ไข่กินอาหาร สารสีที่อยู่ในอาหารจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารและเข้าสู่กระแสเลือดส่งผ่านตับมาสะสมยังไข่แดง เมื่อไม่มีการกินอาหาร (ช่วงกลางคืน) จึงทำให้ไม่มีสารสีที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดส่งผลให้ไข่แดงที่มีการพัฒนาในช่วงดังกล่าวมีความเข้มสีน้อยกว่าในช่วงที่แม่ไก่ไข่กินอาหาร (Merk, 1978) (ภาพที่ 9)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 โครงสร้างของไข่แดงแสดงแถบสีเข้มและสีจางของไข่แดง

ที่มา: Well and Belyavin (1985)

ทฤษฎีของการสะสมสารสีในไข่แดง

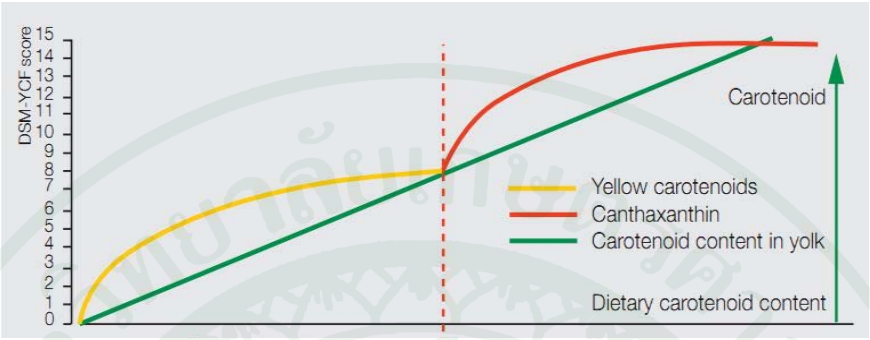
การสะสมสารสีสำหรับไข่แดง (DSM Nutritional Products, n.d.) ประกอบไปด้วย 2 ระยะ คือ

ระยะแรก คือ เป็นระยะการสะสมสารสีให้อิ่มตัวในไข่แดง (saturation phase) ซึ่งเป็นการสะสมสารสีไข่แดงที่เป็นแคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองเป็นหลัก โดยที่สีเหลืองเป็นสีพื้นฐานที่มีความสำคัญต่อการสะสมสารสีในไข่แดง ซึ่งการสะสมสารสีในไข่แดงจำเป็นต้องมีการสะสมสีเหลืองให้สมบูรณ์ก่อน ต่อจากนั้นเป็นการสะสมสารสีในระยะที่สอง ซึ่งเป็นระยะการเพิ่มสีของไข่แดงให้เข้มขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ โดยแคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองและมีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ อะโปเอสเทอร์ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าลูทีนและซีแซนทีน ซึ่งแคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองสามารถพบได้ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น ข้าวโพด เป็นต้น

ระยะที่สอง คือ ระยะเพิ่มสีในไข่แดง (color phase) เมื่อมีการสะสมสารสีเหลืองให้อิ่มตัวอย่างสมบูรณ์แล้ว ต่อมาจะเริ่มพัฒนาเข้าสู่ระยะการเพิ่มสีในไข่แดงให้มีสีเข้มขึ้น จะเพิ่มการสะสมสารสีในไข่แดงจากสีเหลืองเปลี่ยนมาเป็นสีเหลืองอมส้ม โดยที่ปริมาณของสารสีที่ตอบสนองต่อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แคโรทีนอยด์ที่ให้สีแดงจะมีค่าสูงกว่าการตอบสนองต่อแคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลือง และการผสมผสานระหว่างแคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองกับแคโรทีนอยด์ที่ให้สีแดง จะให้ประสิทธิภาพที่คุ้มทุนสำหรับการสะสมสารสีในไข่แดง (ภาพที่ 10)



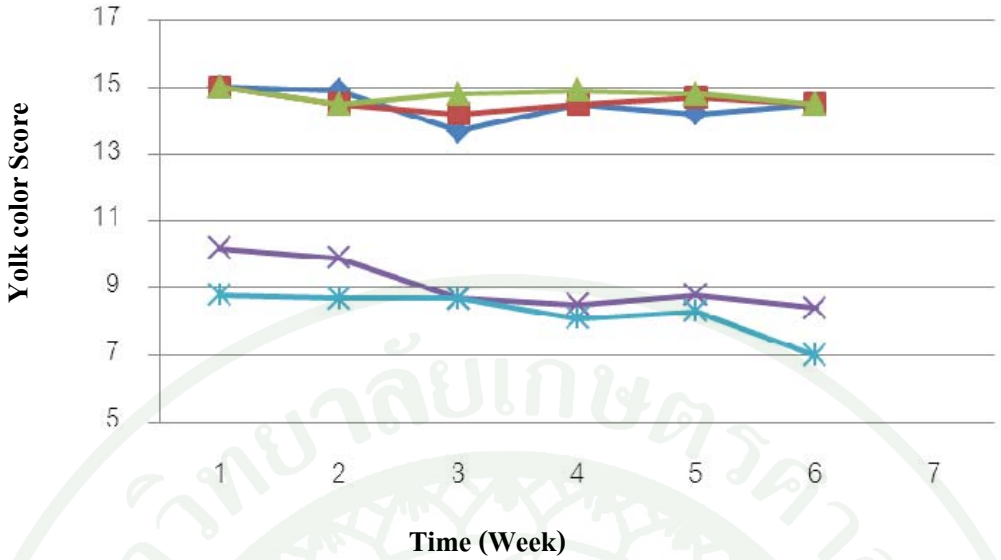
ภาพที่ 10 ทฤษฎีของการสะสมสารสีในไข่แดง

ที่มา: DSM Nutritional Products (n.d.)

ระยะเวลาในการสะสมสารสีในไข่แดง

Lee *et al*. (2010) ได้ศึกษาการสะสมสารสีในไข่แดงโดยใช้อาหาร 5 สูตร คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมแอสตาแซนทิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มที่เสริมแคนตาแซนทิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มที่เสริมเบต้า-อะโป-8'-คาโรทีโนอิค แอซิด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกลุ่มที่เสริมเบต้าแคโรทีน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในไก่ไข่สายพันธุ์อีซ่า บราวน์ (ISA Brown) โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทำการวัดระดับสีของไข่แดงทุกสัปดาห์ พบว่าหลังจากได้รับอาหารทดลอง 1 สัปดาห์ ไก่ไข่จากแต่ละกลุ่มทดลองมีระดับสีไข่แดงเพิ่มขึ้นมีค่าผันแปรจากระดับ 8.5 จนถึง 15 และมีค่าคงที่หลังจากนั้น (ภาพที่ 11)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



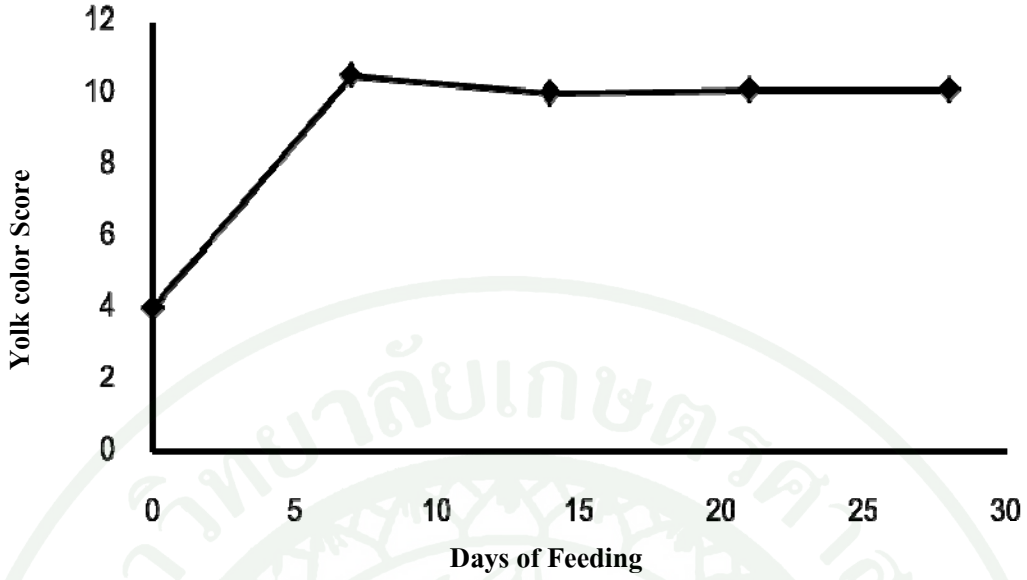
ภาพที่ 11 ระยะเวลาการสะสมสารสีชนิดต่างๆ ในไข่แดง

หมายเหตุ คือ เบต้า-อะโป-8'-คาโรทีโนอิค แอซิด
คือ แอสตาแซนทิน
คือ แคนตาแซนทิน
คือ เบต้าแคโรทีน
คือ กลุ่มควบคุม

ที่มา: Lee *et al*. (2010)

Roberts and Ball (2000) ได้ศึกษาการเสริมแอสตาแซนทินจากธรรมชาติ เพื่อเป็นแหล่งสารสีในไข่แดง โดยใช้ไก่สายพันธุ์อีซ่า บราวน์ (ISA Brown) และใช้ระยะเวลา 1 เดือน พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกเป็นช่วงของการเริ่มสะสมของสารสี ส่งผลให้สีของไข่แดงมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึง 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับสีไข่แดงมีความคงที่ไปตลอดการทดลอง โดยมีระดับสีของไข่แดงที่ 11 (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 ระยะเวลาการสะสมแอสตาแซนทินในไข่แดง

ที่มา: Roberts and Ball (2000)

Seemann (2000) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการสะสมสารสีในไข่แดง โดยใช้อาหาร 2 สูตร คือ อาหารสูตรที่เสริมแคโรทีนอยด์ชนิดสีแดง 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอาหารสูตรที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ โดยเริ่มจากการให้อาหารสูตรที่เสริมแคโรทีนอยด์ชนิดสีแดง 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเก็บไข่ในวันที่ 1 มาต้มแล้วผ่าออกมาดูสีไข่แดงพร้อมกับให้คะแนนด้วยตาเปล่า และทำแบบเดิมในวันที่ 2 พบว่าชั้นของไข่แดงรอบนอกแคบลง และเมื่อทำการทดลองต่อไปจนครบ 10 วัน พบว่าไข่แดงมีสีเข้มทั้งฟอง (ภาพที่ 13) จากนั้นเปลี่ยนให้อาหารสูตรที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ และทำการเก็บข้อมูลจนครบ 10 วันพบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกัน โดยที่สีของไข่แดงเริ่มซีดลงจากชั้นของไข่แดงรอบนอกหลังจากให้กินอาหารสูตรที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์เป็นเวลา 3-5 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 13 การสะสมสารสีในไข่แดงที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

ที่มา: Seemann (2000)

ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมสารสีในไข่แดง มีดังนี้

1. ชนิดของอาหาร ขึ้นกับปริมาณของแซนโทฟิลล์ในวัตถุดิบอาหารสัตว์นั้น เนื่องจากวัตถุดิบแต่ละชนิดมีปริมาณของสารสีหรือแซนโทฟิลล์ไม่เท่ากัน เช่น ข้าวโพดจะมีแซนโทฟิลล์ 16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในทางตรงกันข้ามมันสำปะหลังกลับพบว่าไม่มีแหล่งของสารสีหรือแซนโทฟิลล์อยู่เลย ในปัจจุบันมีการใช้แซนโทฟิลล์สังเคราะห์ใส่ในอาหารไก่ไข่ เพราะว่าสารสีสังเคราะห์นี้มีผลต่อระดับสีของไข่แดงได้ (Dua *et al.,* 1967)

2. การเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น เป็นปัจจัยที่สามารถทำให้สีไข่แดงซีดลงได้ เช่น แร่ธาตุในอาหารและกรดไขมัน รวมถึงอุณหภูมิของอากาศที่สูงเป็นปัจจัยเร่ง ทำให้เกิดสารประกอบเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีผลให้เกิดการหืนทำลายวิตามินที่ละลายในไขมัน กรดอะมิโน และแคโรทีนอยด์ ทำให้สีในไข่แดงซีดลง และพบว่าในช่วงฤดูร้อนสารสีถูกออกซิเดชั่นได้ง่ายกว่า และแม่ไก่ไข่มีการกินอาหารน้อยกว่าช่วงฤดูหนาว จึงทำให้แม่ไก่ไข่ที่เลี้ยงในช่วงฤดูร้อนให้ไข่ที่มีความเข้มสีของไข่แดงลดลงจากในช่วงฤดูหนาว ทั้งที่กินอาหารที่มีปริมาณสารสีในอาหารเท่ากัน (Dua *et al.,* 1967)

3. วิตามินเอและไขมัน การใช้วิตามินเอในปริมาณสูงมีผลทำให้การสร้างสารสีในไข่แดงลดลง เนื่องจากวิตามินเอและแคโรทีนอยด์มีการแย่งกันดูดซึมในสภาวะที่มีไขมันต่ำ ทั้งวิตามินเอและแคโรทีนอยด์เป็นสารที่จำเป็นต้องใช้ไขมันเป็นตัวพาเข้าสู่เซลล์ จึงเกิดการแย่งกันดูดซึมใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สภาวะที่มีไขมันต่ำ แต่ถ้าในอาหารนั้นมีไขมันในอาหารเพียงพอ การแย่งกันดูดซึมนี้จะไม่เกิดขึ้น (เกียรติศักดิ์, 2545)

4. สารพิษจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น การที่แม่ไก่ไข่ได้รับกอสซิปอลเป็นสารซึ่งมีพิษพบอยู่ในเมล็ดฝ้าย ถ้าให้แม่ไก่ได้รับในปริมาณมากๆ ทำให้ไข่แดงมีสีคล้ายสีน้ำมันมะกอก ซึ่งเป็นสีที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเฟอริกไอออนในไข่แดงกับเม็ดสีเหลืองของ gossypol ทำให้ไข่แดงเกิดเป็นสีเขียว (เกียรติศักดิ์, 2545)

5. ยา การได้รับยาบางชนิด เช่น nicarbazine และ peperazine citrate ทำให้ไข่แดงมีสีน้ำตาล หรือยากลุ่ม chlorotetracyclines ทำให้ไข่มีสีเทา เป็นต้น (เกียรติศักดิ์, 2545)

6. สุขภาพของไก่ไข่ พบว่าไก่ไข่ไม่สามารถสร้างสารสีหรือแซนโทฟิลล์ได้เอง จะได้รับจากการกินอาหารเท่านั้น และเมื่อไก่ไข่มีปัญหาเรื่องสุขภาพ เช่น ป่วยเป็นโรคต่างๆ จะส่งผลให้ปริมาณการกินได้ของไก่ไข่ลดลง ซึ่งจะมีผลกระทบโดยตรงต่อการได้รับสารสีหรือแซนโทฟิลล์ทำให้ไข่แดงมีสีที่ซีดลงจากเดิม (เกียรติศักดิ์, 2545)

โดยภาพรวมแล้วปัจจัยที่มีผลต่อสีของไข่แดง มีอยู่หลายประการ เช่น ปริมาณของไขมัน วิตามินเอ การเกิดออกซิเดชั่นในอาหาร และยา ซึ่งเป็นปัจจัยที่เกี่ยวกับอาหารเป็นหลัก รวมทั้งปัจจัยภายนอก เช่น ฤดูกาล สุขภาพของแม่ไก่ ทำให้ผู้เลี้ยงไก่ไข่ต้องสังเกตความผิดปกติประจำวันของไก่ไข่รวมทั้งสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนเป็นประจำ เพราะถ้าพบสิ่งที่ผิดปกติ จะสามารถแก้ไขได้ทัน และส่งผลถึงคุณภาพของไข่ไก่โดยเฉพาะสีของไข่แดงเป็นอย่างยิ่ง

การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation)

ความเครียดจากการเกิดออกซิเดชั่น (oxidative stress) เกิดจากความไม่สมดุลย์ของปริมาณอนุมูลอิสระและสารต้านอุมูลอิสระภายในเซลล์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ส่งผลให้เกิด peroxidative damage กับสารชีวโมเลกุลในร่างกายโดยเฉพาะโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid; PUFA) ทำให้เกิดกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นและเกิด primary products ซึ่งมีความไม่คงตัวและสามารถเปลี่ยนแปลงกลายเป็น secondary products ได้หลายชนิด เช่น hydroxyl fatty acids และมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้การทำงานของร่างกายเสียหาย เกิดการตายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในร่างกาย และระดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของ MDA สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ภาวะการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น ถ้าระดับของ MDA มีปริมาณมากแสดงว่าผนังเซลล์มีการสลายเนื่องจากอนุมูลอิสระ (Bohnstedt, 2005)

สารอนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอย่างน้อย 1 ตัว โคจรรอบนอกสุด อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออกและมีอิเล็กตรอนเดี่ยวคงเหลือ อิเล็กตรอนเดี่ยวนี้ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรต่ำและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสูงจึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้เสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียร และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Fang *et al.*, 2002) สารอนุมูลอิสระมีหลายชนิด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 อนุมูลอิสระและสัญลักษณ์

อนุมูลอิสระ	สัญลักษณ์
Hydrogen atom	$H^{\cdot}$
Hydroxyl radical	$HO^{\cdot}$
Hydroperoxyl radical	$HOO^{\cdot}$
Alkyl radical	$R^{\cdot}$
Alkoxyl radical	$RO^{\cdot}$
Alkylperoxyl radical	$ROO^{\cdot}$
Glutathinyl radical	$GS^{\cdot}$
Methyl radical	$^{\cdot}CH_3$
Nitric oxide	$^{\cdot}NO$
Nitrogen dioxide	$^{\cdot}NO_2$

ที่มา: Fang *et al*. (2002)

กลไกการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เริ่มต้นจากการที่กรดไขมันไม่อิ่มตัว (LH) ถูกดึงไฮโดรเจนอะตอมออกจาก methylene ($-CH_2-$) group ที่ตำแหน่งถัดจากพันธะคู่ (double bond) โดยกลุ่มของสารตัวกลางออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาสูง เช่น ไฮดรอกซิล เรดิเคิล (hydroxyl radical) หรืออนุมูลอิสระตัวอื่น ทำให้เกิดเป็นอนุมูลลิปิด (lipid radical; $L^{\cdot}$) จึงพยายาม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทำให้ตัวเองเสถียร โดยจัดเรียงโมเลกุลใหม่เป็นรูป conjugated diene ซึ่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (O_2) conjugated diene จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลลิปิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide radical; $LOD^{\cdot}$) จากนั้นอนุมูลลิปิดเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (PUFA) ที่อยู่ข้างเคียงโดยดึงไฮโดรเจนอะตอมออกแล้วเกิดเป็นลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide; LOOH) และอนุมูลลิปิด ($L^{\cdot}$) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นสามารถดำเนินต่อไปได้ และเมื่อมีอนุมูลอิสระมากขึ้นจะเกิดการทำปฏิกิริยากันเองและหยุดลงในที่สุด จากนั้นลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เกิดการสลายตัวได้เป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) และสารประกอบลิปิดเปอร์ออกไซด์ที่เล็กลง (degraded lipid peroxide) (บุญล้อม, 2546)

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ ประกอบไปด้วยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระและโมเลกุลต้านอนุมูลอิสระ (Yu, 1994; Ames *et al*., 1995) ดังนี้

1. เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

1.1 เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) เอนไซม์ SOD จำเป็นต่อทุกๆ เซลล์ในร่างกายและมีความสำคัญในการป้องกันเซลล์จากการเกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่น จากรายงานพบว่าเอนไซม์ SOD มี 3 ชนิด ได้แก่

1.1.1 เอนไซม์ copper, zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) พบมากในไซโตซอลและต้องการทั้งทองแดงและสังกะสีที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา ทองแดงมีความจำเป็นสำหรับการเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์และสังกะสีทำหน้าที่รักษาโครงสร้างของโปรตีนให้มีสภาพคงที่

1.1.2 เอนไซม์ manganese SOD (MnSOD) พบในไมโตคอนเดรีย และต้องการแมงกานีสที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา มีความสำคัญในเซลล์ MnSOD มีส่วนร่วมประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณ SODs ทั้งหมด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1.3 เอนไซม์ extra cellular superoxide dismutase (ECSOD) โดยรวมพบในบริเวณ extracellular matrix และเป็นโปรตีนชนิดหลั่ง ประมาณ 90-99% ของ ECSOD

1.2 คาตาเลส (catalase, CAT) เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน

1.3 กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) อยู่ในตระกูลของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบ แบ่งออกเป็นกลุ่มที่อยู่ภายในเซลล์และกลุ่มที่อยู่นอกเซลล์ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสจะรีดิวซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำปฏิกิริยารีดักชั่นของออกซิไดซ์ ไดซัลไฟด์ กลูตาไธโอน (GSSG) จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์กลูตาไธโอน จะเกิดขึ้นเพื่อกลไกการป้องกันของเซลล์และการป้องกันการสูญเสียหมู่ไธออลภายในเซลล์

1.4 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชั่นของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปออกซิไดซ์ เช่น glutathione reductase, dehydroascorbate reductase หรือทำหน้าที่รักษา protein thiol เช่น thioredoxin reductase

2. โมเลกุลต้านอนุมูลอิสระ

2.1 โมเลกุลต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในน้ำ (hydrophilic radical scavengers)

2.1.1 Ascorbic acid (vitamin C) จะอยู่ในเซลล์สามารถเปลี่ยนรูปแบบเป็น oxidized (dehydro) ascorbic acid ได้ด้วยตัวเอง ซึ่งอยู่ในรูปแบบที่มีความสำคัญในการทำปฏิกิริยากับ α – tocopheroxyl เพื่อเปลี่ยนกลับมาเป็น α – tocopherol

2.1.2 กรดยูริก มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงในพลาสม่า มีความเข้มข้นสูงถึง 10 เท่าของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้อนุมูลอิสระอยู่ในสภาวะเสถียร โดยให้อิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระก่อนที่จะเข้าทำลายสารชีวโมเลกุล ซึ่งในไก่พบว่ามีความเข้มข้นของกรดยูริกสูงและสามารถทำหน้าที่ในการป้องกันภาวะความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่นและการเกิดเปอร์ออกซิเดชั่นของไขมัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1.3 กลูตาไธโอน เป็นเปปไทด์ที่ละลายน้ำได้ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กลูตามิก แอซิด (glutamic acid) ซิสเตอีน (cysteine) และไกลซีน (glycine) กลูตาไธโอนมีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ที่มีความสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีบทบาทในการกำจัดอนุมูลอิสระได้หลากหลายชนิด โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีส่วนร่วมในการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione-s-transferase, GST) และกลูตาไธโอน-เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) ซึ่งจะพบกลูตาไธโอนในเซลล์พืช สัตว์ เชื้อรา และพวกโพรคารีโอตบางชนิด

2.2 โมเลกุลต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมัน (lipophilic radical scavengers)

2.2.1 Tocopherols (vitamin E) ในร่างกายมี 4 รูปแบบ ได้แก่ α ,β, γ และ δ tocopherol แต่ละรูปมีความสำคัญเนื่องจากมีคุณสมบัติต่อต้านภาวะออกซิเดชั่น รูปที่ต่อต้านภาวะออกซิเดชั่นได้ดีที่สุดคือ α tocopherol โดยจะพบ α tocopherol นี้ ในเยื่อหุ้มเซลล์ และใน plasma lipoprotein มีความสามารถที่จะจับกับอนุมูลอิสระได้ดีกว่า fatty acid โดยเฉพาะอย่างยิ่ง peroxyl และ alkoxyl radicals ที่เกิดระหว่างกระบวนการ lipid peroxidation และเมื่อจับกันแล้วจะเปลี่ยนรูปเป็น radical ตัวอื่นๆ และไม่ทำปฏิกิริยากับไขมันข้างเคียง α tocopheroxyl ที่เกิดขึ้นในเยื่อหุ้มเซลล์จะถูก reoxidized กลับมาเป็น α tocopherol ได้โดย dehydroascorbic acid เป็นตัวช่วยในปฏิกิริยา

2.2.2 แคโรทีนอยด์ มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูอิสระได้เท่าเทียมกับ α tocopherol คือสามารถแย่งทำปฏิกิริยากับ alkoxyl และ peroxyl radical แทนไขมันได้ เช่นกัน ถึงแม้ว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์ ในร่างกายจะน้อยกว่า α tocopherol ถึง 50 เท่าก็ตาม ตัวอย่างของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคนตาแซนทิน เบต้าแคโรทีน ซีแซนทิน ลูทิน และแอสตาแซนทิน เป็นต้น และพบว่า แอสตาแซนทินมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเพอร์รอกซิล (peroxyl radical) ที่เหนี่ยวนำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในไมโตคอนเดรียของหนูได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 100 เท่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเสริมแอสตาแซนทินในอาหารสัตว์

ผลการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารสัตว์น้ำ

แอสตาแซนทินเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีชมพูถึงแดงในเนื้อสัตว์น้ำชนิดต่างๆ เนื้อของปลากลุ่ม salmonids เช่น ปลาแซลมอนและเทราท์ สัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียน เช่น กุ้ง กั้ง และปู แต่เนื่องจากรงควัตถุในอาหารที่มีอยู่ตามธรรมชาติมีอยู่อย่างจำกัด จึงทำให้สีสันของเนื้อสัตว์เหล่านี้ซีดจางไม่สวยงามและขายได้ในราคาต่ำ (Lorenz and Cysewski, 2000) การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น ปลาแซลมอน ปลาเทราท์ ปลาตะเพียนทะเล ปลาสวยงามชนิดต่าง ๆ เช่น Tetras, Cichlids, Gouramis, Goldfish, Danios, Clown fish (*Amphripion ocellaris*) และ *Premneas biaculaetus* เป็นต้น และกุ้ง เช่น Kuruma shrimp *(Penaeus japonicus)* และ Black tiger prawn *(Penaeus monodon)* ทางการค้า ผู้เลี้ยงนิยมใช้แอสตาแซนทินเติมลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของสารสี จึงช่วยเพิ่มสีสันของปลาและกุ้งให้สวยงามและขายได้ในราคาสูง นอกจากบทบาทในการเพิ่มสีสันของสัตว์น้ำให้สวยงามแล้ว แอสตาแซนทินยังช่วยทำให้ไข่ของ salmonoids มีอัตราการปฏิสนธิและฟักเป็นตัวสูง ตัวอ่อนมีอัตรารอดชีวิตสูงขึ้น และสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว อีกทั้งยังช่วยให้ไข่ของปลาตะเพียนทะเลสามารถลอยตัว (buoyancy)ได้ดี จึงมีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นในปลาหมอเทศ (red tilapia) ช่วยเสริมสร้างเซลล์ตับให้แข็งแรง มีการสะสมไกลโคเจนมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในกุ้ง Kuruma shrimp (Torrissen and Christiansen, 1995)

ผลการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารสัตว์ปีก

ในอุตสาหกรรมสัตว์ปีกได้มีการทดลองใช้แอสตาแซนทินผสมลงในอาหารสำหรับเลี้ยงไก่ร่วมกับลูทีน พบว่าช่วยเพิ่มอัตราการผสมพันธุ์ ลดอัตราการตาย ลดการติดเชื้อจากแบคทีเรีย *Salmonella* ในไข่ ซึ่งไข่แดงที่ได้มีสีเหลืองเข้มขึ้น (Marusich and Bauernfeind, 1981) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับไข่ ทำให้ไข่มีรสชาติดี และทำให้ไข่มีอายุการเก็บ (shelf life) ที่ยาวนานยิ่งขึ้น รวมทั้งทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่มีสีสันสวยงามน่ารับประทาน (Akiba *et al.,* 2001)

Lee *et al.* (1986) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินซึ่งได้มาจาก *Heamatococus algae* โดยมีการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับ 0, 4, 8 และ 12 พีพีเอ็ม พบว่าระดับสีของไข่แดงจะเพิ่มขึ้นภายใน 5 วัน หลังจากได้รับอาหารทดลอง และมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และหลังจาก 15 วันของการทดลองระดับสีของไข่แดงจะคงที่ ซึ่งระดับสีของไข่แดงที่ได้ คือ 3.86, 7.68, 12.10 และ 12.74

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตามลำดับ และการเสริมแอสตาแซนทินซึ่งได้มาจาก *Heamatococus algae* ในระดับต่างๆ ไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ เช่น เปลือกไข่ น้ำหนักไข่ น้ำหนักไข่แดง เป็นต้น

Elwinger *et al.* (1997) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินซึ่งได้มาจาก *Heamatococus algae* โดยมีการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 พีพีเอ็ม จากนั้นให้กินเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าระดับสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลอง เป็น 5.8, 7.9, 9.4, 10.1 และ 11.8 ตามลำดับ โดยการเพิ่มขึ้นของสีไข่แดงนั้นได้รับอิทธิพลมาจากระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินที่เพิ่มขึ้น

Roberts and Ball (2000) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินจาก *Heamatococus algae* เพื่อเป็นแหล่งสารสีในไข่แดง โดยมีการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับ 0, 4, 6, 8, และ 12 พีพีเอ็ม พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 6 พีพีเอ็ม ส่งผลให้ระดับสีไข่แดงเพิ่มขึ้นดีที่สุด โดยให้สีไข่แดงที่ระดับ 11 ของพัดสี และไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต

Akiba *et al.* (2000) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจาก *Yeast phaffia rhodozyma* ในอาหารไก่ไข่ที่มีแคโรทีนอยด์ต่ำ พบว่าระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในพลาสมาและไข่แดงเพิ่มขึ้น และยังพบว่าอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินเพิ่มสารสีในไข่แดง ด้วยเช่นกัน ซึ่งจากการทดลองนี้ มีคำแนะนำให้ใช้ *Yeast phaffia rhodozyma* เป็นแหล่งสารสีจากธรรมชาติสำหรับการเพิ่มสีของไข่แดงในไก่ไข่ และในปี ค.ศ. 2001ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจาก *Yeast phaffia rhodozyma* ในอาหารไก่เนื้อ โดยมีการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับ 15, 20 และ 30 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบการเสริมแอสตาแซนทินซึ่งได้มาจาก *Yeast phaffia rhodozyma* ในระดับต่างๆ ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต แต่มีผลทำให้คุณภาพของสีเนื้อเข้มขึ้น ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่น่าพึงพอใจต่อผู้บริโภค

Yang *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 พีพีเอ็ม เป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นให้กินอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทินอีก 7 วัน ผลที่ได้คือ การเสริมแอสตาแซนทินในระดับที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตของไก่ไข่ ในด้านปริมาณการกินอาหาร ผลผลิตไข่ รวมทั้งคุณภาพไข่ ทั้งน้ำหนัก ความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟยูนิต แต่พบว่าระดับสีของไข่แดงที่เข้มขึ้นตามระดับของการเสริมแอสตาแซนทิน จากนั้นได้ให้กินอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทินอีก 7 วัน พบว่าส่งผลให้สีของไข่แดงและค่าฮอฟยูนิตลดต่ำลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pérez-Gálvez *et at.* (2008) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจาก crayfish ในอาหารไก่ไข่ โดยใช้ที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงก่อนให้อาหารทดลองและหลังจากให้อาหารทดลอง 7 วัน ผลพบว่าไข่แดงในกลุ่มที่เก็บหลังจากให้อาหารทดลอง 7 วัน มีปริมาณแอสตาแซนทินสูงกว่าไข่แดงก่อนให้อาหารทดลอง และการเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจากกุ้งไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหารของไก่ไข่และน้ำหนักไข่

การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น

Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) เป็นดัชนีชี้วัดในเรื่องของการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น และความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่น (oxidative stress) โดยที่ TBARS จะแสดงออกในรูปของ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นค่าที่นิยมและสะท้อนให้เห็นถึงระดับการเกิดออกซิเดชั่นได้ดี (Lohakare *et al.,* 2004)

Yang *et al*. (2006) ได้ทำการทดลองโดยเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 พีพีเอ็ม ให้ไก่ไข่กินเป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วหลังจากนั้นให้กินอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทินอีก 7 วัน ผลที่ได้พบว่าค่า TBARS มีค่าลดลงเมื่อมีการเสริมแอสตาแซนทินในระดับที่แตกต่างกัน ส่วนไก่ไข่กลุ่มที่ไม่มีการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารพบว่ามีค่า TBARS สูงกว่ากลุ่มที่มีการเสริมแอสตาแซนทิน

การใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่

มันสำปะหลัง เป็นพืชที่มีการปลูกกันทั่วไปเกือบทุกภาคของประเทศไทย มีพื้นที่เพาะปลูกผลผลิตหัวมันสด และผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่เพิ่มขึ้นทุกปี และเป็นวัตถุดิบอาหารชนิดหนึ่งที่เหมาะสมกับการใช้เลี้ยงสัตว์ชนิดต่างๆ ได้เป็นอย่างดี มีมาตรฐานความปลอดภัยสูง ซึ่งหลายปีที่ผ่านมามันสำปะหลังยังไม่ค่อยได้รับความนิยมเท่าที่ควร เนื่องจากเกษตรกรเข้าใจว่า มันสำปะหลังไม่เหมาะกับการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยเฉพาะในไก่ไข่ เนื่องจากว่ามันสำปะหลังมีปริมาณสารให้สี (pigment) ต่ำ และพบว่าเมื่อใช้ในอาหารไก่ไข่ส่งผลทำให้ไข่แดงสีซีดลง แต่มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีพลังงานสูง เมื่อนำมาใช้ในช่วงที่วัตถุดิบพลังงาน เช่น ข้าวโพดมีราคาแพงจะสามารถทำให้ราคาอาหารสัตว์และต้นทุนการผลิตสัตว์ถูกลง โดยสัตว์ที่ได้รับอาหารที่ใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารยังคงให้ผลผลิตได้ตามปกติ ส่งผลทำให้เกษตรกรหันมาใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดกันมากขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สาโรชและเยาวมาลย์ (2529) พบว่าไก่ไข่ในช่วงอายุ 7-20 สัปดาห์ ใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดได้สูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และใช้มันสำปะหลังทดแทนได้ 60 เปอร์เซ็นต์ของอาหารจนถึงระยะวางไข่ (22–62 สัปดาห์) โดยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต เมื่อไก่เริ่มไข่อาหารที่ใช้สามารถผสมมันสำปะหลังอัดเม็ดได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้สมรรถภาพการผลิตไข่ลดลงแต่คุณภาพสีไข่จะมีสีซีดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vogt (1965) ที่พบว่าการใช้มันสำปะหลังสามารถใช้ได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารไก่ไข่ โดยไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต

อุทัยและสุกัญญา (2547) รายงานว่าการใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 25, 36 และ 48 เปอร์เซ็นต์ ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ แต่การเพิ่มระดับการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จำต้องมีการเสริมสารสีเพื่อเพิ่มระดับสีของไข่แดงให้อยู่ในระดับสีของไข่แดงอยู่ในระดับที่ยอมรับของผู้บริโภค

Enriquez and Ross (1972) ทดลองใช้มันสำปะหลังที่ระดับ 0, 10, 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในอาหารไก่ไข่อายุ 20-48 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ เปอร์เซ็นต์การตาย และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 โหล ของแม่ไก่ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนคุณภาพไข่ คือ ความหนาของเปลือกไข่ ค่าฮอฟ์ยูนิต (Haugh unit) ของไก่ไข่ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าค่าฮอฟ์ยูนิตที่ได้จะสูงขึ้นเมื่อใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น ขณะที่ระดับสีไข่แดงของไก่ไข่ในกลุ่มทดลองใช้มันสำปะหลังในอาหารระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยของระดับสีไข่แดงต่ำกว่าทุกกลุ่มทดลอง

Phalaraksh *et al.* (1977) รายงานว่ามันสำปะหลังสามารถใช้ในอาหารไก่ไข่ช่วงอายุ 7-15 สัปดาห์ ได้ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่วนไก่ไข่อายุ 16-20 สัปดาห์สามารถมันสำปะหลังได้ 60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งการใช้มันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ทั้ง 2 ระดับในทั้ง 2 ช่วงอายุนี้ไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของไก่ไข่แต่อย่างใด ในขณะที่แม่ไก่ไข่ระยะไข่อายุ 20 สัปดาห์ขึ้นไปสามารถใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารได้ 60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพของฟองไข่แต่สีของไข่แดงมีค่าลดลงซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการใช้มันสำปะหลังผสมใบกระถินมีผลทำให้สีของไข่แดงเข้มขึ้นและไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทดลองพบว่าการใช้มันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ส่งผลทำให้สารสีในอาหารไก่ไข่มีระดับต่ำลง ส่งผลให้ระดับสีของไข่แดงมีสีเหลืองซีด การใช้คริลล์ป่นซึ่งเป็นแหล่งสารสีจากธรรมชาติ คือ แอสตาแซนทิน (สารให้สีชมพู) อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มระดับสีของไข่แดงให้ตรงตามความพึงพอใจและการยอมรับของผู้บริโภค โดยไม่มีผลกระทบในเชิงลบต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่และคุณภาพไข่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้แม่ไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown ที่อายุ 33 สัปดาห์ จำนวน 240 ตัว แบ่งไก่ไข่ออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 8 ตัว และสุ่มให้อาหารทดลอง 5 สูตร ใช้ระยะเวลาทดลอง 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง

อาหารทดลองช่วงไก่ไข่เป็นอาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง ที่คำนวณให้มีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้และโปรตีนเท่ากันทุกสูตรคือ 2,750 กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม และ 17.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยไก่ไข่ได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน 5 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง (ควบคุม)
สูตรที่ 2 อาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง + มันสำปะหลัง 7.5 เปอร์เซ็นต์ (สารสีระดับต่ำ)
สูตรที่ 3 อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 4 อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 5 อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองในช่วง preliminary เพื่อหาระดับการเสริมคริลล์ป่นที่เหมาะสมสำหรับอาหารไก่ไข่ พบว่าการเสริมคริลป่นที่ 1.6 เปอร์เซ็นต์ (แอสตาแซนทิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงอยู่ที่เบอร์ 10 ซึ่งเป็นระดับสีที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างดี โดยสอดคล้องกับระดับสีของไข่แดง (DSM Nutritional Products, n.d.) ที่ระบุว่าระดับคะแนนสีของไข่แดงที่เบอร์ 10 นั้นสามารถได้มาจากการเลี้ยงไก่ไข่ด้วยอาหารที่มีสารสีเหลือง 8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสารสีแดง 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการทดลองมีปริมาณสารสีเหลืองอยู่ประมาณ 7-8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจากข้าวโพด ดังนั้นจึงคำนวนปริมาณแอสตาแซนทิน (ให้สีชมพู) จาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คริลล์ป่นให้ได้ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่มาของระดับการเสริมคริลล์ป่นสำหรับการทดลองในครั้งนี้ โดยทำการเสริมคริลล์ป่นที่ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแอสตาแซนทินในอาหารที่ระดับ 1.25, 3.75 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อศึกษาผลของการเสริมคริล์ป่นที่มีแอสตาแซนทินในปริมาณที่น้อยกว่าและมากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ว่าผลที่ได้แตกต่างกันอย่างไร

สำหรับการทดลองในครั้งนี้ ใช้คริลล์เป็นแหล่งของแอสตาแซนทินจากธรรมชาติ ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า คริลล์ป่น (krill meal) โดยลักษณะของคริลล์เป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังคล้ายกุ้งขนาดเล็ก อยู่ใน Phylum *Arthropoda* Subphylum *Crustacea* Class *Malacostraca* Order *Euphausiacea* Family *Euphausiidae* พบมากในท้องทะเลและมหาสมุทร คริลล์มีประมาณ 85 ชนิด (species) มีขนาดแตกต่างกัน คริลล์ส่วนใหญ่ที่พบในแถบขั้วโลกใต้ อาร์กติก แอนตาร์กติก และอเมริกาเหนือ เป็นคริลล์ชนิด *Euphausia superba* เมื่อผ่านขั้นตอนการให้ความร้อน อบแห้งสุดท้ายได้เป็นผลิตภัณฑ์คริลล์ป่นที่อุดมไปด้วยแอสตาแซนทินซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติประมาณ 110-140 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Aker biomarine, n.d.) โดยมีองค์ประกอบทางโภชนะ (ตารางที่ 6)

อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทดลอง

- อุปกรณ์วัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างอาหารทดลอง
- อุปกรณ์ในการผสมและชั่งน้ำหนักอาหาร
- อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง
- เครื่องวิเคราะห์พลังงาน (bomb calorimeter)
- อุปกรณ์การวิเคราะห์คุณภาพไข่
- อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น
- อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์แอสตาแซนทิน
- อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์วิตามินเอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ (กิโลกรัม)	สูตรอาหารทดลอง				
	สูตรที่ 1	**สูตรที่ 2**	**สูตรที่ 3**	**สูตรที่ 4**	**สูตรที่ 5**
ข้าวโพด	55.77	47.24	47.83	49.21	49.24
มันสำปะหลัง	0.00	7.50	7.50	7.50	7.50
รำสด	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
รำสกัด	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
น้ำมันถั่วเหลือง	1.09	1.14	0.83	0.17	0.00
กากถั่วเหลือง 49 เปอร์เซ็นต์โปรตีน	24.45	25.50	24.38	21.89	19.76
แอล-ไลซีน	0.09	0.07	0.01	0.00	0.00
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.15	0.15	0.12	0.04	0.00
โคลีนคลอไรด์ 60 เปอร์เซ็นต์	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต (P 21)	1.47	1.49	1.44	1.35	1.75
แคลเซียมคาร์บอเนต	8.36	8.31	8.28	8.23	8.11
เกลือ	0.36	0.35	0.35	0.35	0.38
พรีมิกซ์[1/]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
คริลล์ป่น	0.00	0.00	1.00	3.00	5.00
รวม	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**
องค์ประกอบทางโภชนะโดยการคำนวณ (เปอร์เซ็นต์)					
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม)	2,750.00	2,750.00	2,750.00	2,750.00	2,750.00
โปรตีน	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
ไขมัน	4.08	3.89	3.75	3.43	3.56
เยื่อใย	3.11	3.19	3.19	3.19	3.16
แคลเซียม	3.50	3.50	3.50	3.50	3.55
ฟอสฟอรัสรวม	0.72	0.71	0.71	0.71	0.80
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.40	0.40	0.40	0.40	0.50
ไลซีน	0.88	0.95	0.95	1.03	1.13
เมทไธโอนีน	0.42	0.43	0.41	0.38	0.39
เมทไธโอนีน+ซีสทีน	0.65	0.65	0.65	0.65	0.68
โคลีน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	1,300.00	1,300.00	1,300.00	1,300.00	1,300.00
โซเดียม	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17

หมายเหตุ [1/] รายละเอียดส่วนประกอบของพรีมิกซ์วิตามิน/แร่ธาตุแสดงในตารางที่ 5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบใน 1 กิโลกรัม ของพรีมิกซ์วิตามิน-แร่ธาตุสำหรับไก่ไข่

วิตามิน	ปริมาณ
วิตามินเอ	5.0 ล้านหน่วยสากล
วิตามินดี 3	1.2 ล้านหน่วยสากล
วิตามิน อี	4,000 หน่วยสากล
วิตามินเค 3	0.600 กรัม
วิตามิน บี 1	0.800 กรัม
วิตามิน บี 2	2.000 กรัม
วิตามิน บี 6	1.200 กรัม
วิตามิน บี 12	0.0025 กรัม
กรดนิโคทีนิก	5.000 กรัม
กรดแพนโททินิก	3.760 กรัม
กรดโฟลิก	0.200 กรัม
ไบโอติน	0.036 กรัม
แมงกานีส	24.000 กรัม
สังกะสี	20.000 กรัม
เหล็ก	16.000 กรัม
ทองแดง	4.000 กรัม
ไอโอดีน	0.800 กรัม
โคบอลต์	0.080 กรัม
ซีลีเนียม	0.040 กรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนะของคริลล์ป่นที่ใช้ในการทดลอง

องค์ประกอบทางโภชนะ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณ
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สำหรับสัตว์ปีก (กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม)	3,926.10
โปรตีน	58.30
เถ้า	9.47
ไขมัน	16.67
เยื่อใย	2.27
แคลเซียม	1.99
ฟอสฟอรัสรวม	1.29
ความชื้น	7.03
ไลซีน	7.9
อาร์จินีน	6.90
เมทไธโอนีน	0.29
ฮิสทีดีน	2.10
ลิวซีน	7.60
ฟีนิลอะลานีน	4.40
ทริปโตเฟน	1.10
เวลีน	2.60

ที่มา: Aker biomarine (n.d.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completly Randomized Design; CRD) โดยช่วงไก่ไข่ ทำการทดลองโดยเลี้ยงไก่ไข่ที่อายุ 33 สัปดาห์ จำนวน 240 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 8 ตัว โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j

(โดยที่ i = 1, 2, 3, 4, 5 และ j= 1, 2, 3, 4, 5, 6)

μ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

T_i = อิทธิพลของทรีทเมนต์ ที่ i

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากอิทธิพลอื่นๆ

การจัดการเลี้ยงดู

เลี้ยงไก่ในโรงเรือนปิดควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบระเหยไอน้ำ (evaporative cooling system) และใช้กรงตับในการเลี้ยง กรงละ 2 ตัว โดยให้ไก่ได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*Ad libitum*) ตลอดการทดลอง ให้อาหารในรางอาหารและมีระบบการให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวหยด โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เช้า เวลา 7.00 น. และเย็น เวลา 14.00 น. และสังเกตให้มีอาหารเหลืออยู่ในรางอาหารเพียงเล็กน้อยในแต่ละครั้งที่ให้อาหาร มีการจัดโปรแกรมการให้แสงตามคำแนะนำของสายพันธุ์ ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 3 ช่วง ช่วงละ 28 วัน คือ ช่วงที่ไก่ไข่อายุ 33-36, 37- 40 และ 41-44 สัปดาห์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การบันทึกข้อมูลไก่ไข่

1. สมรรถภาพการผลิต

การบันทึกข้อมูลแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ช่วงละ 28 วัน โดยในแต่ละช่วงมีการบันทึกข้อมูลดังนี้ คือ

1.1 บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว โดยชั่งไก่แต่ละตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองแล้วนำมาคำนวณเป็นน้ำหนักไก่เฉลี่ยแต่ละกลุ่มทดลอง

1.2 บันทึกปริมาณอาหารที่กินทั้งหมดของแต่ละช่วงการทดลอง แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม

1.3 บันทึกผลผลิตไข่ โดยบันทึกจำนวนไข่ในแต่ละซ้ำทุกวัน แล้วนำมาคำนวณเป็นอัตราการผลิตไข่ของไก่ไข่แต่ละกลุ่มทดลอง

1.4 บันทึกน้ำหนักไข่ โดยเก็บไข่มาชั่งรวมทีละซ้ำทุกวัน แล้วนำมาคำนวณเป็นน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง

1.5 บันทึกจำนวนไก่ตายของแต่ละซ้ำ แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด

1.6 บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือน

นำค่าต่างๆ ที่ได้จากการบันทึกมาคำนวณตามวิธีของ North and Bell (1990) ดังต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง/ตัว} = \frac{\text{น้ำหนักตัวสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{จำนวนไก่ที่ชั่ง}}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไก่ที่ชั่ง}}$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง (กก.)}}{\text{น้ำหนักไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง (กก.)}}$

อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (hen-day egg production; HD) (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนไข่ในช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไก่สิ้นสุดการทดลอง}}$

อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (hen-house egg production; HH) (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนไข่ในช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}}$

น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง = $\frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมดของซ้ำแต่ละช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมดที่นำมาชั่ง}}$

มวลไข่ต่อแม่ไก่ต่อวัน = $\frac{\text{อัตราการให้ผลผลิตไข่ (HD) (\%)} \times \text{น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (กรัม)}}{100}$

อัตราการเลี้ยงรอด (liveability) (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนไก่สิ้นสุดช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}}$

2. คุณภาพไข่

2.1 บันทึกน้ำหนักไข่แต่ละฟอง โดยชั่งน้ำหนักของฟองไข่ และส่วนประกอบของฟองไข่แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่ของไข่ทั้งฟอง

2.2 บันทึกค่าความเข้มของสีไข่แดง โดยใช้พัดวัดสีไข่ (Roche Yolk Color Fan) ที่มีสีเหลืองอ่อนถึงสีส้มแดง ที่มีระดับคะแนนสีผันแปรตั้งแต่ 1-15 โดยระดับคะแนน 1 คือ สีเหลืองอ่อนและระดับคะแนน 15 คือ สีส้มแดง และทำการบันทึกค่าความสว่าง สีแดง และสีเหลืองด้วยเครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR 400) จากบริษัท Konica Minolta Sensing,Inc. ที่ใช้ระบบ Hunter Lab ซึ่งให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (redness/greeness) และค่าสี b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness) ดังนี้ คือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ค่าสี L* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

กรณี ถ้า L* มีค่าเป็น 0 หมายถึง มืด (darkness)

กรณี ถ้า L* มีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (lightness)

ค่าสี a* คือ แสดงความเป็นสีแดงและเขียว (redness/greenness)

กรณี ถ้า a* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง

กรณี ถ้า a* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว

ค่าสี b* คือ แสดงความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (yellowness/blueness)

กรณี ถ้า b* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง

กรณี ถ้า b* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน

2.3 วัดความสูงของไข่ขาวข้น โดยใช้ชุดตรวจสอบคุณภาพไข่ขาวของ Technical Services and Supplies Ltd. ซึ่งประกอบด้วยชุดแสดงผลระบบดิจิตอล และ albumen height gauge ได้ค่าความสูงไข่ขาวเป็นมิลลิเมตร การวัดจะวัด 3 จุดตรงกลางระหว่างขอบไข่แดงกับขอบไข่ขาว แล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาคำนวณค่าฮอฟยูนิต

2.4 บันทึกความหนาเปลือกไข่ โดยใช้ digital outside micrometer สำหรับวัดความหนาของเปลือกไข่ โดยการหักเปลือกไข่ไม่ติดเยื่อหุ้มไข่ 3 จุด คือ ด้านป้าน ด้านแหลม และตรงกลางฟองไข่ ขนาดประมาณ 0.5 × 0.5 เซนติเมตร วัดค่าเป็นมิลลิเมตร

2.5 นำข้อมูลน้ำหนักไข่และความสูงไข่ขาวมาคิดค่าฮอฟยูนิต โดยสมการของ Haugh (1973)

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

เมื่อ HU = ค่าฮอฟยูนิต

H = ค่าเฉลี่ยความสูงไข่ขาว (มิลลิเมตร)

W = น้ำหนักฟองไข่ (กรัม)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนะในอาหารทดลองทุกสูตร คือ วัตถุแห้ง ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัส โดย proximate analysis ตามวิธีของ A.O.A.C (1990) และวิเคราะห์พลังงานโดยใช้ Bomb calorimeter ตามวิธีของอังคณา และดวงสมร (2532)

2. การวิเคราะห์หาการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) ในไข่แดง ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดง โดยการสุ่มไข่ซ้ำละ 2 ฟอง จาก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ ทำการรวมไข่ และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาการเกิดลิปิด-เปอร์ออกซิเดชั่นตามวิธีของ Esterbauer *et al.* (1991) ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

3. วิเคราะห์หาการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในซีรั่ม ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างซีรั่ม โดยทำการสุ่มไก่ไข่ทดลองในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 2 ตัว ทำการเจาะเลือดบริเวณปีกของไก่ไข่ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรต่อตัว เมื่อเริ่มต้นการทดลองเลี้ยงไก่ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงไก่ ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แยกซีรั่มออกมาและนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นตามวิธีของ Esterbauer *et al.* (1991) ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอสตาแซนทินในไข่แดง ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดง โดยการสุ่มไข่ซ้ำละ 1 ฟอง จากทุก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ โดยรวมไข่แดง และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียล เพื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนทิน โดยเครื่อง High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) ตามวิธีของ Surai and Speake (1998) ที่หน่วยวิเคราะห์วิจัยพฤกษเคมี ฝ่ายปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

5. การวิเคราะห์หาวิตามินเอในไข่แดง ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดง โดยการสุ่มไข่ซ้ำละ 1 ฟอง จากทุก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ โดยรวมไข่แดง และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียลเพื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ โดยเครื่อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) ตามวิธีของ Cort *et al.,* (1983) ที่สถาบันโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยใช้ General Linear Model (GLM) จะนำข้อมูลของทุกช่วงการทดลองมารวมกันหาค่าเฉลี่ยและนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์หาปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มทดลองกับช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสอง ที่จะมีผลต่อค่าต่างๆ ที่ทำการตรวจวัด ดังนั้นจึงได้นำข้อมูลของแต่ละช่วงระยะการทดลองมาหาค่าเฉลี่ย และนำเสนอในรูปของค่าในแต่ละกลุ่มทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของโภชนะต่างๆ ในอาหารทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีสารสีระดับต่ำ และการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับโปรตีน พลังงานรวม ความชื้น ไขมัน เยื่อใย เถ้า แคลเซียม และฟอสฟอรัสที่ไม่แตกต่างจากอาหารควบคุมและมีค่าใกล้เคียงและสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการคำนวณ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์)

องค์ประกอบทางโภชนะ (เปอร์เซ็นต์)	อาหารควบคุม	อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น (เปอร์เซ็นต์)			
		0	1	3	5
พลังงานรวม (กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม)	3975.37	3985.25	3933.82	3917.26	3962.31
โปรตีนรวม	17.84	17.75	17.75	17.91	17.82
ไขมันรวม	5.01	4.75	4.43	4.37	4.42
เยื่อใยรวม	2.90	2.44	2.55	2.32	2.05
ความชื้น	9.94	9.83	9.37	9.61	9.29
เถ้า	12.65	12.88	14.02	13.03	14.98
แคลเซียม	3.94	3.64	4.24	3.61	4.12
ฟอสฟอรัส	0.87	0.92	0.98	0.87	0.96

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิต

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ และการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่ไข่ซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนทิน 1.25, 3.75 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่งผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม อัตราการเลี้ยงรอด อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (HD) อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (HH) น้ำหนักฟองไข่ และมวลไข่ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 8-10) ซึ่งสอดคล้องกับ Yang *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นให้กินอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทินต่อเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตของไก่ไข่ ในด้านปริมาณการกินอาหาร เปอร์เซ็นต์ไข่ เป็นต้น เช่นเดียวกับ Akiba *et al.* (2001) ที่ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจาก *Yeast phaffia rhodozyma* ในอาหารไก่เนื้อ โดยมีการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับ 15, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบการเสริมแอสตาแซนทินซึ่งได้มาจาก *Yeast phaffia rhodozyma* ในระดับต่างๆ ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ

จากการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่นั้นไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กินของไก่ไข่ (ตารางที่ 8) และได้มีการนำอาหารทดลองมาวิเคราะห์ความฟ่าม (bulk density) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 470-500 กรัมต่อลิตร ทำให้การเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ที่มีมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบไม่มีผลต่อความฟ่ามของอาหารทดลอง ส่งผลทำให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองได้รับสารอาหารต่างๆ เพื่อการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ประกอบกับไก่ไข่ถูกเลี้ยงอยู่ในสภาพแวดล้อมที่สุขสบาย ภายใต้ระบบการเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำ และได้รับการจัดการเลี้ยงดูที่เหมือนกันทุกกลุ่มทดลอง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สมรรถภาพทางการผลิตโดยภาพรวม เช่น อัตราการเลี้ยงรอด อัตราการให้ผลผลิตของทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน) และปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลอง	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม
อาหารควบคุม	115.50	1.80
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	118.11	1.86
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	114.88	1.81
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	116.12	1.85
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	116.11	1.83
P-value	0.5569	0.3130
SEM	3.3948	0.0521

ตารางที่ 9 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่ออัตราการเลี้ยงรอด (เปอร์เซ็นต์) อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (HD) และอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (HH)

กลุ่มทดลอง	อัตราการเลี้ยงรอด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)
อาหารควบคุม	100.00	96.13	96.13
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	98.61	94.51	93.46
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	100.00	95.22	95.22
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	100.00	94.62	94.62
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	100.00	93.55	93.55
P-value	0.0681	0.2914	0.1663
SEM	0.9623	2.0312	2.0817

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อน้ำหนักฟองไข่และมวลไข่

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักฟองไข่เฉลี่ย (กรัม/ฟอง)	มวลไข่เฉลี่ย (กรัม/ฟอง)
อาหารควบคุม	64.13	61.25
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	63.62	60.18
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	63.46	60.09
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	62.81	58.45
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	63.39	59.30
P-value	0.8373	0.4644
SEM	1.9470	2.6652

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อคุณภาพไข่ พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ และการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่ไข่ซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนทิน 1.25, 3.75 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่งผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองมีน้ำหนัก ไข่ขาว (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักไข่แดง (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักเปลือกไข่ (เปอร์เซ็นต์) ความหนาเปลือกไข่ และค่าฮอฟยูนิต (ตารางที่ 11-12) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับ Yang *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นให้กินอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทินต่อเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินที่ระดับต่างๆในอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ อาทิเช่น ความหนาเปลือกไข่ และ ค่าฮอฟยูนิต เป็นต้น ทั้งนี้อาจส่งผลมาจากไก่ไข่ในแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันไม่ต่างกัน คือ 114-118 กรัมต่อตัวต่อวัน ส่งผลทำให้ไก่ไข่ได้รับสารอาหารในระดับที่ใกล้เคียงกัน ด้วยเหตุนี้จึง ทำให้คุณภาพไข่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อองค์ประกอบของฟองไข่

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักไข่ขาว (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักไข่แดง (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเปลือกไข่ (เปอร์เซ็นต์)
อาหารควบคุม	64.82	25.08	10.10
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	64.10	25.72	10.18
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	64.18	25.64	10.18
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	63.76	26.01	10.23
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	64.41	25.56	10.03
P-value	0.0842	0.1200	0.5645
SEM	0.6718	0.5797	0.2164

ตารางที่ 12 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่

กลุ่มทดลอง	ความหนาเปลือกไข่ (มิลลิเมตร)	ค่าฮอฟยูนิต
อาหารควบคุม	0.36	84.43
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	0.36	85.67
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	0.36	86.00
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	0.36	86.15
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	0.35	86.49
P-value	0.4507	0.5982
SEM	0.0046	2.3217

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อระดับสีของไข่แดง

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อระดับสีของไข่แดงที่ทำการวัดโดยใช้พัดสี (Roche Yolk Color Fan) พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ ส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเทียบกับระดับสีไข่แดงของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม และเมื่อเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่ไข่ซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนทิน 1.25, 3.75 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่งผลให้ระดับสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 13) ซึ่งสอดคล้องกับ Gernat (2001) ใช้กุ้งป่น (shrimp meal) ที่ระดับ 0, 20, 40, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณถั่วเหลืองที่ใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ ส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นตามระดับของ shrimp meal ที่เพิ่มสูงขึ้นและทำให้มีปริมาณแอสตาแซนทินเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย เช่นเดียวกับ Yang *et al.* (2006) ที่รายงานว่า การเสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในอาหารไก่ไข่ ส่งผลให้ระดับสีไข่แดงเพิ่มขึ้นตามระดับแอสตาแซนทินที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

จากผลการทดลองวัดระดับสีของไข่แดงซ้ำด้วยเครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR 400) เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของค่าความสว่าง (lightness : L* value) ค่าสีแดง (redness : a* value) และค่าสีเหลือง (yellowness : b* value) (ตารางที่ 13) พบว่าค่าความสว่างของไข่แดงในทุกกลุ่มทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารส่งผลให้ค่าสีแดงเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าสีเหลืองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมคริลล์ป่น จึงจะเห็นว่าการวัดสีของไข่แดงทั้งวิธีการใช้พัดสีและเครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR 400) ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน

การสะสมสารสีในไข่แดงระยะแรกเป็นการสะสมสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ให้สารสีเหลือง ซึ่งได้มาจากข้าวโพดที่นิยมใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ โดยการสะสมสารสีในไข่แดงจำเป็นต้องมีการสะสมสีเหลืองให้สมบูรณ์ก่อน จากนั้นจะเป็นการสะสมสีแดงเพื่อเพิ่มความเข้มสีของไข่แดง ซึ่งสีที่ได้จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเหลืองอมส้ม (DSM Nutritional Products, n.d.) อีกทั้งการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ส่งผลให้ปริมาณขาดสารสีแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ รวมทั้งแซนโทฟิลล์ลดต่ำลง และส่งผลให้สีของไข่แดงลดต่ำลงอยู่ในช่วงสีเหลือง และการใช้คริลล์ป่นในสูตรอาหารไก่ไข่ที่มีระดับสารสีต่ำ สามารถเพิ่มการสะสมสารสีเข้าไปในไข่แดงทำให้ระดับสีของไข่แดงเข้มขึ้นจากสีเหลืองเป็นสีเหลืองอมส้มได้ เนื่องจากคริลล์ป่นอุดมไปด้วยสารสีในกลุ่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แคโรทีนอยด์ที่ให้สารสีแดง คือ แอสตาแซนทิน (ให้สีชมพู) ซึ่งจากการทดลองยังพบว่าการสะสมสารสีในไข่แดงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วขึ้นอยู่กับปริมาณสารสีในอาหารเนื่องจากสัตว์ปีกไม่สามารถสังเคราะห์สารสีขึ้นมาเองได้ โดยสอดคล้องกับ Belyavin and Marangos (1980) ที่พบว่าการสะสมสารสีในไข่แดงจะเกิดขึ้นหลังจากที่สัตว์ปีกได้รับสารสีจากอาหาร ภายใน 3 สัปดาห์ การสะสมสารสีจะเกิดความคงที่ ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลทำให้ระดับสีของไข่แดงเพิ่มสูงขึ้นตามระดับการใช้คริลล์ป่นในสูตรอาหารไก่ไข่ที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ

ตารางที่ 13 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อระดับสีของไข่แดง

กลุ่มทดลอง	สีไข่แดง[1] (คะแนน)	L* value[2]	a* value[2]	b* value[2]
อาหารควบคุม	8.90^{d}	15.89	1.64^{b}	14.60^{a}
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	8.67^{e}	15.57	1.47^{b}	15.03^{a}
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	9.07^{c}	15.43	1.48^{b}	14.98^{a}
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	9.72^{b}	15.34	2.33^{a}	14.18^{ab}
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	10.24^{a}	15.46	2.42^{a}	13.69^{b}
P-value	<0.0001	0.6225	<0.0001	0.0120
SEM	0.2122	0.6471	0.2749	0.6933

หมายเหตุ $^{a, b, c, d}$ อักษรต่างกันบนค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1]ระดับสีของไข่แดงโดยการใช้พัดสี (Roche Yolk Color Fan)

[2]ระดับสีของไข่แดงโดยการใช้เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR 400)

L* value คือ ค่าความสว่าง

a* value คือ ค่าสีแดง

b* value คือ ค่าสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่พบว่าการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่ไข่ซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนทิน 1.25, 3.75 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่งผลให้ปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับของการใช้คริลล์ป่นที่เพิ่มขึ้น ตามลำดับ (P=0.1433) (ตารางที่ 14) สอดคล้องกับ Pérez-Gálvez *et at.* (2008) ที่ได้ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินที่ได้มาจากกุ้ง (crayfish) ในอาหารไก่ไข่ โดยใช้ที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดงก่อนให้อาหารทดลองและหลังจากให้อาหารทดลอง 7 วัน ผลพบว่าไข่แดงในกลุ่มที่เก็บหลังจากให้อาหารทดลอง 7 วัน มีปริมาณแอสตาแซนทินสูงกว่าไข่แดงก่อนให้อาหารทดลอง

ตารางที่ 14 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณแอสตาแซนทินและวิตามินเอในไข่แดง

กลุ่มทดลอง	ปริมาณแอสตาแซนทิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ปริมาณวิตามินเอ (ไมโครกรัมต่อไข่แดง 100 กรัม)
อาหารควบคุม	4.35	713.22[b]
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	4.36	478.17[c]
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	4.53	763.31[ab]
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	4.84	816.44[ab]
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	5.41	858.29[a]
P-value	0.1433	0.0002
SEM	1.1095	61.7145

หมายเหตุ [a, b, c] อักษรต่างกันบนค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณวิตามินเอในไข่แดง

ผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อปริมาณวิตามินเอในไข่แดง พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ ส่งผลทำให้ปริมาณวิตามินเอในไข่แดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเทียบกับปริมาณวิตามินเอในไข่แดงของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม และเมื่อทำการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารไก่ไข่ พบว่าส่งผลให้ปริมาณวิตามินเอในไข่แดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 14) เช่นเดียวกับการทดลองในสัตว์น้ำ โดย Christiansen and Torrissen (1996) ที่รายงานว่าการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารปลาแซลมอนโดยมีระดับแอสตาแซนทินที่ 0-190 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ส่งผลให้ริมาณแอสตาแซนทินและวิตามินเอในเนื้อปลาเพิ่มสูงขึ้นตามระดับของแอสตาแซนทินที่เพิ่มขึ้น จากผลการทดลองนี้ยังสรุปได้ว่าแอสตาแซนทินสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอในปลาแซลมอนได้ เนื่องจากว่าปริมาณวิตามินเอในเนื้อปลาแซลมอลเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเสริมแอสตาแซนทินในอาหาร การสังเคราะห์วิตามินเอจากแอสตาแซนทินนั้น พบในปลาเป็นส่วนใหญ่ โดยการทำงานของเอนไซม์ 15,15' dioxygenase ในผนังลำไส้เล็กโดยเปลี่ยนแอสตาแซนทินให้อยู่ในรูปของเรตินอล จากนั้นจะมีการเคลื่อนที่ไปตามท่อน้ำเหลือง และสะสมไว้ที่ตับ ซึ่งต่อมาจะถูกออกซิไดส์ไปเป็นกรดเรติโนอิค และสามารถถูกรีดิวซ์เป็นเรตินอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ สำหรับสัตว์ปีกนั้นยังไม่พบรายงานที่ระบุชัดเจนเกี่ยวกับเรื่องนี้

โดยทั่วไปไข่แดงมีปริมาณวิตามินเออยู่ประมาณ 666 ไมโครกรัมต่อไข่แดง 100 กรัม (Chris, 2005) ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงและสอดคล้องกับปริมาณวิตามินเอในไข่แดงของสูตรอาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลืองของงานทดลองในครั้งนี้ (713.22 ไมโครกรัมต่อไข่แดง 100 กรัม) นอกจากนี้จากการทดลองพบว่าปริมาณวิตามินเอเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเสริม แอสตาแซนทินในระดับที่เพิ่มขึ้น อาจกล่าวได้ว่าในไก่ไข่สามารถใช้แอสตาแซนทินเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอได้เช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในไข่แดงและซีรั่ม

การศึกษาการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในไข่แดงและซีรั่มโดยใช้ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) เป็นดัชนีชี้วัดในเรื่องของการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น และความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่น (oxidative stress) โดยที่ค่า TBARS จะเป็นค่าที่วัดปริมาณของ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นค่าที่นิยมและสะท้อนให้เห็นถึงระดับการเกิดออกซิเดชั่นได้ดี (Lohakare *et al.,* 2004) จากผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดง (ตารางที่ 15) พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ ส่งผลให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดงลดลง เมื่อเทียบกับระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดงของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม และการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารไก่ไข่ ส่งผลให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับของการใช้คริลล์ป่นที่เพิ่มขึ้น ตามลำดับ (P=0.0753)

ในส่วนของระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม (ตารางที่ 15) พบว่าการใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ และการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่ไข่ ไม่ส่งผลกระทบต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม (P>0.05) เมื่อเทียบกับระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่มของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม ซึ่งขัดแย้งกับ Yoo and Chyun (2004) ที่ได้ทำการทดลองโดยการให้กินในรูปอาหารเสริมแอสตาแซนทินในคนที่ระดับ 0, 2 และ 8 มิลลิกรัมต่อวัน โดยที่ให้กินก่อนอาหารเช้าของแต่ละวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเลือดนำมาวัดระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม แล้วพบว่าในกลุ่มที่เสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 2 และ 8 มิลลิกรัมต่อวัน มีระดับมาลอนไดอัลดี-ไฮด์ในซีรั่มลดลง ตามลำดับ (P>0.05) สำหรับในไข่แดง Yang *et al*. (2006) ได้ทำการทดลองโดยเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 0.7, 0.9, 1.1 และ 1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดงมีระดับลดลงเมื่อมีการเสริมแอสตาแซนทินในระดับที่เพิ่มขึ้น และในกลุ่มที่ไม่มีการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารพบว่ามีระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงกว่า

สำหรับการทดลองในครั้งนี้ ไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลองถูกเลี้ยงภายใต้ระบบการเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำ จัดให้ไก่ไข่ได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลองโดยเลี้ยงไก่ที่ความหนาแน่น 525 ตารางเซนติเมตรต่อตัวซึ่งเป็นความหนาแน่นอยู่ช่วงของมาตรฐานของไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown ที่แนะนำว่าควรเลี้ยงไก่ไข่ที่ความหนาแน่น 475–540 ตารางเซนติเมตรต่อตัว ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและสุขสบายสำหรับการเลี้ยงไก่ไข่ ส่งผลทำให้ไก่ไข่ไม่เกิดสภาวะความเครียด จึงส่งผลให้เกิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนุมูลอิสระในปริมาณที่น้อย และปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากอนุมูลอิสระมีปริมาณน้อยด้วยเช่นกัน จึงอาจเป็นเหตุทำให้การเสริมคริลล์ป่นไม่ส่งผลกระทบต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม

ตารางที่ 15 ผลของการเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดงและซีรั่ม

กลุ่มทดลอง	ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม (นาโนโมล/มิลลิลิตร)
อาหารควบคุม	0.29	1.27
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ	0.17	1.05
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 1%	0.16	0.90
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 3%	0.23	0.96
อาหารที่มีสารสีระดับต่ำ + คริลล์ป่น 5%	0.21	1.07
P-value	0.0753	0.4708
SEM	0.0800	0.3562

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ภายใต้เงื่อนไขของการทดลองในครั้งนี้ สามารถสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1. การใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ส่งผลให้ปริมาณสารสีมีระดับต่ำลง และระดับสีของไข่แดงลดลง

2. การเสริมคริลล์ป่นในอาหารที่มีสารสีระดับต่ำส่งผลให้ระดับสีของไข่แดงเพิ่มขึ้นตามระดับคริลล์ป่นที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร

3. การใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำไม่มีผลกระทบต่อปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง แต่ส่งผลให้ปริมาณวิตามินเอในไข่แดงลดลง

4. การเสริมคริลล์ป่นในอาหารไก่ไข่ที่มีสารสีระดับต่ำส่งผลให้ปริมาณของแอสตาแซน-ทินและวิตามินเอในไข่แดงเพิ่มขึ้นตามระดับของคริลล์ป่นที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร

5. การใช้อาหารที่มีสารสีระดับต่ำและการเสริมคริลล์ป่นที่ระดับสูงถึง 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นของไก่ไข่

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอในคริลล์ป่นเพิ่มเติม เพื่อสามารถนำข้อมูลมาพิจารณาผลของการใช้คริลล์ป่นต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณวิตามินเอในไข่แดงให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

2. หากต้องการข้อมูลเพื่อมาสนับสนุนผลของการเสริมคริลล์ป่นต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น ควรมีการศึกษาการเลี้ยงไก่ไข่ภายใต้ความหนาแน่นที่สูงกว่าปกติ หรือภายใต้สภาวะเครียด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เกียรติศักดิ์ สร้อยสุวรรณ. 2545. **โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์ปีก.** คณะสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, นครศรีธรรมราช.

นิรันดร โพธิกานนท์ และ โชค มิเกล็ด. 2535. การใช้สารสีในไก่ไข่. *ใน* **รายงานการสัมมนา 497 ประจำภาคเรียนที่ 1 ปีการศึกษา 2535**. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สาโรช ค้าเจริญ และเยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2529. **การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์** *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมวิชาการครั้งที่ 24.** สาขาสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อังคณา หาญบรรจง และดวงสมร สินเจิมศิริ. 2532. **การวิเคราะห์และการประเมินคุณภาพอาหารสัตว์.** ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัย คันโธ และ สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2547. **การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์: ผลการใช้และข้อมูลการวิจัยในประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ศูนย์ค้นคว้า และพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

_____ ,_____และวิไลลักษณ์ ชาวอุทัย. 2540. การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ศูนย์ค้นคว้า และพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

Aker Biomarine. n.d. Antarctic krill meal. Available source: www.qrill.com/aqua/text-22-qrill-antarctic_krill_meal.html, Mar 1, 2013

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Akiba, Y., K. Sato and K. Takahashi . 2001. Meat color modification in broiler chicken by feeding *yeast phaffia rhodozyma* containing high concentrations of astaxanthin. **J. Appl. Poult. Res.** 10: 154-161.

Akiba, Y., K. Sato, K. Takahashi, Y. Takahashi, H. Tsunekawa, Y. Hayasaka, H. Nagao, and M. Toyommizu. 2000. Available of cell-frctured *yeast phaffia rhodozyma* containing high concentration of astaxanthin for egg yolk pigmentation. **J. Anim. Sci.** 71 (3): 255-260.

Allen, C. P. 1987. Physiological responses of chicken gut tissue to coccidial infection: Comparative effect of *eimeria acervulina* and *eimeria mitis* on mucosal mass, carotenoids content and brush border enzyme activity. **Poult. Sci.** 66: 1306-1315.

Ames, B. M., M. K., Shinena and T. M. Hagen. 1995. Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 90: 7015-7022.

A.O.A.C. 1990. **Official Methods of Analysis.** 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Virginia.

Belyavin, C. G. and A. G. Marangos. 1980. **Natural Products for Egg Yolk Pigmentation**. Recent Devepment in Poultry Nutrition. University of Nothingham School of Agriculture, Nothingham.

Bauernfeind, J C. 1981. **Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precuesor**. Academic. Press, New York.

Britton G. 1995. Structure and properties of carotenoids inrelation to function. **FASEB J.** 9: 1551-1558.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bohnstedt, K. C. 2005. **Determination of biomarkers for lipid peroxidation and oxidative stress.** Doctoral thesis, Stockholm University.

Chris, M. 2005. **The incredible, edible egg yolk**. Available Source: http://www.cholesterol-and-health.com/Egg_Yolk.html, April 10, 2013.

Christiansen, R. and O. J. Torrissen. 1996. Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar L.* fed different dietary levels of astaxanthin. Juveniles. **Aquacult Nutr**.: 2 (1): 55 – 62.

Cort, W. M., T. S. Vincente, E. H. Waysek, and B. D. Williams. 1983. Vitamin E content of feedstuffs determined by high-performance liquid chromatographic fluorescence. **J**. **Agric**. **Food Chem**. 31: 1330–1333.

Dua, P. N., E. J. Day, J. E. Hill and C. O. Grogan. 1967. Utilization of xanthophylls from natural source by the chick. **J**. **Agric**. **Food Chem**. 15: 324-328.

DSM Nutritional Products. n.d. **DSM Guidelines for Egg Yolk Pigmentation with Carophyll**. Available Source: www.christa.bg/files/Catalogue/105.pdf, September 1, 2012.

Eiichi, K. N. and A. Nagao. 2011. Absorption and metabolism of xanthophylls. **Mar. Drugs.** 9: 1024-1037.

Enriquez, F. Q. and E. Ross. 1972. Cassava root meal in grower and layer diets. **Poult. Sci.** 51: 223-234.

Elwinger K., A. Lignell and M. Wilhelmson. 1997. Astaxathin rich algal meal *(Haematococcus pluvialis)* as carotenoid source in feed for laying hens, pp 52-59. *In* **Proceeding of the VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products.** Poznan, Poland.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Esterbauer, H., R. J. Schaur and H. Zollner. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynone-nal, malondialdehyde and relate aldehydes free radical. **Biol. Med.** 11: 181-228.

Fang, Y. U., S. Yang and W. U. Guoyao. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **J. Nutr.** 18: 872– 879.

Fox, H. M. and G. Vevers. 1960. **The Nature of Animal Colors.** Sidgwick and Jackson limited, London.

Fraser, P.D., Y. Miura and N. Misawa. 1997. *In vitro* characterization of astaxanthin biosynthetic enzymes. **J. Biol. Chem.** 272 (10): 6128-6135.

Gernat, A. G. 2001. The effect of using different levels of shrimp meal in laying hen diets. **Poult. Sci.** 80: 633–636.

Goodwin, T.W. 1984. **The Biochemistry of the Carotenoids**. Volume II. Chapman and Hall, London.

Grung, M. 1992. 3S, 3'S Astaxanthin sources from *Haematococcus pluvialis*. **J. Appl. Phycol.** 4: 165-171.

Haugh R. R. 1937. The Haugh unit for measuring egg quality, pp 552-555. *In* William R. S. and O. J. Cotterill, eds. **Egg Science and Technology.** Food Products Press , New York.

Hencken, H. 1992. Chemical and physiological behaviour of feed carotenoids and their effects on pigmentation. **J. Poult. Sci.** 71: 711-717.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Johnson, E and W. A. Schroeder. 1995. Microbial carotenoids, pp. 119-178. *In* A. Fiechter, ed. **Advance in Biochemical Engineering Biotechnology**. Springer-Verlag, Berom Heidelberg.

Latacha, T. 1990. **Carotenoids in Animal Nutrition.** Hoffmann-La Rhoce Ltd., Switzerland.

Lee, C. Y., B. D. Lee, J. C. Na and G. An. 2010. Carotenoid accumulation and their antioxidant activity in spent laying hens as affected by polarity and feeding period. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 23 (6): 799-805.

Lee K. S., S. P. Meyers and J. A. Hebert. 1986. Evaluation of crawfish astaxanthin as a natural red pigmenter of egg yolk. **Poultry Sci.** 65 (Suppl 1): 177-178.

Lohakare, J. D., T. W. Hahn, Y. H. Shim, J. Y. Choi and B. J. Chae. 2004. Effect of feeding methods (feed vs. water) of vitamin E on growth performance and meat quality of broilers. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 17: 1260-1265.

Lorenz, R. T. and G. R. Cysewski. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends Biotechnol.** 18: 160–167.

Marusich, W. L. and J. C. Bauernfeind. 1981. Oxycarotenoids in poultry feeds, pp. 320-462. *In* J. C. Bauernfeind, ed. **Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors**. Academic Press, New York.

Merk, O. N. 1978. **Commercial Chicken Production Manual**. The AVI publishing company, Connecticut.

Nishigaki, I, A. Dmitrovskii, W. Miki and K. Yagi. 1994. Suppressive effect of astaxanthin on lipid peroxidation induced in rats**. J. Clin. Biochem. Nutr.** 16: 161-166.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

North, M. O. and D. D. Bell. 1990. **Commercial Chicken Production Manual.** 4th ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Ong, A. S. H and E. S. Tee. 1992. Natural sources of carotenoids from plants and oils. **Meth Enzymol.** 213: 142-167.

Pérez-Gálvez, A., J. J. Negro-Balmaseda, M. I. Mínguez-Mosquera, M. V. Cascajo-Almenara and J. Garrido-Fernández. 2008. Astaxanthin from crayfish (*Procambarus clarkii*) as a pigmentary ingredient in the feed of laying hens. **Grasas Y Aceites.** 59 (2): 139-145.

Phalaraksh, K., C. Nikornkit, J. M. Khajarern and S. Chongsai. 1977. The economic replacement of maize by cassava root meal in starter, grower, developer and layer diets, pp. 63-80. *In* **KKU-IDRC Cassava/Nutrition Project 1977 Annual Report.** Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

Plander, H. 1992. Carotenoids: an overview, pp. 3-13. *In* L. Packer, ed. **Methods in Enzymology.** Academic Press, London.

Roberts, J. R. and W. Ball. 2000. The use of the natural algal pigment astaxanthin as a yolk pigment for laying hens. **Proc. Aust. Poult. Sci. Sym**. 12: 121-124.

Roush, W.B. 1981. TI59 calculator program for Haugh unit calculator. **Poult. Sci.** 60: 1086-1088.

Seemann, M. 2000. **Factors which Influence Pigmentation.** Available Source: http://www.lohmann-information.com/content/l_i_24_article_4. pdf., September 9, 2012.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Simpson, K. L,. I. S. T. C. Tsou and C. O. Chichester. 1989. **Biochemical Methodology for the Assessment of Carotene.** The International Vitamin A Consultative Group (IVACG), Washington.

Surai P. F. and B. K. Speake. 1998. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo**. J. Nutr. Biochem**. 9: 645-651.

Surai P. F., B. K. Speake and N. H. C. Sparks. 2001. Carotenoids in avain nutrition and embryonic development.1 absorption, availability and level in plasma and egg yolk. **J. Poult. Sci.** 38: 1-27.

Torrissen, O. J. and R. Christiansen. 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. **J. Appl. Ichthyol.** 11 (3-4): 225-230.

Visser, A., J. J. Ooyen and J. C. Verdoes. 2003. Metabolic engineering of the astaxanthin-biosynthetic pathway of *xanthophyllomyces dendrorhous*. **FEMS Yeast Research.** 4: 221–231.

Vogt, H. 1965. The use of tapioca meal in poultry ration**. WPSJ.** 22: 113-125.

Well, R. G. and C. G. Belyavin. 1985. **Egg Quality-Current Problems and Recent Advances**. Carfax Publishing Company, Oxford, England.

Yang, Y. X., Y.J. Kim, Z. Jin. J. D. Lohakare, C. H. Kim, S. H. Ohh, S. H. Lee, J. Y. Choi and B. J. Chae. 2006. Effects of dietary supplementation of astaxanthin on production performance, egg quality in layers and meat quality in finishing pigs**. Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 19 (7): 1019-1025.

Yoo, K. K. and J. H. Chyun. 2004. The effect of astaxanthin supplement on lipid peroxidation and antioxidant status in postmenopausal women. **KJN**. 7(1): 41-46.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.** 74: 139-162.

Zeb, A. and S. Mehmood. 2004. Carotenoids content from various sources and their potential health application. **Pak. J. Nutr.** 3(3): 199-204.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

ภาพและตารางผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 ข้อมูลอุณหภูมิภายในโรงเรือนไก่ไข่ตลอดการทดลอง

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ช่วงเช้า (10.00 น)	ช่วงบ่าย (14.00 น.)
28/5/2555	28.0	28.9
29/5/2555	28.3	30.3
30/5/2555	27.4	30.0
31/5/2555	28.0	30.4
1/6/2555	30.2	28.5
2/6/2555	30.0	29.8
3/6/2555	30.0	26.2
4/6/2555	29.0	29.7
5/6/2555	29.0	31.0
6/6/2555	27.9	31.0
7/6/2555	29.8	30.3
8/6/2555	27.3	29.9
9/6/2555	29.0	26.7
10/6/2555	28.0	28.8
11/6/2555	28.7	30.0
12/6/2555	29.2	29.1
13/6/2555	28.9	29.7
14/6/2555	28.8	29.8
15/6/2555	28.8	29.4
16/6/2555	28.7	28.3
17/6/2555	27.9	26.6
18/6/2555	26.6	27.5
19/6/2555	26.6	28.2
20/6/2555	28.0	28.2
21/6/2555	28.7	28.4
22/6/2555	28.7	29.5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ช่วงเช้า (10.00 น)	ช่วงบ่าย (14.00 น.)
23/6/2555	29.4	30.6
24/6/2555	29.0	29.5
25/6/2555	29.2	28.2
26/6/2555	28.4	28.9
27/6/2555	27.1	28.4
28/6/2555	28.2	30.3
29/6/2555	29.2	29.4
30/6/2555	28.6	28.9
1/7/2555	26.9	29.0
2/7/2555	27.2	30.2
3/7/2555	27.2	30.2
4/7/2555	27.3	29.5
5/7/2555	27.7	30.9
6/7/2555	27.2	28.0
7/7/2555	27.4	30.3
8/7/2555	27.2	30.5
9/7/2555	27.0	27.9
10/7/2555	27.3	31.3
11/7/2555	25.8	30.1
12/7/2555	27.5	30.0
13/7/2555	27.5	30.2
14/7/2555	27.1	30.0
15/7/2555	27.1	29.7
16/7/2555	27.0	30.1
17/7/2555	27.6	29.4
18/7/2555	25.5	25.8

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

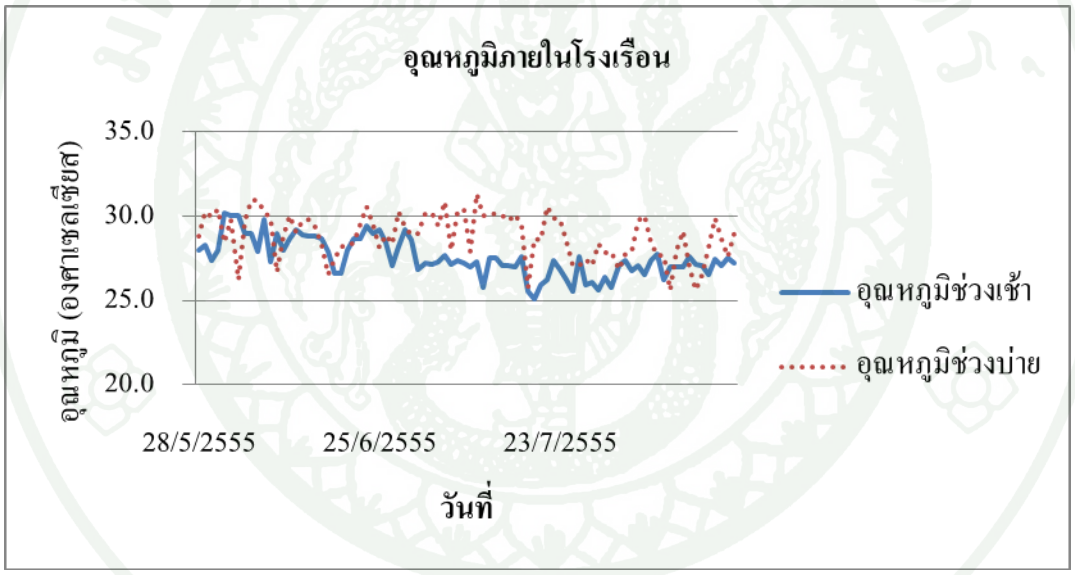
ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ช่วงเช้า (10.00 น)	ช่วงบ่าย (14.00 น.)
19/7/2555	25.1	28.7
20/7/2555	26.0	28.6
21/7/2555	26.2	30.6
22/7/2555	27.4	29.9
23/7/2555	26.8	29.8
24/7/2555	26.2	28.5
25/7/2555	25.6	27.1
26/7/2555	27.6	27.1
27/7/2555	25.9	27.5
28/7/2555	26.1	27.1
29/7/2555	25.7	28.4
30/7/2555	26.4	27.8
31/7/2555	25.8	27.9
1/8/2555	27.1	26.9
2/8/2555	27.4	27.8
3/8/2555	26.8	27.9
4/8/2555	27.1	29.7
5/8/2555	26.5	30.0
6/8/2555	27.4	28.4
7/8/2555	27.8	27.7
8/8/2555	26.3	27.7
9/8/2555	27.0	25.6
10/8/2555	27.0	28.0
11/8/2555	27.0	29.1
12/8/2555	27.6	27.0
13/8/2555	27.2	25.7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
	ช่วงเช้า (10.00 น)	ช่วงบ่าย (14.00 น.)
14/8/2555	27.1	26.6
15/8/2555	26.6	28.1
16/8/2555	27.5	29.9
17/8/2555	27.1	28.7
18/8/2555	27.5	27.6
19/8/2555	27.3	29.0



ภาพผนวกที่ ก1 อุณหภูมิภายในโรงเรือนไก่ไข่ตลอดการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในไข่แดง

เป็นวิธีการตรวจวัดค่ามาโลนิลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการเกิดออกซิเดชั่นในอาหารประเภทไขมัน ที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะคู่ตั้งแต่ 3 ตำแหน่งขึ้นไป ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับ 2-thiobarbituric acid (TBA) เกิดสารที่มีสีแดง จากนั้นวัดโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

การเก็บตัวอย่างไข่แดง

ไข่แดง โดยการสุ่มไข่ซ้ำละ 2 ฟอง จาก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ ทำการรวมไข่ และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส

สารเคมีที่ใช้และวิธีการเตรียม

TBA reagent: เตรียมได้จากสารละลาย 2-thiobabituric acid 0.2838 กรัม ละลายในกรดอะซิติก 90% จำนวน 100 มิลลิลิตร ทิ้งสารละลายนี้ไว้หนึ่งคืน กรองหรือนำเข้าเครื่องเหวี่ยงแยก (centrifuge) เพื่อกำจัดเอาสิ่งตกค้างที่ไม่ละลาย และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดอะซิติก 90%

1. 4 N HCL : ปิเปต 37% กรดไฮโดรคลอริก 33.06 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

2. Antifoaming agent : เตรียมจากการเจือจางโดยใช้ antifoaming agent ต่อน้ำในอัตราส่วน 1:5

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างไข่ประมาณ 10 กรัม ปั่นให้ละเอียดกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นาน 2 นาที ถ่ายใส่ในหลอดชุดกลั่นของชุดกลั่น กลั่วโถกลั้นด้วยน้ำกลั่น 47.5 มิลลิลิตร เทรวมลงในหลอดชุดกลั่นแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริก 4 N HCL ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. เติมเม็ดลูกแก้ว 2-3 เม็ด และ antifoaming agent 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกลั่นในชุดกลั่นความร้อนสูงให้ได้ distillate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3. นำ distillate ที่ได้ปิเปตใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วเติม TBA reagent 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 35 นาที ทำให้เย็นลงเป็นเวลา 10 นาที ด้วยการแช่ในน้ำเย็น

4. นำสารในหลอดทดลอง (ข้อ 3) ปรับวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เทียบกับ blank (ไม่ใส่ตัวอย่าง)

คำนวณหาค่า TBA reagent โดยวิธีคำนวณ ดังสมการ

$$\text{TBA reagent} = 7.8 \times A_{538}$$

เมื่อ A = absorbance ของตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่ม

เป็นวิธีการตรวจวัดค่ามาโลนิลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการเกิดออกซิเดชั่นในอาหารประเภทไขมัน ที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว พันธะคู่ตั้งแต่ 3 ตำแหน่งขึ้นไป โดยทั่วไปการตรวจวัดปริมาณ MDA โดยการทำให้เกิดสีกับสาร thiobarbituric acid (TBA) บางทีเรียกว่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) โดยที่ MDA จะทำปฏิกิริยากับ TBA ในอัตราส่วน 1:2 ในสภาวะกรดและความร้อนสูงเกิดเป็น MDA-TBA adduct และตกตะกอนโปรตีนที่รบกวนค่าการดูดกลืนแสงออก ปฏิกิริยาจะได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลปนแดง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

การเก็บตัวอย่าง

ซีรั่ม โดยทำการสุ่มไก่ไข่ทดลองในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 2 ตัว ทำการเจาะเลือดบริเวณปีกของไก่ไข่ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร/ตัว เมื่อเริ่มต้นการทดลองเลี้ยงไก่ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงไก่ ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แยกซีรั่มออกมาและนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์หาการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย thiobarbituric acid (TBA solution) เตรียมสารละลาย TBA ความเข้มข้น 0.12 โมลาร์ โดยชั่ง TBA (MW = 144.15) น้ำหนัก 17.34 กรัม ละลายด้วย 100 มิลลิโมลาร์ Tris-HCL (pH = 7.5) ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บในขวดกันแสงที่อุณหภูมิห้อง

2. สารละลาย trichloroacetic acid (TCA solution) ชั่ง TCA (MW = 163.39) น้ำหนัก 100 กรัม ละลายด้วย HCL ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดกันแสงที่อุณภูมิห้อง

3. สารมาตรฐาน MDA 10 มิลลิโมลาร์ เตรียมสารละลายสารมาตรฐานโดยใช้ trimethylpropane (TMP, MW = 134.20) ปริมาตร 20.8 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. สารละลาย normal saline solution (NSS) ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ชั่งโซเดียมคลอไรด์น้ำหนัก 0.85 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

วิธีการทดลอง

1. เตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย TMP โดยนำสารละลายที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มาเจืองจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นที่ 10,20,40,60 และ 100 ไมโครโมลาร์ จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) และความเข้มข้นของสารละลาย TMP (แกน X)

2. สารละลายของปฏิกิริยา (reaction mixture) ประกอบด้วยสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร สารละลาย NSS ปริมาตร 250 ไมโครลิตร สารละลาย TBA ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และสารละลาย TCA ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. ต้มน้ำให้เดือด (อุณหภูมิมากกว่า 95 องศาเซลเซียล) นาน 30 นาที

4. เมื่อครบเวลา นำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำปราศจากไอออน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ประมาณ 10 นาที

5. แยกเอาส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

6. นำค่าการดูดกลืนที่ได้ของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นมาตรฐาน MDA เตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย TMP โดยนำสารละลายที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มาเจืองจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นที่ 10, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครโมลาร์ จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) และความเข้มข้นของสารละลาย TMP (แกน X)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. สารละลายของปฏิกิริยา (reaction mixture) ประกอบด้วยสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร สารละลาย NSS ปริมาตร 250 ไมโครลิตร สารละลาย TBA ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และสารละลาย TCA ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันต้มน้ำให้เดือด (อุณหภูมิมากกว่า 95 องศาเซลเซียล) นาน 30 นาที

8. เมื่อครบเวลา นำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำปราศจากไอออน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ประมาณ 10 นาที

9. แยกเอาส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

10. นำค่าการดูดกลืนที่ได้ของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นมาตรฐาน MDA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอสตาแซนทินในไข่แดง

การเก็บตัวอย่าง

ไข่แดง เก็บจากการสุ่มไข่ซ้ำละ 1 ฟอง ทุก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ โดยรวมไข่แดงและนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างไข่แดงไปวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนธิน โดยเครื่อง high pressure liquid chromatography (HPLC) (Surai and Speake, 1998) ที่หน่วยวิเคราะห์วิจัยพฤษเคมี ฝ่ายปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

การสกัดไขมัน

1. ตัวอย่าง (ไข่ 10 กรัม อาหาร 5 กรัม) ใส่ sodium sulphate anhydrous (นำ beaker ใส่ Na_2SO_4 ให้ทั่วแล้ว tare ให้เป็น 0 จากนั้นตักตัวอย่างใส่ และใส่ Na_2SO_4 อีกครั้งผสมกันบดจนได้เป็นผง) จากนั้นเทลงโกร่งบดยา แล้วบดให้ละเอียด

2. สกัดด้วย acetone จำนวน 30 มิลลิลิตรใส่ลงไปในโกร่งบดยาที่มีตัวอย่างบดให้ได้ส่วนใสแล้วใส่ใน round bottom flask สกัด 3 ครั้ง (จนไม่มีสี) ถ้ายังไม่หมดให้ลดปริมาณตัวอย่างที่ใช้ให้น้อยลง

3. จากนั้นเอาเฉพาะส่วนใสใส่ใน round bottom flask ขนาด 200 มิลลิลิตรด้วยกระดาษกรองและ ล้างกระดาษกรองด้วย chloroform

4. นำส่วนใสที่ได้มา evaporate ให้แห้ง (ที่อุณหภูมิน้ำ 30-35 องศาเซลเซียส)

5. จากนั้นย้ายไปใส่ใน กรวยแยกขนาด 200 มิลลิลิตร โดยใช้ 35 มิลลิลิตร di ethyl ether (di ethyl ether ใส่ใน round bottom flask ที่มีตัวอย่างแล้วเทใส่กรวยแยก) จากนั้นก็ใส่น้ำกลั่น 40 มิลลิลิตรแล้วไล่อากาศด้วย ก๊าซไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. รอจนกระทั่งแยกชั้นแล้ว (ทิ้งไว้ไม่นาน) เอาส่วนด้านล่าง (water layer / lower layer) ใส่ round bottom flask ขนาด 200 มิลลิลิตร และส่วนด้านบน (upper layer/ ethereal layer) ใส่ในขวดรูปชมพู่

7. จากนั้นนำส่วนด้านล่าง (water layer / lower layer) มาใส่กรวยแยกเพื่อสกัดอีกครั้งหนึ่ง สกัดโดย diethyl ether 20 มิลลิลิตร เขย่า ทำแบบนี้ไปเรื่อยๆ จนไม่มีสีของ carotenoid เก็บเอาเฉพาะส่วนบน (upper layer/ ethereal layer) มาใส่ในขวดรูปชมพู่

8. จากนั้นเอาน้ำออกโดยใช้ Na_2SO_4 (โดยใส่ไว้บนกระดาษกรอง) กรองผ่านกระดาษกรอง ใส่ใน curve bottom flask ล้างด้วย ether (ใช้ round bottom flask แทนได้)

9. จากนั้นนำไป evaporate ให้แห้ง (ที่น้ำอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส) ถ้าตัวอย่างยังพบว่ามีน้ำอยู่ด้วยให้ใช้ chloroform: acetone 3:2

10. จากนั้นเจือจางด้วย benzene 3 มิลลิลิตรแล้ววัด total carotenoid ด้วย spectrophotometer

11. จากนั้นเอา benzene ออก โดยการ rotary evaporation

12. จากนั้นละลายตัวอย่างใน hexane เพื่อสำหรับฉีด ในเครื่อง HPLC หรือ ทำ saponify ต่อไป

การทำ saponification

1. จากการขั้นตอนการสกัดไขมัน จะได้ตัวอย่างอยู่ใน round bottom flask อยู่แล้ว ละลายโดย hexane

2. Evaporateให้แห้ง evaporate (ที่อุณหภูมิน้ำ 30-35 องศาเซลเซียส)

3. ใส่ 50 เปอร์เซ็นต์ potassium hydroxide 1-2 มิลลิลิตรและ ethanol 15 มิลลิลิตรใน round bottom flask ที่มีตัวอย่างอยู่ ทิ้งไว้ในห้องมืด 1-2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. จากนั้นย้าย saponification ไปใส่ในกรวยแยก เติม diethyl ether 35 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร (ล้าง round bottom flask ด้วย diethyl ether จากนั้นทำการเขย่าประมาณ 1 นาที จนไม่มีแก๊ส

5. ทิ้งส่วนล่าง (lower layer) และเก็บส่วนบน (upper layer)ไว้ ตรงนี้ตัวอย่างจะมีฤทธิ์เป็นด่างให้นำการล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง (50, 40 และ 30 มิลลิลิตร)

6. หลังจากล้างน้ำ 3 ครั้งแล้ว ให้ทดสอบความเป็นกลาง (pH 7) โดยกระดาษลิสมัสที่ช่องระบายของกรวยแยกในขณะที่ระบายออก

7. พอเก็บส่วน ether layer ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 200 มิลลิลิตร เอาน้ำออกโดยใช้ Na_2SO_4 โดยใช้กระดาษกรอง ใส่ใน flask ล้าง กรวยแยกด้วย diethyl ether

8. จากนั้นเอาน้ำออกโดยใช้ Na2SO4 โดยผ่านกระดาษกรอง ใส่ใน curve bottom flask ล้างด้วย ether (ใช้ round bottom flask)

9. นำมา evaporate ให้แห้ง (ที่อุณหภูมิน้ำ 30-35 องศาเซลเซียส)

10. ละลายด้วย hexane ฉีดเข้า HPLC โดย ใช้ column C17 และ mobile phase คือ dichloromethane 10%: ethanol 85%: acetonitrile

ข้อควรระวังสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนทินในไข่แดง มีดังต่อไปนี้

1. ควรใส่ใจในทุกๆขั้นตอน เนื่องจากว่าในแต่ละขั้นตอนมีผลทำให้ผลที่ได้คลาดเคลื่อน

2. ควรเลือกใช้ column และ mobile phase ให้เหมาะสม เพราะว่าถ้ามีการเลือกใช้ที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลทำให้ผลที่ได้มีความคลาดเคลื่อน

3. สำหรับในขั้นตอนของการสกัด ควรมีการกำหนดปริมาณ acetone ให้เท่ากันในทุกๆ ซ้ำ เพราะจะทำให้ได้ปริมาณของเหลวที่ใกล้เคียงกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. สำหรับขั้นตอนของการทิ้งไว้ให้แยกชั้นของของเหลวควรมีการจับเวลาให้เท่ากันทุกซ้ำ ประมาณ 1 ชั่วโมง ทำให้มีการแยกชั้นที่ชัดเจนยิ่งขึ้น และปริมาณน้ำที่ใช้ในการปรับควรมีการใช้ที่เท่ากันทุกครั้ง เพราะน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการทำปฏิกิริยาของแอสตาแซนทิน

5. สำหรับขั้นตอนของการทำ saponification ควรทิ้งไว้ในห้องมืดและจับเวลาให้เท่ากันทุกครั้ง เพราะแสงมีผลต่อการทำปฏิกิริยาของแอสตาแซนทิน เช่นกัน

6. สำหรับการฉีดตัวอย่างที่สกัดเข้าเครื่อง HPLC ควรทำให้เวลาเดียวกัน เพราะสภาวะแวดล้อมของภายในห้อง HPLC และ condition ของการฉีด มีผลต่อการทำปฏิกิริยาของแอสตาแซนทิน

7. การใช้สารเคมี ควรมีการคำนวณปริมาณการใช้สารเคมีให้เพียงพอกับตัวอย่างที่ทำ และควรเป็นสารเคมีที่มาจากแหล่งผู้ผลิตเดียวกัน ไม่ควรเปลี่ยนไม่มา เพราะสารเคมีที่มาจากต่างแหล่งที่มา มีผลต่อการทำปฏิกิริยาของแอสตาแซนทิน เช่นกัน

สุดท้ายนี้ขอแนะนำว่า ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนทินหรือสารอื่นๆ ควรมีการเตรียมความพร้อมที่ดี ศึกษาพารามิเตอร์ที่ต้องการหาให้ชัดเจนว่าควรต้องระมัดระวังในขั้นตอนไหนบ้าง ทางที่ดีควรมีการสุ่มตัวอย่างมาทดสอบก่อนแล้วถึงลงมือทำจริง และที่สำคัญการทำแลบในแต่ละครั้งควรใจเย็น อย่ารีบร้อน เพียงแค่ว่าจะทำให้เสร็จตามแผนที่วางไว้ เพราะความรีบร้อน เป็นเหตุของความผิดพลาดในการทำแลบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวอุชุกร นาคพันธ์
เกิดวันที่	7 กันยายน พ.ศ. 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดกาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สัตวศาสตร์)
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์